

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. М. СЕЧЕНОВА
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Аврач Александра Сергеевна

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
ВЕЩЕСТВ ПЛОДОВ (БОЯРЫШНИКА, РЯБИНЫ, ШИПОВНИКА,
МАЛИНЫ) РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ КОНСЕРВАЦИИ И
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
член-корр. РАН, профессор,
доктор фармацевтических наук
Ирина Александровна Самылина

Москва, 2015

СОДЕРЖАНИЕ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Способы консервирования растительного сырья.....	13
1.1.1. Применение сушки для консервирования пищевого и лекарственного растительного сырья.....	16
1.1.2. Замораживание как способ консервации пищевого растительного сырья.....	18
1.1.3. Возможность использования замороженного растительного сырья в медицинской практике.....	21
1.2. Морфологическая характеристика плодов боярышника, рябины, шиповника и малины. Условия заготовки и хранения.....	25
1.3. Химический состав биологически активных веществ плодов боярышника, рябины, шиповника и малины.....	29
1.4. Стандартизация плодов боярышника, рябины, шиповника и малины по содержанию действующих веществ.....	34
1.5. Применение плодов боярышника, рябины, шиповника и малины в аллопатической медицине и гомеопатии.....	38
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1.....	43
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА, РЯБИНЫ, ШИПОВНИКА И МАЛИНЫ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ КОНСЕРВАЦИИ.....	49
3.1. Изучение органических кислот в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника рябины, шиповника и малины	49
3.1.1. Качественный анализ свободных органических кислот в плодах различных способов консервации.....	49
3.1.2. Количественная оценка содержания свободных органических кислот и	

аскорбиновой кислоты в плодах различных способов консервации.....	52
3.2. Изучение фенольных соединений в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника рябины, шиповника и малины	58
3.2.1. Качественный анализ флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в плодах различных способов консервации.....	59
3.2.2. Количественная оценка содержания флавоноидов в плодах боярышника, рябины и шиповника различных способов консервации...	63
3.2.3. Количественная оценка содержания антоцианов в плодах малины различных способов консервации.....	73
3.2.4. Количественная оценка содержания дубильных веществ в плодах различных способов консервации.....	76
3.3. Изучение полисахаридов в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника, рябины, шиповника и малины.....	78
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.....	81
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПЛОДАХ БОЯРЫШНИКА, РЯБИНЫ, ШИПОВНИКА И МАЛИНЫ ПРИ ХРАНЕНИИ.....	83
4.1. Стабильность БАВ при хранении плодов в свежем виде.....	83
4.2. Стабильность БАВ при хранении плодов в замороженном и высушенном виде.....	87
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4.....	90
ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСТРАКЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ СВЕЖИХ, ЗАМОРОЖЕННЫХ И ВЫСУШЕННЫХ ПЛОДОВ.....	91
5.1. Разработка оптимальных условий получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов.....	91
5.2. Характеристика водных извлечений из плодов боярышника, рябины, шиповника и малины.....	95
5.3. Количественное содержание биологически активных веществ в водных извлечениях из плодов различных способов консервации.....	96

5.4. Анализ водно-спиртовых экстракционных препаратов из плодов боярышника.....	109
5.5. Изучение химического состава настоек матричных гомеопатических из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника.....	113
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5.....	116
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	118
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	122
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	137

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЛРС – лекарственное растительное сырье

БАВ – биологически активные вещества

БАД – биологически активная добавка

НД – нормативный документ

ГФ – государственная фармакопея

ОФС – общая фармакопейная статья

ФС – фармакопейная статья

ТСХ – тонкослойная хроматография

СО - стандартный образец

УФ - ультрафиолетовый

Rf – расстояние от линии старта до середины пятна, отнесенное к расстоянию от линии старта до линии фронта растворителя

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время лекарственные препараты растительного происхождения составляют на фармацевтическом рынке около 40% всего ассортимента лекарственных средств. Широкий спектр фармакологических эффектов, выраженная эффективность и одновременно низкая токсичность, позволяют фитопрепаратам успешно конкурировать с синтетическими лекарственными препаратами.

Плоды - одна из морфологических групп лекарственного растительного сырья, которая широко используется в медицинской практике. Плоды поступают в аптеку в фасованном виде для безрецептурного отпуска и приготовления водных извлечений, входят в состав сборов, являются сырьем для получения настоек и экстрактов, используются в гомеопатии.

Наиболее богатый состав биологически активных веществ (БАВ) имеют свежие плоды. Свежее лекарственное растительное сырье (ЛРС) содержит комплекс действующих веществ в нативном состоянии. Однако в связи с высоким содержанием влаги свежесобранные сочные плоды подвергаются быстрому воздействию ферментов и микроорганизмов, что существенно ограничивает их использование.

Традиционно лекарственное растительное сырье подвергают высушиванию. Этот метод основан на уменьшении содержания влаги в сырье, что приводит к ограничению роста микроорганизмов. Перспективным способом консервации является замораживание, обеспечивающее полное или частичное превращение клеточного сока в лед. Из-за отсутствия жидкой фазы прекращается деятельность ферментов, вследствие чего приостанавливаются биохимические процессы. Оба способа консервации имеют свои достоинства и недостатки, поскольку в ходе этих процессов содержание БАВ в сырье изменяется.

Актуальным является изучение вариабильности химического состава БАВ плодов лекарственных растений в зависимости от метода консервации с целью выявления наиболее эффективного способа сохранения качества лекарственного растительного сырья. Также важным аспектом является расширение сырьевой

базы за счет введения новых сырьевых источников (свежее, замороженное ЛРС) наряду с традиционными высушенными, что позволит увеличить объемы выпуска отечественных лекарственных растительных средств.

Степень изученности темы исследования. Замораживание широко применяется для консервации пищевого растительного сырья, но почти не используется в фармацевтической практике. Данное обстоятельство обусловлено отсутствием в настоящее время сведений по химическому составу БАВ большинства видов замороженного ЛРС, а также сравнительных исследований по содержанию БАВ в свежем, замороженном и высушенном сырье. Известны отдельные работы по изучению состава БАВ замороженных плодов барбариса, плодов лимонника, цветков календулы. Также недостаточно изучена возможность использования свежего и замороженного ЛРС для изготовления водных и спиртовых экстракционных препаратов, применяемых в аллопатии и гомеопатии.

Целью исследования является сравнительное изучение состава биологически активных веществ свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины, а также стандартизация лекарственных препаратов на их основе.

Постановка задач и выбор средств для их решения:

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести информационно-аналитическое исследование по вопросам анализа, стандартизации и использования свежего, замороженного и высушенного лекарственного растительного сырья;
- провести сравнительное изучение химического состава БАВ свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины;

- изучить стабильность БАВ в свежем, замороженном и высушенном сырье при хранении;
- провести сравнительный анализ показателей качества водных и спиртовых экстракционных препаратов, полученных из плодов боярышника, шиповника, рябины и малины различных способов консервации;
- оценить возможность использования замороженного и высушенного лекарственного растительного сырья для изготовления гомеопатических препаратов на примере настойки матричной гомеопатической плодов боярышника;
- на основании полученных экспериментальных данных разработать проекты инструкций по заготовке и хранению свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины.

Решение задач осуществлялось путем обобщения данных литературы и проведения экспериментальных исследований.

Научная новизна. Доказана идентичность качественного состава свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины. Выявлены закономерности изменения количественного содержания органических кислот, флавоноидов, дубильных веществ и полисахаридов в зависимости от способа консервации исследуемых видов лекарственного растительного сырья. Установлено, что замораживание не влияет на содержание свободных органических кислот в лекарственном растительном сырье, количество аскорбиновой кислоты снижается на 7 – 17%, флавоноидов - на 6-15%, дубильных веществ – на 10-20%, полисахаридов – на 17-29%. Сушка плодов боярышника, шиповника, рябины и малины при температуре 60 – 80 С° приводит к значительным потерям органических кислот, аскорбиновой кислоты, дубильных веществ и антоцианов.

Изучена стабильность БАВ в свежих плодах боярышника, рябины, малины и шиповника в процессе хранения при температуре 0 - +1°С и +16 - + 18 °С. Также проведено исследование стабильности БАВ в замороженных и высушенных

плодах при хранении в течение 12 месяцев. Рекомендованы сроки годности для свежего и замороженного сырья.

Показана возможность получения водных и спиртовых извлечений из свежих и замороженных плодов, дана сравнительная характеристика их качественного состава и количественного содержания основных групп БАВ (флавоноиды, органические кислоты, дубильные вещества, полисахариды).

Показана возможность использования замороженных плодов боярышника наряду со свежим сырьем при изготовлении гомеопатических препаратов.

Теоретическая значимость работы. Использование современных физико-химических методов анализа позволило получить новые данные о качественном составе БАВ свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины и дать количественную оценку их содержания. Экспериментально-практический материал, представленный в работе, может служить теоретической основой для разработки показателей качества указанных видов сырья и установления их норм, разработки инструкций по заготовке и хранению плодов, а также для получения и стандартизации лекарственных средств на их основе.

Практическая значимость результатов исследования. На основании проведенных исследований:

- разработаны проекты инструкций по заготовке и хранению свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины;
- установлены сроки хранения свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины;
- в работу испытательной лаборатории ЗАО Фирма «Здоровье» внедрены методики качественного определения органических кислот, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот при анализе подлинности плодов рябины, шиповника и настойки матричной гомеопатической Crataegus;

– результаты исследований внедрены в учебный процесс кафедры фармакогнозии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России.

Методология и методы исследования. Теоретическую основу исследования составили труды российских (Самылиной И. А., Киселевой Т. А., Исаевой Н. В., Степанова А. С., Терешинной Н. С., Чахировой А. А., Лякиной М. Н. и др.) и зарубежных ученых (Del Caro A., De Ancos B., Hakkinen, Kyureghian G.), касающиеся вопросов стандартизации плодов боярышника, рябины, шиповника и малины, а также возможности применения свежего и замороженного ЛРС в медицине и гомеопатии. Методология исследования построена на анализе и обобщении литературных данных, оценке степени разработанности и актуальности темы, постановки цели и задач исследования по изучению состава БАВ свежих, замороженных и высушенных плодов, сравнительном анализе качественного состава БАВ и их количественного содержания в свежем, замороженном и высушенном ЛРС, получении и анализе водных и водно-спиртовых извлечений из плодов различных способов консервации, формулировании выводов. В ходе исследования были использованы следующие методы анализа: тонкослойная хроматография, УФ-спектрофотометрия, титриметрия, кулонометрия, гравиметрия, математические методы анализа и обработки результатов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 4 статьи – в журналах, включенных в перечень ведущих периодических изданий ВАК.

Степень достоверности результатов. Экспериментальные исследования проводились на современном сертифицированном оборудовании в достаточном числе повторностей. Использованные автором аналитические методики информативны и современны. Достоверность первичных материалов подтверждена экспертной оценкой. Научные положения и выводы диссертации

логично вытекают из содержания диссертационной работы, базируются на достаточных результатах исследований, обоснованы и логичны. Работа выполнена на высоком методическом уровне.

Апробация диссертации. Основные положения диссертации доложены на Итоговой Всероссийской научной конференции молодых исследователей с международным участием «Татьянин день» (Москва, 2011 г.), научно-методической конференции «Гаммермановские чтения» (Санкт-Петербург, 2011 г.), XIX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2012 г.), научной конференции НИИ Фармации «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 2013-2014 г.г.), XXIV Московской международной гомеопатической конференции «Развитие гомеопатического метода в современной медицине» (Москва, 2014 г.), научно-методической конференции «II Гаммермановские чтения» (Санкт-Петербург, 2014 г.).

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, анализе и обобщении полученных результатов. В работах, выполненных в соавторстве, автором лично проведен мониторинг основных параметров, аналитическая и статистическая обработка, научное обоснование и обобщение полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования: от постановки задач, их теоретической и практической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях, докладах и внедрения их в практику.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования

соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3 паспорта специальности фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки. Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО «Первого МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (№ государственной регистрации 01.2.006 06352.) по научной проблеме «Разработка современных технологий подготовки специалистов с высшим медицинским и фармацевтическим образованием на основе достижений медико-биологических исследований».

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты сравнительного изучения химического состава биологически активных веществ (органических кислот, флавоноидов, дубильных веществ, полисахаридов) свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины;
- результаты исследования стабильности БАВ свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, шиповника, рябины и малины;
- результаты изучения показателей качества и химического состава БАВ лекарственных препаратов из свежих и замороженных плодов боярышника (отвар, настойка, жидкий экстракт, настойка матричная гомеопатическая), рябины (отвар), шиповника (отвар) и малины (настой).

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 145 страницах машинописного текста, содержит 29 таблиц и 8 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, 4 экспериментальных глав, выводов, списка литературы из 149 наименований, из которых 29 на иностранных языках и 3 интернет ресурса, приложений.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

1.1. Способы консервации растительного сырья.

При хранении растительного сырья в свежем виде в нем протекают физические, биологические и биохимические процессы.

Физические процессы возникают под действием температуры, влажности воздуха, газового состава, света, механических воздействий. К ним относятся процессы сорбции и десорбции паров воды и газов, кристаллизации сахара, деформации и нарушения целостности клеточной стенки [71, 100].

Биологические процессы (брожение, плесневение и гниение) могут быть вызваны развитием микроорганизмов или пагубным воздействием насекомых, грызунов [71].

К биохимическим процессам, протекающим в свежем растительном сырье под действием ферментов, относятся прежде всего дыхание и гидролиз. Дыхание – это основной процесс обмена веществ в живых растительных тканях. В ходе него происходит окисление кислородом воздуха органических веществ (крахмала, органических кислот, липидов) с образованием углекислого газа и воды, и выделением энергии, необходимой для поддержания жизнедеятельности растительной клетки. Высокая интенсивность дыхания может привести к существенному снижению содержания биологически активных веществ в сырье, а значит и ухудшению его качества. Гидролитические реакции характеризуются, главным образом, разрушением крахмала, переходом протопектина в пектин, гидролизом белков до аминокислот и т.д [100, 109].

Основными факторами, лимитирующими скорость протекания указанных выше процессов, являются условия хранения: температура, газовый состав среды, относительная влажность воздуха [71, 119].

Все биохимические процессы в растительном сырье зависят от температуры. При высокой температуре происходит ускоренный обмен веществ, потеря влаги, витаминов, органических веществ. При пониженной температуре обеспечивается замедление биохимических процессов за счет снижения скорости химических реакций и уменьшения поступления кислорода извне через

сузившиеся поры цитоплазматической мембраны. Оптимальные температуры хранения для большинства видов свежего растительного сырья морфологических групп «листья», «травы» - близкие к 0°C, для «плодов» - близкриоскопические, исключаящие подмораживание [119].

Величина относительной влажности воздуха напрямую связана с количеством влаги в растительном сырье. Поскольку свежее растительное сырье характеризуется высоким процентным содержанием воды, оно должно храниться при высокой относительной влажности воздуха, в пределах 85-95% [71, 119].

Газовый состав воздуха также оказывает влияние на качество сырья. Атмосферный воздух содержит 78% азота, 21% кислорода, 0,03% углекислого газа. Кислород воздуха обуславливает окисление жиров, эфирных масел, снижает содержание витаминов, изменяет органолептические свойства сырья. В связи с этим при хранении в закрытых помещениях необходимо регулировать содержание кислорода в воздушной среде с помощью естественной или принудительной вентиляции [71].

Подбор оптимальных условий хранения позволяет обеспечить удовлетворительное качество свежего растительного сырья на период от нескольких часов до нескольких дней. В соответствии с нормативной документацией на пищевое растительное сырье срок хранения плодов и ягод в свежем виде в неоттапливаемых помещениях ограничивается в среднем 12 часами, а в холодильных камерах (при температуре 0°C...+1°C) – несколькими сутками (табл.1.1). В отдельных случаях удается добиться сохранения качества свежего сырья в течение более продолжительных сроков. Так, в ходе экспериментальных исследований было установлено, что повышенное содержание диоксида углерода в газовой среде (4,8 – 8,5%) при температуре 0°C позволяет довести срок хранения свежих плодов брусники до двух месяцев [25, 26, 36, 37, 84, 85, 86, 87].

Тем не менее, ни один из перечисленных режимов не позволяет сохранить свежее растительное сырье от порчи в течение длительного периода времени. Сам

Продолжительность хранения свежих плодов и ягод в соответствии с требованиями действующих ГОСТов

Вид растительного сырья	Продолжительность хранения, сут.	
	Неотапливаемое помещение	Холодильная камера (t = 0...+1°C)
Смородина красная	0,5	2
Малина, ежевика	0,5	3
Лимонник	1	5
Облепиха	0,5	5
Черника, голубика	0,5	14
Земляника	1	3 – 6
Калина, рябина обыкновенная	5	30
Брусника, клюква	10	60

термин «свежий» тождественен понятиям «живой», «функционирующий организм». То есть любые меры по сохранению растительного сырья в свежем виде предполагают поддержание процессов жизнедеятельности в растительных клетках, хотя и снижают их интенсивность.

С целью длительного хранения растительное сырье подвергают консервированию. Под консервированием понимают комплекс мероприятий, направленных на замедление (принцип анабиоза) или подавление (принцип абиоза) биохимических реакций, протекающих в сырье, а также предотвращение деятельности микроорганизмов. При этом как живой организм растительные клетки в процессе консервирования погибают.

Выделяют следующие методы консервирования: сушку, пастеризацию, стерилизацию, замораживание, использование растворов с высокой концентрацией осмотически активных веществ, квашение, применение

антисептиков и др. Для консервирования растительного сырья чаще всего используют *сушку* и *замораживание* [71, 100].

1.1.1. Применение сушки для консервирования пищевого и лекарственного растительного сырья.

Сушка как способ консервации пищевых продуктов известна с древних времен. Этот метод основан на обезвоживании растительного сырья до содержания в нем влаги 8-14% и высокой концентрации сухих веществ [71, 76].

Для развития микроорганизмов необходима вода: для жизни бактерий требуется не менее 30% влаги, для плесеней— 15%. Микроорганизмы используют вещества, находящиеся в клеточном соке в сравнительно небольших концентрациях, и при этом в водных растворах проходят все биохимические реакции. При удалении влаги концентрация этих веществ увеличивается, и они уже являются ингибиторами жизнедеятельности микроорганизмов, которые хотя и не погибают, но вследствие неблагоприятных условий не развиваются [71].

Для получения высушенного растительного сырья, в котором максимально сохранены все его ценные компоненты и нативные свойства, большое значение имеет технология сушки и ее параметры. В настоящее время в мировой практике используются следующие способы сушки растительного сырья: конвективный, сублимационный, СВЧ-сушка, кондуктивный, инфракрасный и другие. Наиболее распространенными являются методы, при которых высушиваемый продукт непосредственно контактирует с теплоносителем (нагретым воздухом или перегретым паром) и контактный способ (высушиваемый объект соприкасается с нагретой теплоносителем поверхностью) [71, 76, 119].

Перспективна ультразвуковая «безвакуумная» сублимационная сушка в потоке инертного газа, которая позволяет ускорить процессы теплообмена, без существенного повышения температуры сырья, что особенно важно при сушке легкоокисляющихся, термочувствительных материалов [119].

Высушивание широко используется для консервации как пищевого, так и лекарственного растительного сырья. В пищевой промышленности сушке чаще всего подвергают растительное сырье морфологической группы «плоды» (вишня, алыча, кизил, виноград, яблоки и др.), а также некоторые виды «трав» (зубровка, майоран), «листьев» (лавр), «подземных органов» (имбирь, дягиль) и «кор» (корица). В фармацевтической области сушка является в настоящее время единственным официально разрешенным методом консервирования, в связи с чем практически все виды лекарственного растительного сырья различных морфологических групп используют в высушенном виде [24, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 35, 43].

Температурные режимы сушки пищевого и лекарственного сырья практически одинаковые, и составляют в среднем 40 – 80 °С в зависимости от вида сырья и химического состава БАВ [43, 119].

Консервирование растительного сырья высушиванием имеет много достоинств: технология и применяемая аппаратура достаточно просты, масса и объем сырья в процессе сушки уменьшается в несколько раз, чем достигается большая экономия тары, площадей для хранения и транспортных средств, высушенное сырье не слишком прихотливо к условиям хранения, не нуждается в герметичной упаковке, не требует особых хранилищ [51].

Тем не менее, качество растительного сырья в процессе сушки снижается. Это обусловлено разрушением термолабильных биологически активных веществ, ухудшением органолептических и физико-химических показателей сырья.

Так, в работе Губиной М. Д. по изучению влияния тепловой сушки на качество плодов черники, отмечается следующее. В период сушки в плодах черники уменьшается общее количество сахаров. Потери составляют 1,4 – 17,3% в зависимости от режима высушивания. Наблюдается гидролиз сахарозы, вплоть до полного ее разрушения при температурах 75 - 100 °С. Содержание пектиновых веществ в высушенном сырье практически не изменяется. Количество антоцианов и катехинов линейно уменьшается с повышением температуры сушки плодов. Степень разрушения антоцианов при 50 °С в 4,6 раз меньше, чем при 100 °С. Тем

не менее, даже естественная (воздушно-тенивая) сушка приводит к снижению количеств антоцианов в сырье черники на 44,8%, а катехинов – на 65% по сравнению со свежим сырьем [47].

Воздействие высоких температур способствует значительному снижению в растительном сырье витаминов, особенно аскорбиновой кислоты. Степень деградации аскорбиновой кислоты зависит от температурного режима сушки. Итальянскими учеными было изучено влияние режима сушки на стабильность БАВ в сливах. Показано, что содержание аскорбиновой кислоты в сырье, высушенном при 60 °С, почти в 2 раза выше, чем в плодах, подвергнутых тепловой обработке при 70 - 85 °С. Отмечается также, что при хранении высушенных слив в течение 12 месяцев количество аскорбиновой кислоты снижается до 48% от исходного содержания [126].

На примере плодов рябины показано, что даже сублимационная сушка (наиболее щадящий метод высушивания) приводит к потерям аскорбиновой кислоты в среднем на 6 – 15% [11, 12].

1.1.2. Замораживание как способ консервации пищевого растительного сырья.

Замораживание — это способ консервирования, при котором используются низкие температуры, обеспечивающие полное или частичное превращение клеточного сока в лед. При замораживании происходит почти полное прекращение деятельности микроорганизмов, многие из них погибают. Также из-за отсутствия жидкой фазы прекращается деятельность ферментов, вследствие чего приостанавливаются биохимические процессы. Чем быстрее осуществляется процесс замораживания и достигаются при этом необходимые температуры, тем лучше качество замороженного продукта [51, 71, 100, 140].

Замораживание как прогрессивный метод консервации свежего растительного сырья широко используется в пищевой промышленности. В настоящее время к реализации в замороженном виде разрешены 27 видов сырья,

причем все они относятся к «плодам» (алыча, кизил, клюква, брусника, вишня, рябина и др.). Общепринятым температурным режимом является замораживание при $-30 - 40$ °С с последующим хранением при $-18 - 20$ °С не допуская размораживания. Срок хранения замороженного плодово-ягодного сырья составляет в среднем 9 – 12 месяцев [38].

В приложении Б к ГОСТу Р 53956-2010 «Фрукты быстрозамороженные» приведены сведения о количественном содержании углеводов, каротина, ниацина (витамин РР) и аскорбиновой кислоты в некоторых видах быстрозамороженных плодов. Также учеными в области пищевой промышленности получено много ценных данных об изменении содержания указанных биологически активных веществ в замороженных плодах при хранении.

Например, в исследовании по изучению физико-химического состава плодов мелкоплодных яблок при замораживании показано, что низкотемпературное хранение является наиболее щадящим способом консервирования данного вида сырья и позволяет сохранить до 85% аскорбиновой кислоты, 84-86% общих сахаров и 88% пектиновых веществ к 12 месяцу хранения [62].

При изучении возможности замораживания ягод крыжовника было установлено, что после 12 месяцев хранения в замороженном виде в плодах наблюдалось снижение содержания аскорбиновой кислоты в среднем на 23%, тогда как количество сахаров и титруемых органических кислот увеличивалось на 6,5% и 8% соответственно [22].

Похожие тенденции наблюдались при низкотемпературном хранении плодов различных сортов черной смородины. После 9 месяцев хранения замороженные плоды смородины характеризовались повышением содержания суммы сахаров на 4% и титруемой кислотности – на 11%. При этом для всех сортов выявлено снижение содержания аскорбиновой кислоты в среднем на 11% [59, 75].

В исследовании персиков и абрикосов различных сортов отмечается, что низкотемпературное хранение плодов в течение 9 месяцев не приводило к

существенным изменениям содержания общих сахаров, титруемой кислотности и общего азота. За счет инверсии сахарозы увеличивалось количество моносахаридов. Основные потери биологически активных веществ наблюдались в отношении аскорбиновой кислоты, ароматических веществ, каротиноидов, катехинов [114].

Группой ученых проводилось изучение динамики аскорбиновой кислоты в плодах различных сортов вишни. Установлено, что после 6-месячного хранения в замороженном виде сохранность аскорбиновой кислоты в зависимости от сорта составляла 68,6 – 97,0% от исходного содержания в свежем сырье [117].

Медонкаева А. Э. изучала возможность применения в замороженном виде ягод винограда. В ходе исследования установлено, что содержание органических кислот и сахаров при замораживании винограда изменяется незначительно. Также отмечена хорошая сохраняемость аминокислот – до 70% и выше в зависимости от сорта [73].

Большинство исследователей утверждают, что количество антоцианов при низкотемпературном хранении дикорастущих плодов и ягод уменьшается (в среднем на 28-67% от исходного содержания). Например, в работе Кадочниковой Е. Н. по изучению товароведных характеристик плодов дикорастущей и культивируемой ежевики показано, что после 9 месяцев хранения в замороженном виде содержание катехинов в сырье снижалось до 15–34%, а содержание антоцианов на конец хранения составляло 47-81% от исходного количества. Отмечено, что в зависимости от сорта ежевики динамика фенольных соединений при хранении в замороженном виде была различной [57, 105, 148].

Тем не менее замораживание не всегда приводит к потерям антоцианов. Так, при замораживании и последующем хранении жимолости наблюдалось увеличение всех групп фенольных соединений, особенно антоцианов (на 15 – 39% от исходного содержания). Увеличение антоцианов также наблюдалось при замораживании и хранении плодов голубики. После 3 месячного хранения количество антоцианов в быстрозамороженной голубике превышало исходное на 14 – 26% [46, 55].

Из вышеизложенного можно сделать вывод, что замораживание – перспективный метод консервирования растительного сырья морфологической группы «плоды». Данный способ обеспечивает высокую сохранность сахаров, органических кислот, фенольных соединений в плодах при длительном хранении, а в отдельных случаях даже способствует увеличению их количественного содержания. Однако на динамику БАВ при замораживании существенно влияют видовые и сортовые различия между растениями. В связи с этим о целесообразности использования замораживания в качестве способа консервации конкретного вида растительного сырья можно судить только на основании экспериментальных исследований.

1.1.3. Возможность использования замороженного растительного сырья в медицинской практике.

На сегодняшний день в отечественной фармацевтической практике единственным официально разрешенным к применению в замороженном виде ЛРС являются плоды облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides L.*). Качество данного сырья регламентируются фармакопейной статьей «Плоды облепихи свежие ФС 42-1052-76», а также инструкцией по сбору и сушке плодов облепихи. Согласно вышеупомянутым нормативным документам (НД) требования по разделам «внешние признаки», «числовые показатели», «определение кислотности сока плодов» и «количественное определение» к свежему и замороженному сырью одинаковые. Особые указания приведены только в отношении сбора, хранения и транспортировки замороженных плодов. Так, плоды облепихи, замороженные собирают в ноябре – декабре путем отряхивания с веток, упаковывают в тканевые мешки массой не более 70 кг и хранят зимой в неоттапливаемых складах, а в теплое время – в холодильных установках. Срок хранения замороженных плодов облепихи составляет не более 6 месяцев. Используют данное лекарственное сырье для промышленной

переработки, а именно с целью получения сока облепихи, а также облепихового масла [110].

Использование замороженных плодов облепихи наряду со свежими продиктовано, главным образом, природными условиями в местах ее произрастания и промысловых заготовок. В частности, в Бурятской и Тувинской областях сухая осень и ранние сильные морозы приводят к замерзанию плодов облепихи прямо на ветвях. Сбор сырья в более ранние сроки невозможен по причине незрелости плодов [118].

При этом стандартизация как свежего, так и замороженного сырья облепихи по содержанию суммы каротиноидов в пересчете на β -каротин подтверждает сохранение указанной группы БАВ при воздействии низких температур на плоды.

Целенаправленные исследования по влиянию замораживания на качество ЛРС стали проводиться в нашей стране совсем недавно. Одним из примеров является исследование по стандартизации сырья и препаратов лимонника китайского (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.). В рамках данной работы изучено влияние замораживания на содержание четырех основных групп БАВ в плодах лимонника: фенольных соединений, антоцианов, органических кислот и окисляемых веществ. Установлено, что замораживание является приемлемым способом сохранения действующих веществ в плодах лимонника. Относительное снижение БАВ при замораживании происходит на 6-20%. В замороженном виде плоды можно хранить в течение 12 месяцев. При этом уменьшение в содержании основных групп веществ происходит на 11-25% относительно содержания в свежих плодах [103].

Также имеются достоверные сведения по возможности консервации методом замораживания плодов калины (*Viburnum opulus* L.). В ходе экспериментов получены данные по изменению качественного и количественного состава (флавоноидов, органических кислот, дубильных веществ, полисахаридов) в процессе замораживания указанного вида сырья. Установлено, что замораживание незначительно влияет на содержание дубильных веществ, органических кислот и снижает содержание флавоноидов и полисахаридов в

сырье. Кроме того, показана возможность применения замороженных плодов калины для получения водных извлечений [94].

В исследовании Чахировой А. А. по разработке масляного экстракта плодов рябины обыкновенной было установлено, что для обеспечения максимального выхода из сырья жирного масла и каротиноидов, необходимым условием является сбор плодов рябины после первых заморозков или их замораживание при температуре -18 C° в течение 3-х суток [115].

Анализ иностранной научной литературы и нормативной документации показал, что примеров применения низких температур для сохранения свойств растительного сырья в зарубежной медицине также немного. Так, в фармакопейной статье «*Bilberry fruit fresh*», которая входит в Британскую и Европейскую Фармакопеи, указано, что в качестве ЛРС можно использовать свежие или замороженные плоды черники (*Vaccinium myrtillus L.*). Как и в случае плодов облепихи особые требования в отношении замороженного сырья предъявляются только к условиям хранения: замороженные плоды черники необходимо хранить при температуре от -18 C° и ниже [123, 129].

Другим перспективным направлением использования замороженного растительного сырья является гомеопатия. Как известно, большинство гомеопатических препаратов получают из свежего сырья. Однако необходимость переработки свежего ЛРС в течение первых 24 часов после сбора существенно ограничивает возможность его применения. Низкотемпературные технологии консервации растительного сырья могут стать эффективным решением данной проблемы [7].

Стоит отметить, что в зарубежной гомеопатической практике применение замороженного ЛРС официально разрешено. В статье «*Herbal drugs for homeopathic preparations*» Европейской Фармакопеи указано, что при необходимости транспортировки или длительного хранения свежего растительного сырья, оно может быть заморожено или заспиртовано в 96% этанол [129].

В Российской Федерации в ГФ XI и XII изданий отсутствуют какие-либо сведения по гомеопатическим лекарственным средствам. В 2005 году вышел «Сборник фармакопейных статей по гомеопатии», в который вошли 15 общих статей и 16 фармакопейных статей на настойки матричные растительного происхождения, используемые при производстве гомеопатических лекарственных препаратов. В общей статье «Настойки гомеопатические матричные» подробно описаны методы изготовления настоек из свежего, высушенного сырья и сока, а также их разведений [78, 93]. Однако вопросов стандартизации и использования замороженного сырья указанные документы не касаются.

Тем не менее, научные исследования в данной области проводятся достаточно активно.

Терешиной Н. С. в рамках комплексного изучения технологии и стандартизации многокомпонентных гомеопатических препаратов была изучена возможность консервации свежего растительного сырья методом замораживания на примере календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*). Положительные результаты, полученные в ходе анализа влияния низких температур на качество исходного свежего сырья, позволяют с уверенностью утверждать, что замораживание может быть использовано как способ консервации сырья календулы при производстве гомеопатической матричной настойки [106].

В другой работе, посвященной фармакогностическому изучению лекарственного растительного сырья и матричных настоек барбариса обыкновенного, Исаевой Н. В. было проведено сравнительное изучение качественного и количественного состава свежих, замороженных и высушенных плодов барбариса (*Berberis vulgaris L.*), а также исследована стабильность БАВ данного вида сырья при хранении в замороженном и высушенном виде. Полученные сведения подтверждают возможность наряду с традиционным высушиванием использовать в качестве метода консервации низкотемпературное воздействие на плоды барбариса. Также на основании исследования компонентного состава и содержания БАВ (органических кислот, фенолкарбоновых кислот, окисляемых веществ, флавоноидов, полисахаридов)

матричных настоек, приготовленных из свежего, замороженного, высушенного сырья и сока барбариса показана возможность получения настоек гомеопатических матричных из свежих и замороженных плодов [56].

Проведенный анализ литературных данных и нормативной документации свидетельствует о возможности использования замораживания в качестве способа консервации отдельных видов лекарственного растительного сырья. Также показана возможность применения некоторых видов замороженного ЛРС для получения экстракционных лекарственных препаратов. Тем не менее, на сегодняшний день данная проблема очень мало изучена и требует проведения дополнительных исследований.

1.2. Морфологическая характеристика плодов боярышника, рябины, шиповника и малины. Условия заготовки и хранения.

Нами был проведен анализ современных требований отечественной нормативной документации к внешнему виду, заготовке и хранению плодов боярышника, рябины, шиповника и малины.

Плоды боярышника (fructus Crataegi).

В настоящее время заготовка плодов боярышника в Российской Федерации разрешена от 12 дикорастущих и культивируемых видов, а именно: боярышника кроваво-красного (*C. sanguinea Pall*), боярышника сглаженного (*C. laevigata (Poir.) DC*), боярышника Королькова (*C. korolcovii L., Henry*), боярышника желтого (*C. chlorocarpa Lenne et C.koch*), боярышника даурского (*C. dahurica Koehne ex Schneid.*), боярышника однопестичного (*C. monogina Jacq*), боярышника германского (*C. alemanniensis Cin*), боярышника пятипестичного (*C. pentagyna Waldst. Et Kit*), боярышника восточно - балтийского (*C. orientobaltica Cin*), боярышника отогнуточашелистикowego (*C. curvisepala Lindm*), боярышника

курземского (*C. cironica* Cin), боярышника даугавского (*C. dunensis* Cin) [17, 43, 104].

В соответствии с ГФ XI изд. сырье представляет собой яблокообразные плоды, от шаровидной до эллипсоидальной формы, твердые, морщинистые, длиной 6-14 мм, шириной 5-11 мм, сверху с кольцевой оторочкой, образованной ссохшимися чашелистиками. В мякоти плода находятся 1-5 деревянистых косточек, имеющих неправильную треугольную, овальную или сжатую с боков форму. Поверхность косточек ямчато-морщинистая или бороздчатая по спинке. Цвет плодов от желто-оранжевого и буровато-красного до темно-бурого или черного, иногда с беловатым налетом выкристаллизованного сахара. Запах отсутствует. Вкус сладковатый [43].

Заготовку плодов проводят в период полного созревания – с конца сентября до заморозков. Зрелые плоды собирают в мешки или корзины, обрывая целиком щитки с плодами или отдельные плоды [20, 118].

В качестве ЛРС используются высушенные плоды боярышника. Сушат плоды в теплых помещениях или сушилках при температуре их нагрева до 70 С° на решетках, потом проветривают для отделения плодоножек и других примесей [118].

Высушенное сырье упаковывают в тканевые мешки по 40 – 50 кг. Хранят на стеллажах в сухом проветриваемом помещении. Срок годности сырья 2 года [118].

Плоды рябины (fructus Sorbi).

Плоды заготавливают от дикорастущего или культивируемого дерева (реже кустарника) рябины обыкновенной – *Sorbus aucuparia* L.

Сырье представляет собой яблокообразные плоды, без плодоножек, 2-5 гнездные, округлой или овальной формы, диаметром до 9 мм, блестящие, сильно морщинистые, на верхушке с остающейся чашечкой из пяти малозаметных смыкающихся зубчиков. В мякоти плода находятся от 2 до 7 слегка серповидно-изогнутых, продолговатых, с острыми концами, гладких красновато-бурых семян.

Цвет плодов красновато- или желтовато-оранжевый, буровато-красный. Запах слабый, своеобразный. Вкус кисловато-горький [43].

Заготовку сырья проводят осенью (сентябрь – октябрь). Щитки с плодами обрывают и собирают в мешки, корзины или ведра.

Для медицинских целей применяют высушенные плоды. Естественную сушку проводят в хорошо проветриваемых помещениях, в сушилках или на открытом воздухе под навесами, рассыпав тонким слоем на подстилке из ткани или бумаги; искусственную – в печах при температуре 60 – 80 °С [118].

В свежем виде плоды разрешены только в качестве пищевого сырья [20].

Готовое сырье упаковывают в тканевые мешки по 30-40 кг и хранят на стеллажах в сухом, чистом, хорошо проветриваемом помещении. Срок годности сырья 2 года [118].

Плоды малины (fructus Rubi idaeus).

Сырье заготавливают от дикорастущего или культивируемого кустарника малины обыкновенной (*Rubus idaeus L.*).

Плоды представляют собой сложные костянки (состоят из большого числа (30-60) отдельных, сросшихся между собой костянок) округлой или конусовидной формы, не слипшиеся в комки. Размеры плода от 7,5 до 12 мм. Отдельные костянки мелкие, шаровидные или эллипсоидные, внутри с косточкой, имеющие ямчатую поверхность. Цвет поверхности – серовато-малиновый, мякоти – розовый, косточек – темно-желтый. Запах специфический, приятный. Вкус кисловато-сладкий [33].

В качестве лекарственного растительного сырья используют зрелые плоды малины (заготовку проводят в июле – августе). Сырье собирают в сухую погоду, очищают от случайно попавших листьев, веток, недозрелых плодов [118].

После предварительного подвяливания плоды малины сушат в сушилках при температуре 50 – 60 °С рассыпав на бумаге, ткани или сетках. Возможна сушка в печах [45, 118].

Сухие плоды упаковывают в мешки по 30 – 40 кг и хранят в сухом, хорошо проветриваемом помещении. Срок годности 2 года [118].

Раньше для изготовления малинового сиропа (был включен в Государственную Фармакопею VIII издания) использовались свежие плоды малины. При этом каких-либо нормативных документов, регламентирующих качество свежих плодов малины, а также условия заготовки и хранения данного сырья, не разработано [42].

Плоды шиповника (fructus Rosae).

В качестве лекарственного растительного сырья используются плоды, заготовленные от различных видов шиповника, относящихся к трем секциям: секции *Cinnamomeae* (высоковитаминные виды) - шиповник майский (шиповник коричный) (*R. cinnamomea* L.), шиповник иглистый (*R. acicularis* Lindl.), шиповник даурский (*R. davurica* Pall.), шиповник Беггера (*R. beggeriana* Schrenk), шиповник Федченко (*R. fedtschenkoana* Regel), шиповник кокандский (*R. Kokanica* (Regel) *Regel ex Juz.*); секции *Rugosae* (высоковитаминные виды) - шиповник морщинистый (*R. rugosa* Thunb.); и секции *Caninae* (низковитаминные виды) - шиповник собачий (*R. canina* L.), шиповник щитконосный (*R. corymbifera* Borkh.), шиповник мелкоцветковый (*R. micrantha* Smith.), шиповник песколюбивый (*R. psammophila* Chrshan.), шиповник войлочный (*R. tomentosa* Smith.), шиповник зангезурского (*R. zangezura* P. Jarosch.) [20, 43, 118].

Сырье представляет собой цельные, очищенные от чашелистиков и плодоножек ложные плоды разнообразной формы: от шаровидной, яйцевидной или овальной до сильно вытянутой веретеновидной. Длина плодов 0,7 – 3 см, диаметр – 0,6 – 1,7 мм. На верхушке плода имеется небольшое круглое отверстие (у видов секции *Cinnamomeae*) или пятиугольная площадка (у видов секции *Canina*). Плоды состоят из разросшегося мясистого, при созревании сочного цветоложа и заключенных в его полости многочисленных плодиков-орешков. Наружная поверхность плодов блестящая, реже матовая, более или менее морщинистая. Внутри плоды выстланы длинными, щетинистыми волосками.

Орешки мелкие, продолговатые, со слабовыраженными гранями. Цвет плодов от оранжево-красного до буровато-красного, орешки светло-желтые, иногда буроватые. Запах отсутствует. Вкус кисловато-сладкий, слегка вяжущий [43].

В заготовке высоко- и низковитаминных видов существуют различия.

Высоковитаминные виды заготавливают в августе-сентябре. В инструкции по заготовке указано, что сбор плодов должен быть завершен до заморозков, так как после заморозков при оттаивании содержание аскорбиновой кислоты в сырье снижается. После заготовки в свежем виде плоды шиповника могут храниться не более 3 дней [118].

При выборе способа сушки плодов высоковитаминных видов шиповника отдают предпочтение искусственной сушке в сушилках различного типа при температуре нагрева плодов до 80-90 С°. Считается, что при такой температуре плоды быстро высыхают без значительных потерь аскорбиновой кислоты [48, 118].

Сбор плодов низковитаминных видов шиповника проводят в течение всей осени – с момента их полного покраснения до заморозков. Не следует собирать плоды до их полного покраснения, поскольку незрелое сырье содержит недостаточно органических кислот и каротиноидов [118].

С целью высушивания низковитаминных видов шиповника может быть использована как искусственная, так и естественная воздушная сушка.

Упаковывают высушенные плоды шиповника высоко- и низковитаминных видов в мешки до 25 кг. Срок годности 2 года [118].

1.3. Химический состав биологически активных веществ плодов боярышника, шиповника, рябины и малины.

Плоды боярышника, рябины, малины и шиповника являются ценными источниками биологически активных веществ, состав которых определяет терапевтическую активность указанных видов растительного сырья.

Доминирующей группой БАВ в растительном организме являются сахара. Они составляют до 85-90% сухой массы растения. Все сахара подразделяются на моносахариды (глюкоза, фруктоза, ксилоза), дисахариды (сахароза, лактоза) и полисахариды (крахмал, инулин) [109].

Для фармакогнозии наибольший интерес вызывает изучение состава, структуры и свойств полисахаридов растений, поскольку некоторые из них проявляют ярко выраженную фармакологическую активность. Полисахариды способны выводить из организма соли тяжелых металлов и радионуклидов, обладают выраженными гастропротективным и противовоспалительным эффектами, оказывают влияние на эндокринную и иммунную системы [69].

В работе по изучению водорастворимых полисахаридов мякоти плодов шиповника морщинистого было установлено наличие трех фракций пектиновых полисахаридов с суммарным выходом 12,4%, которые исследователи назвали «розолинанами». Было показано, что углеводные цепи данных БАВ преимущественно состоят из α -1,4-связанных остатков D-галактуроновой кислоты, а также из остатков следующих нейтральных моносахаридов: арабинозы, галактозы, рамнозы; в качестве минорных присутствуют остатки ксилозы и маннозы. Исследователями была подтверждена гипополидемическая активность полисахаридов шиповника и их способность оказывать влияние на адгезивность перитониальных макрофагов [52].

В плодах рябины обыкновенной водорастворимая фракция полисахаридов составляет 4,2%. В основном они представлены пектиновыми веществами, в состав углеводных цепей которых входят остатки галактуроновой кислоты (до 68%), арабинозы и галактозы в качестве главных компонентов. Установлено, что водные растворы пектиновых полисахаридов рябины проявляют выраженную антиоксидантную активность [53, 54, 88, 139].

Плоды боярышника также богаты пектиновыми веществами. Их содержание составляет 1,9—6,1 % на сырое вещество. Отмечено довольно высокое содержание сорбита в плодовой мякоти различных видов боярышника,

что позволяет использовать его в качестве заменителя сахара в питании больных сахарным диабетом [67, 107].

В зависимости от сорта и условий произрастания в плодах малины содержится 5 – 11% сахаров, среди которых преобладают хорошо усвояемые фруктоза и глюкоза. Содержание пектиновых веществ составляет 0,45 – 0,73% [49, 65].

Органические кислоты составляют большую группу и играют исключительно важную роль в обмене веществ растений. Они являются промежуточными соединениями в ходе окисления углеводов, жиров, аминокислот и белков. Органические кислоты обладают широким спектром биологического действия на организм человека: антисептическим (бензойная, салициловая кислоты), жаждоутоляющим (яблочная, лимонная кислоты), антиоксидантным (аскорбиновая кислота) и др. [69, 81].

Высоким содержанием органических кислот характеризуются плоды рябины обыкновенной и различных видов шиповника. Плоды рябины содержат d-винную, лимонную, до 2,8% L-яблочной кислот. В 1859 г. впервые из плодов рябины была выделена сорбиновая кислота. Суммарное содержание свободных органических кислот в плодах рябины может достигать 4%, а в плодах шиповника в зависимости от вида колеблется от 2 до 4% (в основном лимонная и яблочная) [19, 70, 82, 139].

Оба рода являются богатыми источниками аскорбиновой кислоты. В плодах высоковитаминных видов шиповника ее содержание может достигать 5,5% [82, 96].

В плодах малины идентифицированы лимонная, яблочная, янтарная, муравьиная кислоты. Содержание суммы свободных органических кислот достигает 7% [16, 49, 121, 136].

Аминокислоты обладают широким спектром фармакологического действия, оказывая влияние на различные органы и ткани, а также участвуя в обменных процессах.

В плодах шиповника идентифицировано 16 свободных и 18 связанных аминокислот, суммарное содержание которых составляет 0,86 и 1,21% соответственно [92].

Сумма свободных аминокислот плодов боярышника представлена фосфосерином, таурином, глицерофосфоэтаноламином, глутамином, аспарагиновой кислотой, саркозином, метионина сульфоксидом, треонином, серином, аспарагином, глутаминовой кислотой, пролином, цитруллином, глицином, аланином, валином, изолейцином, лейцином, тирозином, фенилаланином, гидроксизинол, ГАМК, лизином, гистидином [96].

Плоды малины накапливают порядка 0,5 - 0,8% азотистых веществ [82].

Характерной особенностью обмена веществ растений является синтез фенольных соединений и их производных. Фенольные соединения классифицируют по числу атомов в углеродном скелете на несколько групп: простые фенолы, фенолкарбоновые кислоты, фенилпропаноиды, флавоноиды, изофлавоноиды, стильбены [21, 64, 69]

Биофлавоноиды – это обширная группа фенольных соединений растительного происхождения, имеющих общую дифенилпропановую структуру и обладающих капилляроукрепляющей (так называемой Р-витаминной) активностью [15, 21].

Из флавоноидов, присутствующих в плодах боярышника, рябины, шиповника, отмечают рутин, кверцетин, изокверцетин. Показано, что доминирующим компонентом в сырье рябины и шиповника является рутин. По оценкам различных авторов суммарное содержание флавоноидов в плодах рябины и шиповника составляет 0,2 – 0,4%. В плодах боярышника также выделены и идентифицированы гиперозид, витексин, биофлавоноид, пиннатифидин, 8-метокси кемпферол. Содержание суммы флавоноидов в плодах боярышника находится в пределах от 0,057% до 0,085%, причем от 0,028% до 0,04% приходится на гиперозид [9, 23, 58, 61, 74, 89, 97, 99, 116, 142].

Плоды боярышника богаты также антоцианами (до 1200 мг/100 г) и лейкоантоцианидинами (от 400 до 1500 мг/100 г). В плодах боярышника

темноокрашенных видов антоцианы представлены производными цианидина и пеонидина, причем значительно преобладают производные цианидина – от 1,3% до 3,1%, в зависимости от сорта [1, 16, 82].

Основными антоцианами плодов рябины являются цианидин-3-глюкозид, цианидин-3-галактозид и цианидин-3-арабинозид. Суммарное содержание антоцианов в рябине не велико и составляет около 13,6 мг/100 г свежих плодов [18, 135].

В плодах различных видов шиповника идентифицированы цианидин-3-глюкозид, пеларгонидин-3,5-глюкозид, а также проантоцианидиновые производные (процианидины В1, В2, В3, В4) [82].

Существует много работ по изучению состава фенольных соединений плодов малины. Достоверно установлено присутствие в них антоцианов (цианидин-3,5-диглюкозида, цианидин-3-софорозида, цианидин-3-глюкозида, пеларгонидин-3-глюкозида, пеларгонидин-3-рутинозида) и флавоноидов (кверцетин). Показано, что антоцианы составляют в среднем 70% от общего содержания фенольных компонентов в плодах малины, тогда как на долю флавоноидов приходится только 4% [14, 125, 130, 147].

Второй по значимости группой БАВ фенольной природы в плодах малины являются фенолкарбоновые кислоты. Доминируют среди них эллаговая, ферруловая, р-кумаровая и салициловая [131, 137].

В плодах боярышника фенолокислоты преимущественно представлены хлорогеновой и кофейной, в плодах рябины обыкновенной преобладают хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты [18, 23, 40, 83].

Суммарное содержание фенолкарбоновых кислот в плодах фармакопейных видов шиповника составляет 1,39% [96, 146].

Группа липофильных БАВ, содержащихся в исследуемых плодах, представлена, главным образом, тритерпеновыми соединениями, а также каротиноидами.

Из тритерпеновых соединений, присутствующих в побегах, цветках и плодах боярышника, отмечают, прежде всего, олеаноловую и маслиновую

кислоты, находят также урсоловую, кратеговую, акантовую кислоты. Содержание суммы тритерпеновых соединений в плодах различных видов боярышника колеблется от 1,8% до 3,1% [50, 92].

В шиповниках тритерпеновые вещества в основном накапливаются в листьях и корнях (производные урсоловой кислоты) [120].

Каротиноиды и их производные имеют большое значение для человека и животных, поскольку являются основой зрительных пигментов, ответственных за восприятие света и различение цветов. В медицине каротиноиды используют в основном для профилактики или лечения авитаминоза А.

Известно, что содержание каротиноидов в плодах рябины обыкновенной может достигать 120 мкг на 1 г свежего сырья, из которых 38% приходится на каротины. Установлено, что основные компоненты каротиноидного комплекса рябины – α -каротин, β -каротин и его изомер, проликопин и γ -каротин [40, 80].

В плодах шиповника установлено наличие β -каротина, виолаксантина, антраксантина, зеаксантина, рубиксантина, ликопина, лютеина [82].

Содержание каротиноидов в плодах различных видов боярышника колеблется от 2 до 13 мг/100 г, доминирующим компонентом среди них является лютеин [15].

1.4. Стандартизация плодов боярышника, шиповника, рябины и малины по содержанию действующих веществ.

Важным фактором, влияющим на эффективность и безопасность фитопрепаратов, является их качество. В связи с этим вопросам стандартизации лекарственных средств растительного происхождения, а также исходного лекарственного растительного сырья, в наше время придается большое значение.

Основным сборником нормативных документов на лекарственные препараты в России является Государственная Фармакопея. Требования к качеству 83 видов ЛРС приведены в фармакопейных статьях ГФ XI издания, в то время как к медицинскому использованию в России в настоящее время разрешено

около 250 видов сырья. Для остальных видов сырья продолжают действовать чаще устаревшие государственные стандарты (ГОСТы), отдельные фармакопейные статьи, по различным причинам не включенные в ГФ XI и XII изданий [90].

В зарубежных странах требования к качеству ЛРС изложены в национальных фармакопеях данных государств.

Препараты растительного происхождения чаще всего представляют собой сложные смеси биологически активных веществ. Не всегда удается выявить доминирующую группу соединений, определяющих основной фармакологический эффект лекарственного средства. Поэтому часто в различных нормативных документах стандартизацию фитопрепаратов и ЛРС проводят по содержанию разных групп действующих веществ (табл.1.4.1).

Так, плоды боярышника стандартизуют в соответствии со статьей №32 ГФ XI изд., в.2, изм.1-3 по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид (не менее 0,06%) или в пересчете на рутин (не менее 0,06%). В то же время Европейская и Британская Фармакопеи регламентируют содержание в плодах боярышника суммы процианидинов в пересчете на цианидина хлорид (не менее 1%), а Китайская фармакопея – органических кислот в пересчете на лимонную кислоту (не менее 5%). Белорусская Фармакопея предлагает определять в плодах боярышника сразу два показателя – содержание процианидинов и содержание флавоноидов [41, 43, 123, 129].

Плоды шиповника имеют широкое применение, как в России, так и за рубежом. В нашей стране качество плодов шиповника регламентируется статьей № 38 ГФ XI издания, в.2 и ФС 42-3312-96. В соответствии с требованиями отечественных НД плоды шиповника стандартизуют по содержанию аскорбиновой кислоты (не менее 0,2%). Особые требования предъявляются к сырью для приготовления препаратов Холосас, Картолин и сиропов (низковитаминные виды шиповника), в нем регламентируется содержание органических кислот в пересчете на яблочную кислоту (не менее 2,6%). Также на плоды шиповника имеются монографии в Европейской, Британской, Китайской,

Японской и Белорусской Фармакопеях. За исключением Китая и Японии, все перечисленные монографии регламентируют содержание в плодах шиповника аскорбиновой кислоты. В фармакопее Китая указанное лекарственное растительное сырье стандартизуют по содержанию полисахаридов в пересчете на глюкозу (не менее 25%), а в монографии на плоды шиповника японской фармакопеи показатель содержания действующих веществ отсутствует [41, 43, 123, 129, 134, 144].

Качество плодов рябины обыкновенной в России регламентируется ГОСТ 6714-74, а также ГФ XI изд., в.2, ст.39, изм.1-2. В соответствии с требованиями указанных нормативных документов стандартизацию сырья рябины проводят по содержанию органических кислот в пересчете на яблочную кислоту (не менее 3,2%). При этом хорошо известно, что сырье рябины обыкновенной является также источником флавоноидов, антоцианов, аскорбиновой кислоты, каротиноидов. В связи с этим не удивительно, что зарубежные НД регламентируют содержание в указанном ЛРС других групп БАВ. Например, монография на плоды рябины фармакопеи Белоруссии включает показатель содержания аскорбиновой кислоты (не менее 0,01%) и каротиноидов в пересчете на β -каротин (не менее 0,003%) [34, 41, 43].

Единственным отечественным нормативным документом, регламентирующим качество плодов малины, на данный момент является ГОСТ 3525-75. Указанный документ не предусматривает стандартизацию плодов малины по содержанию действующих веществ. Этот факт свидетельствует о несовершенстве современной отечественной документации, регламентирующей качество плодов малины, и необходимости ее доработки. Стоит отметить, что в монографиях на плоды малины зарубежных фармакопей (Белоруссии и Китая) показатель содержания действующих групп БАВ также отсутствует [33, 41, 144].

Вышеперечисленные примеры относятся к вопросам стандартизации высушенного растительного сырья. При этом все чаще современные исследования направлены на изучение возможности использования в медицинской практике свежего ЛРС. Очевидно, что для регламентации качества свежих плодов

Стандартизация плодов боярышника, шиповника, рябины, малины по содержанию действующих веществ.

НД	Плоды боярышника	Плоды шиповника	Плоды рябины	Плоды малины
ГФ СССР XI изд., в.2, 1990	- сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид не менее 0,06% - сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,06%	- аскорбиновая кислота не менее 0,2% - органические кислоты в пересчете на яблочную кислоту не менее 2,6%	Органические кислоты в пересчете на яблочную кислоту не менее 3,2%	нет статьи на данный вид сырья
Европейская фармакопея, 6 изд., 2008	процианидины в пересчете на цианидина хлорид не менее 1,0%	аскорбиновая кислота не менее 0,3%	нет монографии на данный вид сырья	нет статьи на данный вид сырья
Британская фармакопея 2009, в.3.	процианидины в пересчете на цианидина хлорид не менее 1,0%	аскорбиновая кислота не менее 0,3%	нет статьи на данный вид сырья	нет статьи на данный вид сырья
Фармакопея Китая, 2005, в.1.	органические кислоты в пересчете на лимонную кислоту не менее 5,0%	полисахариды в пересчете на глюкозу не менее 25,0%	нет статьи на данный вид сырья	показатель содержания действующих веществ отсутствует
Фармакопея Республики Беларусь, 2007, т.2.	- процианидины в пересчете на цианидина хлорид не менее 1,0% - сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид не менее 0,06%	- аскорбиновая кислота не менее 0,2% - органические кислоты в пересчете на яблочную кислоту не менее 2,6%	- аскорбиновая кислота не менее 0,01% - каротиноиды в пересчете на β -каротин не менее 0,003%	показатель содержания действующих веществ отсутствует

необходима своя база нормативных документов, поскольку химический состав, а значит и фармакологический эффект свежего сырья зачастую существенно отличается от высушенного.

На сегодняшний день в нашей стране действуют ТУ 64-4-26-86 на «Плоды шиповника свежие», а также ГОСТ Р 54691-2011 «Малина и ежевика свежие». Указанные документы касаются растительного сырья, применяемого в пищевой промышленности, и поэтому предусматривают оценку качества свежего плодов только по внешнему виду, запаху, вкусу, содержанию примесей и токсических элементов. Такая стандартизация не применима к лекарственному растительному сырью, используемому для изготовления лекарственных препаратов [39].

Таким образом, существует необходимость в дополнительных исследованиях с целью разработки новых, отвечающих современным требованиям нормативных документов, регламентирующим качество как свежего, так и высушенного лекарственного растительного сырья.

1.5. Применение плодов боярышника, шиповника, рябины и малины в аллопатической медицине и гомеопатии.

Плоды боярышника, рябины, шиповника и малины давно и широко используются в фармацевтической практике. Данные виды лекарственного растительного сырья поступают в аптеку в фасованном виде для изготовления водных извлечений, входят в состав сборов, являются сырьевой основой для получения водно – спиртовых экстракционных препаратов.

Фармакологическое действие и препараты плодов боярышника.

Плоды боярышника являются хорошо известным лечебным средством, применяемым при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [108].

Научное обоснование лечебным свойствам боярышника дали английские ученые. В XVII веке английский врач-травник Николас Кульпепер оценил боярышник как эффективное средство против грудной жабы (стенокардии). А в

XIX в. английский врач Клемент смог полностью прекратить боль пациентов при стенокардии, назначая лекарство на основе боярышника. Кроме того, проводя свои исследования, Клемент пришел к выводу, что боярышник после его употребления способен полностью выводиться из организма, а не накапливаться, как некоторые вещества. Французские врачи-исследователи Рейли и Ушар в начале XX века рекомендовали использование боярышника при ишемической болезни, повышенном кровяном давлении, мерцательной аритмии сердца и атеросклерозе [108].

В современной медицине лекарственные препараты из плодов боярышника (жидкий экстракт, настойка и отвар) применяются как сердечно - сосудистые средства. Их фармакологическая активность была подтверждена, и ее связывают с содержанием флаваноидных компонентов, в частности процианидинами [72, 92, 95, 111, 113, 124].

Галеновые препараты боярышника усиливают кровообращение в коронарных сосудах сердца и сосудах мозга, оказывают антиаритмический эффект. Экспериментальные исследования на животных показали, что экстракт боярышника оказывает стимулирующее действие на сердце и вместе с тем уменьшает возбудимость сердечной мышцы, в больших концентрациях расширяет периферические сосуды и сосуды внутренних органов. Содержащиеся в боярышнике урсоловая и олеановая кислоты усиливают кровообращение в сосудах сердца и мозга, понижают артериальное давление. Наибольшую антиаритмическую эффективность препараты боярышника проявляют при курсовом применении. Более выраженное антиаритмическое действие оказывает жидкий экстракт из плодов в дозе 1 мл/кг [92, 127, 132].

Широко используются кардиопротективные, антиишемические, гипохолестеринемические и гипогликемические свойства препаратов боярышника [82, 127, 138].

Отмечают седативную активность препаратов боярышника. В эксперименте экстракт плодов боярышника пятипестичного при однократном введении понижал биоэлектрическую активность лобных и затылочных областей коры

больших полушарий у кроликов. При ежедневном в течение 5 дней введении препарата понижение ЭЭГ было более заметным; эти изменения на ЭЭГ постепенно уменьшались в течение нескольких дней после прекращения введения, что свидетельствует о продолжительном седативном действии боярышника [92].

Как кардиотоническое и регулирующее кровообращение средство боярышник рекомендуется при недостаточности кровообращения у людей в пожилом возрасте, особенно при болезнях климактерического периода, при атеросклерозе и сердечных неврозах [108].

Предложены препараты, приготовленные на основе экстрактов листьев, цветков и плодов боярышника для терапии и профилактики онкологических заболеваний. Готовые препараты содержат 0,1-13% флавоноидов и 0,05-10% процианидинов [82, 124, 145].

Также плоды боярышника применяются в гомеопатической практике. Препарат *Crataegus* используется в виде матричной настойки (D2 и D3 разведения) при упадке сил, бессоннице, раздражительности, колющих болях в сердце, хронических заболеваниях сердца со слабостью [4, 66, 112].

Фармакологическое действие и препараты плодов шиповника и рябины.

Плоды шиповника и рябины обыкновенной являются широко известными поливитаминными средствами. В лечебных целях указанное растительное сырье применяется в виде отваров и входит в состав витаминных сборов. Из плодов шиповника также получают сироп и жидкий экстракт [72, 83, 108].

За счет высокого содержания органических кислот плоды рябины обыкновенной и низковитаминных видов шиповника усиливают секрецию и переваривающую способность желудочного сока, что наряду с желчегонным эффектом способствует улучшению пищеварения [79, 101].

На основе экстракта из плодов шиповника получен препарат Холосас, обладающий гепатопротекторными и желчегонными свойствами. Кроме того, Холосас применяется как общеукрепляющее средство при астении и истощении, в

том числе у детей, ослабленных после длительных и тяжелых заболеваний. В некоторых исследованиях показано, что препарат обладает гиполипидемическим действием [60, 72].

Масляные извлечения из плодов рябины и шиповника, содержащие значительные количества каротина и каротиноидов, оказывают ранозаживляющее, противовоспалительное действие [82, 149].

Немецкими и австралийскими учеными описаны антиоксидантные свойства экстракта из плодов шиповника собачьего. Также указанный экстракт обладал выраженными антиканцерогенным и антимуtagenным эффектами [146].

Китайскими исследователями подтверждены гиполипидемические свойства плодов шиповника, которые ученые связывают с высоким содержанием полисахаридов в указанном сырье [82].

Наряду с поливитаминным действием плоды рябины обыкновенной обладают выраженными мочегонными свойствами. Сироп из сока свежих ягод применяют в качестве диуретического и гемостатического средства при гломерулонефритах [77, 108].

Пектиновые вещества, содержание которых в плодах рябины и шиповника достаточно высоко, привлекают к себе внимание исследователей в связи с их применением при отравлениях тяжелыми металлами и при поражениях радиоактивными элементами [68, 143].

Фармакологическое действие и препараты плодов малины.

В официальной медицине высушенные плоды малины применяют в виде настоя как потогонное, противовоспалительное средство, входят в потогонные сборы №1,2, витаминный сбор №7 [63, 108].

Из плодов малины получают сироп, который корректирует вкус лекарственных препаратов [108].

Ранее в аптеках изготавливали малиновую воду, которая широко использовалась как противохордачное и освежающее средство, особенно в детской практике [108].

Также плоды малины обыкновенной применяются как антисклеротическое, противовоспалительное, жаропонижающее, антиоксидантное и высоковитаминное средство при гипертонической болезни, атеросклерозе и при простуде [13, 82, 108, 122, 135].

Недавние исследования показали, что эллаготаннины из плодов малины обладают профилактическим действием при желудочных воспалениях и поэтому могут быть использованы в составе лечебной диеты при пептической язве желудка [128].

Болгарскими исследователями установлено, что экстракт из плодов малины проявляет выраженный эффект против вируса гриппа А. В связи с этим плоды малины могут быть перспективным источником для противовирусных лекарственных средств [133].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1.

1. Различные способы консервации позволяют сохранить биологическую ценность и качество свежего растительного сырья. Наиболее широкое применение среди них получили методы высушивания и замораживания. Сушка – традиционный способ консервации лекарственного растительного сырья. Замораживание широко применяется для консервации пищевого растительного сырья, но почти не используется в фармацевтической практике.

2. Плоды боярышника, рябины, шиповника и малины содержат комплекс биологически активных веществ, который определяет широкий спектр их фармакологического действия. Доминирующими группами БАВ в указанных плодах являются органические кислоты, фенольные соединения, полисахариды.

3. В качестве лекарственного растительного сырья плоды боярышника, рябины, шиповника и малины используются только в высушенном виде. Углубленное изучение влияния замораживания и низкотемпературного хранения на состав БАВ указанных плодов ранее не проводилось.

4. Существует необходимость в совершенствовании нормативной документации, регламентирующей качество изучаемых видов плодов, а также ее гармонизации в соответствии с требованиями зарубежных фармакопей.

5. Актуален вопрос возможности получения лекарственных препаратов из свежих и замороженных плодов боярышника, шиповника, рябины и малины.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Объектами исследования служили образцы свежих, свежемороженых и высушенных плодов боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea Pall*), рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia L.*), малины обыкновенной (*Rubus idaeus L.*) и шиповника коричневого (*Rosa cinnamomea L.*), собранные в 2010 – 2013 г.г. Заготовку образцов сырья боярышника проводили в Щелковском районе Московской области, рябины и малины – в Домодедовском районе Московской области, шиповника коричневого – в Ботаническом саду Первого МГМУ им. И. М. Сеченова.

Замораживание образцов сырья проводили согласно ГОСТ Р 53956-2010 «Фрукты быстрозамороженные». Плоды упаковывали в полиэтиленовые пакеты и хранили в морозильной камере при температуре -18 °С. Все исследования проводили в размороженном сырье. Размораживание осуществляли в соответствии с указанным ГОСТом в бытовом холодильнике при температуре 6 – 8 °С в течение 2,5 ч.

Сушку исследуемых образцов проводили в сушильном шкафу при температуре 60 – 80 °С. Высушенное сырье помещали в бумажные пакеты и хранили в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи ГФ XI изд., в.1 «Хранение лекарственного растительного сырья» в сухом, чистом, хорошо вентилируемом помещении.

Также объектами исследования служили отвары из плодов боярышника, шиповника, рябины и настои из плодов малины различных способов консервации. Изготовление водных извлечений из высушенных образцов сырья проводили согласно общей фармакопейной статье ГФ XI изд., в.2 «Настои и отвары». Водные извлечения из свежих и замороженных плодов получали в соотношении сырье : экстрагент 1:10, расчет навески сырья и объема экстрагента проводили с учетом влажности исходного сырья.

При анализе водно-спиртовых извлечений объектами исследования служили настойки и жидкие экстракты аллопатические, а также настойки

матричные гомеопатические из свежих, свежемороженых и высушенных плодов боярышника.

Настойки получали методом дробной мацерации в соотношении сырье – экстрагент 1:5. В качестве экстрагента при изготовлении настоек из свежего и замороженного сырья использовали 85% (об.) этиловый спирт, при изготовлении настоек из высушенных плодов – 70% (об.) этиловый спирт.

Жидкие экстракты изготавливали методом реперколяции в соотношении сырье – экстрагент 1:1. Концентрацию этилового спирта подбирали так же, как и в настойках.

Для получения и анализа настоек матричных гомеопатических в качестве лекарственного растительного сырья были использованы свежие, свежемороженые и высушенные плоды боярышника сглаженного (*C. laevigata* (Poir.) DC), заготовленные в Домодедовском районе Московской области в 2013 г. Матричные настойки из свежего и замороженного сырья изготавливали по методу 2 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные» с использованием в качестве экстрагента 90% (об.) этилового спирта. Настойку из высушенных плодов получали по методу 4 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные», в качестве экстрагента использовали 70% (об.) этиловый спирт.

Влажность сырья определяли на влагомере MF-50 ("A&D Company Ltd", Япония) по методике, представленной в общей статье ГФ XI, в.1, стр.285 «Определение влажности лекарственного растительного сырья».

pH извлечений измеряли на pH-метре pH 330i ("Wissenschaftlich - Technische Werkstätten GmbH" (WTW), Германия).

Плотность матричных настоек определяли по методике ГФ XI изд., в.1, с.24 (метод 1).

Сухой остаток в водных и водно-спиртовых извлечениях определяли по фармакопейной методике, изложенной в общей фармакопейной статье «Настойки», ГФ XI изд., в.2, стр.148.

Изучение состава органических кислот и фенольных соединений в образцах сырья, а также в матричных настойках из плодов боярышника проводили методом тонкослойной хроматографии. В качестве неподвижной фазы использовали пластинки с силикагелем «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ». Для приготовления хроматографических систем использовали растворители марки «ч.» и «х.ч.».

В ходе исследований апробированы следующие подвижные фазы: спирт этиловый 95% : аммиак конц. (16 : 4,5), этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20), бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4 : 1 : 2), бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (9 : 1 : 0,5), этилацетат – кислота уксусная ледяная – вода (25 : 5 : 5), этилацетат – метанол – кислота муравьиная безводная (90 : 5 : 5), хлороформ : кислота уксусная ледяная (3 : 1), толуол – метиловый спирт – кислота уксусная ледяная (90 : 16 : 4).

В качестве стандартных образцов в работе были использованы следующие коммерчески доступные индивидуальные вещества: гиперозид (производитель «Fluka»), рутина тригидрат (производитель «Fluka»), кверцетин (производитель «Sigma-Aldrich»), лютеолин (производитель «Sigma-Aldrich»), хлорогеновая кислота (производитель «Sigma-Aldrich»), кофейная кислота (производитель «Sigma-Aldrich»), салициловая кислота (производитель «Sigma-Aldrich»), галловая кислота (производитель «Acros»), яблочная кислота (производитель «Fuso Chemical Co., Ltd.»), лимонная кислота (производитель «Fluka»), сорбиновая кислота (производитель «Sigma-Aldrich»), аскорбиновая кислота (производитель «Fluca»), янтарная кислота (производитель «Merck»).

Для количественного определения содержания аскорбиновой кислоты и свободных органических кислот использовали метод гальваностатической кулонометрии, руководствуясь методиками, разработанными на кафедре фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского ГМУ [10]. Исследования проводили на кулонометре «Эксперт-006» («Эконикс-Эксперт», Россия) при силе тока 5 мА. Содержание свободных органических кислот определяли титрованием электрогенерированными гидроксид-ионами с рН-метрической фиксацией конечной точки титрования.

Количественную оценку аскорбиновой кислоты проводили титрованием электрогенерированным йодом. Конечную точку титрования определяли биамперометрически.

Определение содержания флавоноидов в плодах и извлечениях боярышника и рябины проводили методом дифференциальной спектрофотометрии по методике, изложенной в изменении №3 к статье 32 ГФ XI изд., в.2, стр.283 «Плоды боярышника». УФ-спектры регистрировали с помощью спектрофотометра Cary Varian 4000 ("Agilent Technologies", Австралия). Количественную оценку содержания флавоноидов в плодах шиповника проводили согласно методике, изложенной в статье 52 ГФ XI изд., в.2 «Трава зверобоя». Сумму антоцианов в плодах и препаратах малины определяли в соответствии со статьей 6 ГФ XI изд., в.2 «Цветки василька синего».

Количественное содержание дубильных веществ определяли перманганатометрическим титрованием, руководствуясь общей фармакопейной статье ГФ XI издания, в.1, стр.286 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье».

Определение содержания полисахаридов проводилось в соответствии с методикой, приведенной в статье 20 ГФ XI издания, в.2, стр.264 «Листья подорожника большого».

Результаты исследования подвергались статистической обработке согласно общей статье ГФ XI, в.1, стр.199, объем выборки составлял 7 образцов. Метрологические характеристики апробированных методик анализа представляли в виде следующей таблицы:

X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %

X – среднее значение из числа повторностей
$$X = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

P – доверительная вероятность

$t(P, f)$ – критерий Стьюдента

S – стандартное отклонение
$$S = \sqrt{\frac{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}{F}}$$

S_x – стандартное отклонение среднего результата
$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Δx – доверительный интервал
$$\Delta x = \frac{f(t, p) \cdot S}{\sqrt{n}}$$

E – относительная ошибка определения
$$E = \frac{x \Delta}{x} \cdot 100$$

ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА, РЯБИНЫ, ШИПОВНИКА И МАЛИНЫ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ КОНСЕРВАЦИИ.

3.1. Изучение органических кислот в свежих, замороженных и высушенных плодах рябины, малины, боярышника и шиповника.

Органические кислоты являются одной из наиболее распространенных групп биологически активных веществ в растительном сырье. Они содержатся в разных частях растений, причем в плодах - в основном в свободном состоянии, тогда как в других частях растения преобладают связанные формы.

Согласно данным литературы органические кислоты являются одной из доминирующих групп БАВ в плодах рябины, шиповника, малины и боярышника [69, 82].

3.1.1. Качественный анализ свободных органических кислот в плодах различных способов консервации.

Качественный анализ органических кислот в исследуемых образцах сырья проводили методом тонкослойной хроматографии.

В качестве неподвижной фазы использовали пластинки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ», в качестве подвижной фазы – систему органических растворителей - спирт этиловый 95% : аммиак конц. (16 : 4,5). Насыщение камеры парами подвижной фазы осуществляли не менее 1 часа.

На линию старта пластинки с помощью микрошприца наносили по 10 мкл водных извлечений из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины. В качестве стандартных образцов (свидетелей) использовали водные растворы яблочной, лимонной, янтарной, аскорбиновой и сорбиновой кислот в концентрации 2 мг/мл. Пластинки с

нанесенными пробами высушивали на воздухе в течение 10 мин, помещали в камеру со смесью вышеуказанных растворителей и хроматографировали восходящим способом. Время хроматографирования определяли прохождением системой растворителей фронта – 12 см.

Детектирование хроматограммы проводили после опрыскивания пластинки 0,4% спиртовым раствором бромкрезолового зеленого и последующего нагревания в сушильном шкафу при 105°C в течение 5 минут. Зоны адсорбции проявлялись в виде желтых и голубых пятен на синем фоне.

На хроматограммах исследуемых образцов проявлялись следующие зоны адсорбции (рис.1.).

Во всех изучаемых объектах присутствовали зоны с R_f около 0,05 (лимонная кислота) и 0,30 (яблочная кислота). Причем зоны с R_f около 0,30 были наиболее интенсивными.

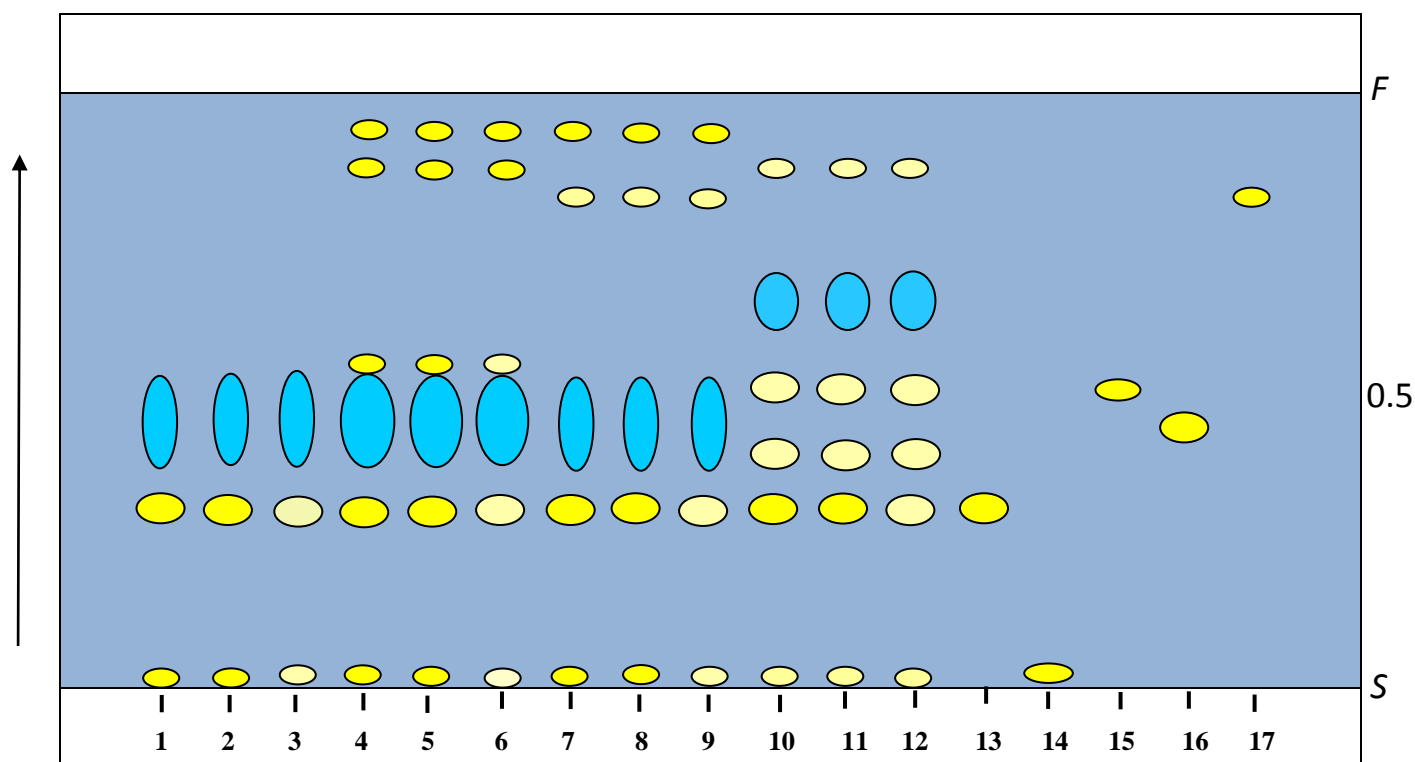
Извлечения из плодов малины дополнительно характеризовались зоной с R_f около 0,39 (янтарная кислота), а на хроматограммах плодов шиповника проявлялась зона адсорбции с R_f около 0,83 (аскорбиновая кислота). В плодах рябины было выявлено наличие сорбиновой кислоты (R_f около 0,50).

Зоны с R_f около 0,52; 0,87; 0,94 по характеру и окраски пятен также были идентифицированы как органические кислоты.

Сравнительный анализ показал, что наиболее богатый компонентный состав органических кислот среди изучаемых видов имеют плоды рябины обыкновенной и плоды малины (5 зон адсорбции).

Отличий в количестве зон на хроматограммах свежих, замороженных и высушенных плодов не наблюдали. При этом интенсивность зон яблочной и лимонной кислот на хроматограммах извлечений из высушенных плодов была заметно слабее, чем в замороженном и свежем сырье, что может говорить о различном количественном содержании данных компонентов в указанных образцах сырья.

Рис.3.1.1.1. Схема хроматограммы органических кислот в исследуемых объектах.

Водные извлечения:

- | | |
|----------------------------------|---------------------------------|
| 1 – свежих плодов боярышника | 7 – свежих плодов шиповника |
| 2 – замороз. плодов боярышника | 8 – замороз. плодов шиповника |
| 3 – высушенных плодов боярышника | 9 – высушенных плодов шиповника |
| 4 – свежих плодов рябины | 10 – свежих плодов малины |
| 5 – замороз. плодов рябины | 11 – замороз. плодов малины |
| 6 – высушенных плодов рябины | 12 – высушенных плодов малины |

Стандартные образцы:

- | | |
|--|--|
| 13 – яблочной кислоты ($R_f = 0,30$) | 16 – янтарной кислоты ($R_f = 0,49$) |
| 14 – лимонной кислоты ($R_f = 0,05$) | 17 – аскорбиновой кислоты ($R_f = 0,83$) |
| 15 – сорбиновой кислоты ($R_f = 0,50$) | |

С целью установления природы соединений, проявившихся в виде голубых зон адсорбции с R_f около 0,47 и 0,65, хроматограммы были обработаны 0,25% раствором нингидрина. После высушивания указанные пятна проявлялись в виде зон красно-малинового цвета, что свидетельствует о их принадлежности к веществам аминокислотного характера.

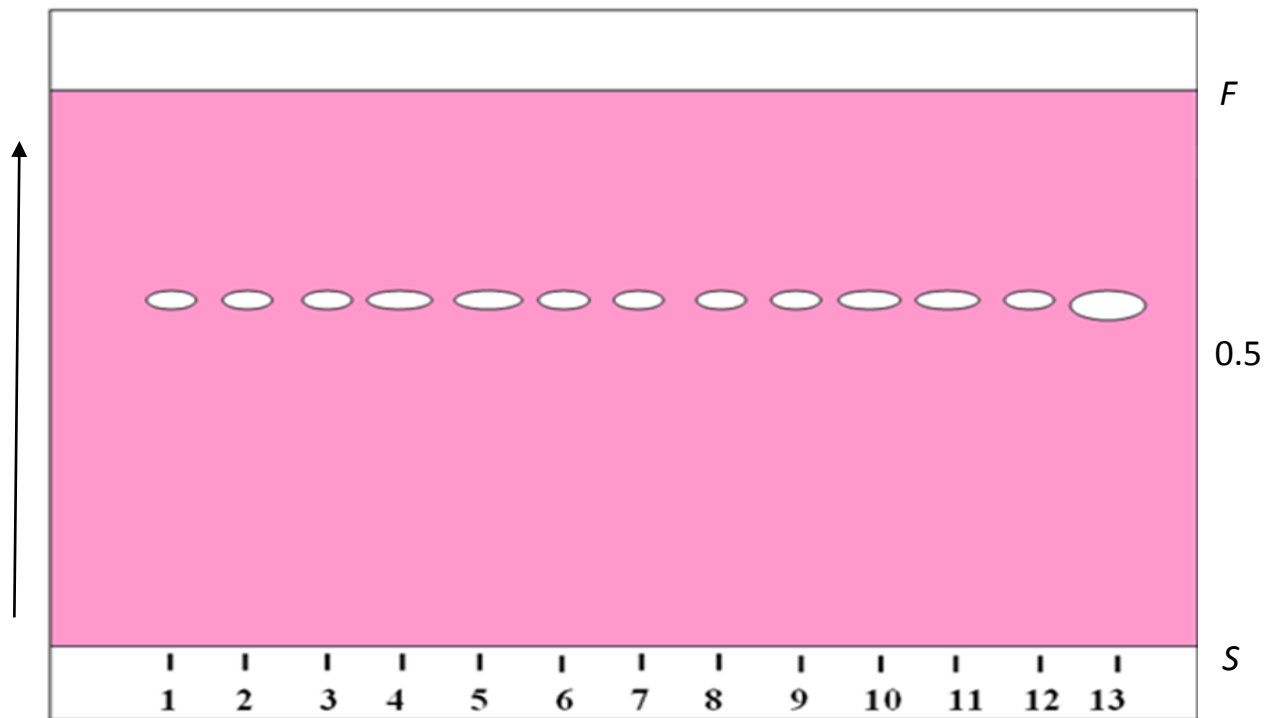
Идентифицировать наличие аскорбиновой кислоты в плодах рябины, малины и боярышника в указанных выше условиях не удалось. Тем не менее, согласно литературным данным этот компонент присутствует в составе изучаемых видов лекарственного сырья. В связи с этим для обнаружения аскорбиновой кислоты использовали более чувствительную систему растворителей: этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20). Детектирование проводили после опрыскивания пластинок раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Аскорбиновая кислота проявлялась в виде белых пятен на розовом фоне с R_f около 0,62 на уровне пятна свидетеля аскорбиновой кислоты (рис.2). Зоны адсорбции аскорбиновой кислоты присутствовали в извлечениях всех объектов исследования, однако в свежих и замороженных плодах шиповника и рябины были более интенсивными.

3.1.2. Количественная оценка содержания свободных органических кислот и аскорбиновой кислоты в плодах различных способов консервации.

Количественное определение свободных органических кислот в лекарственном растительном сырье проводят методом алкалиметрии, руководствуясь статьей 38 ГФ XI издания «Плоды шиповника» [43].

Основным недостатком данного метода является необходимость визуального определения конечной точки титрования по появлению лилово-красного окрашивания в пене. В виду наличия собственной окраски извлечений из сырья, отличной от извлечений из плодов шиповника, не всегда удается точно

Рис.3.1.2.1. Схема хроматограммы аскорбиновой кислоты в исследуемых плодах.

Водные извлечения:

1 – свежих плодов боярышника

2 – заморож. плодов боярышника

3 – высушенных плодов боярышника

4 – свежих плодов рябины

5 – заморож. плодов рябины

6 – высушенных плодов рябины

7 – свежих плодов шиповника

8 – заморож. плодов шиповника

9 – высушенных плодов шиповника

10 – свежих плодов малины

11 – заморож. плодов малины

12 – высушенных плодов малины

Стандартные образцы:13 – аскорбиновой кислоты ($R_f = 0,62$)

зафиксировать конец титрования, а значит, полученные значения будут завышены.

В связи с этим для количественной оценки содержания свободных органических кислот в анализируемых образцах нами был выбран метод гальваностатической кулонометрии.

Определение проводили по следующей методике.

Методика. Аналитическую пробу высушенных плодов измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, а свежих и замороженных плодов – до кашицеобразного состояния. 20 г (точная навеска) измельченных свежих или замороженных плодов (или 5 г высушенных плодов) помещают в колбу вместимостью 200 мл, приливают 150 мл воды очищенной и выдерживают в течение 2 часов на кипящей водяной бане. Полученное извлечение охлаждают и фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 200 мл. Доводят объем извлечения до метки водой очищенной и перемешивают.

0,5 мл полученного извлечения вносят в кулонометрическую ячейку, заполненную фоновым электролитом – водным раствором сульфата калия, и проводят измерение с помощью кулонометрического титратора. Содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по следующей формуле:

$$X = \frac{m \times 10^{-6} \times 200 \times 100 \times 100}{Va \times a (100 - W)}$$

где Va – объем извлечения, вводимого в кулонометрическую ячейку, мл

m – количество органических кислот, полученное при измерении, мкг

a – масса сырья, г

W – потеря в массе при высушивании, %.

Результаты исследования представлены в таблице 3.1.2.1 и на рис.3.1.2.1.

Таблица 3.1.2.1.

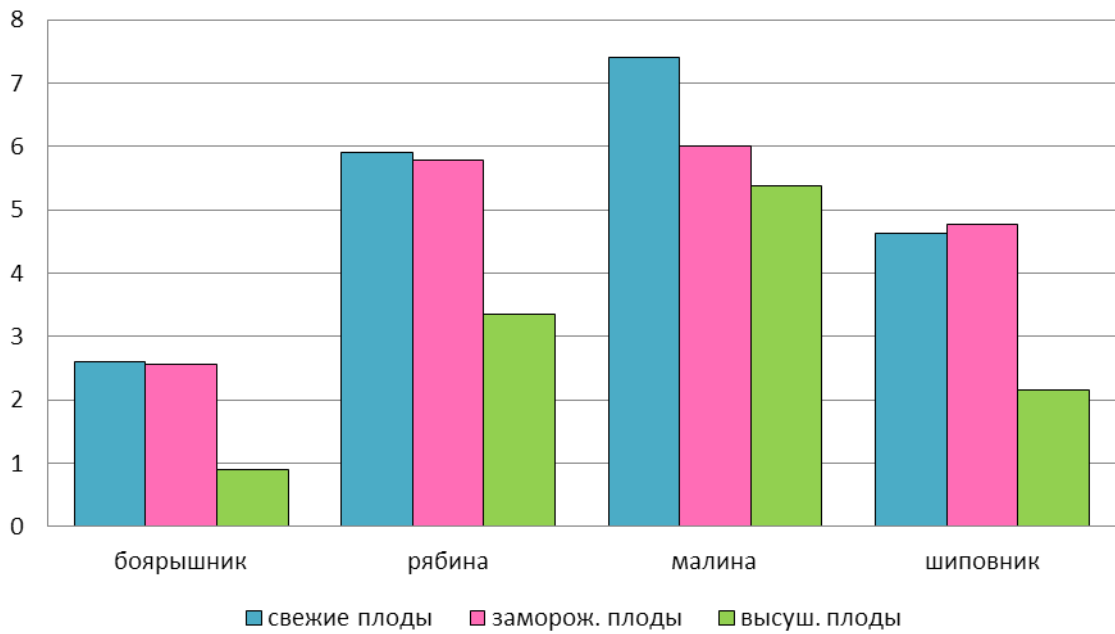
Результаты определения содержания суммы свободных органических кислот в исследуемых образцах сырья

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Плоды боярышника	Свежие	2,61	95	2,45	0,0217	0,0082	0,02	0,77
	Замороженные	2,57	95	2,45	0,0323	0,0122	0,03	1,17
	Высушенные	0,90	95	2,45	0,0172	0,0065	0,02	2,22
Плоды рябины	Свежие	5,90	95	2,45	0,0302	0,0114	0,03	0,51
	Замороженные	5,78	95	2,45	0,0420	0,0159	0,04	0,69
	Высушенные	3,35	95	2,45	0,0280	0,0106	0,03	0,90
Плоды малины	Свежие	7,40	95	2,45	0,0452	0,0171	0,04	0,54
	Замороженные	6,00	95	2,45	0,0413	0,0156	0,04	0,67
	Высушенные	5,38	95	2,45	0,0886	0,0335	0,08	1,49
Плоды шиповника	Свежие	4,62	95	2,45	0,0442	0,0167	0,04	0,87
	Замороженные	4,77	95	2,45	0,0616	0,0233	0,06	1,26
	высушенные	2,15	95	2,45	0,0347	0,0131	0,03	1,40

Как видно из полученных данных, наибольшим содержанием органических кислот среди изучаемых объектов характеризуются плоды малины. Замораживание практически не влияет на содержание данной группы БАВ в растительном сырье или приводит к их незначительному снижению. При этом в процессе сушки содержание органических кислот уменьшается в среднем на 27 – 65%.

Из литературных источников известны титриметрические, спектрофотометрические и хроматографические методы количественного определения аскорбиновой кислоты [5, 10, 81]. Стандартизацию лекарственного растительного сырья по данному показателю традиционно проводят по фармакопейной методике титрованием 2,6- дихлорфенолиндофенолятом натрия [43]. Однако данный метод можно

Рис.3.1.2.1. Содержание свободных органических кислот в свежих, замороженных и высушенных плодах.



использовать только в случае неокрашенных и слабоокрашенных вытяжек из сырья. В противном случае установить конец титрования весьма затруднительно.

С целью предотвращения возможных ошибок количественную оценку содержания аскорбиновой кислоты в изучаемых плодах также проводили методом кулонометрии.

Исследования проводили по следующей методике.

Методика. Из грубоизмельченной аналитической пробы свежих, замороженных и высушенных плодов берут навеску массой 20 г (точная навеска), помещают в фарфоровую ступку, где тщательно растирают со стеклянным порошком (около 5 г), приливают 150 мл воды очищенной и настаивают в течение 10 мин. Полученное извлечение перемешивают и фильтруют через бумажный складчатый фильтр.

5,0 мл извлечения (0,5 мл извлечения из плодов шиповника) вносят в кулонометрическую ячейку, заполненную электролитом – 0,1 М раствором KI в хлороводородном буферном растворе (pH = 1,2) и проводят измерение с помощью кулонометрического титратора.

Содержание аскорбиновой кислоты в абсолютно сухом сырье в процентах (X) рассчитывают по следующей формуле:

$$X = \frac{m \times 10^{-6} \times 150 \times 100 \times 100}{Va \times a (100 - W)}$$

где Va – объем извлечения, вводимого в кулонометрическую ячейку, мл

m – количество аскорбиновой кислоты, полученное при измерении, мкг

a – масса сырья, г

W – потеря в массе при высушивании, %.

Полученные результаты представлены в таблице 3.1.2.2.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что замораживание обеспечивает сохранение до 90% аскорбиновой кислоты от ее

Результаты определения содержания аскорбиновой кислоты в исследуемых образцах сырья

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Плоды боярышника	Свежие	0,087	95	2,45	0,0021	0,0008	0,002	2,30
	Замороженные	0,072	95	2,45	0,0019	0,0007	0,002	2,78
	Высушенные	0,027	95	2,45	0,0011	0,0004	0,001	2,70
Плоды рябины	Свежие	0,314	95	2,45	0,0017	0,0006	0,002	0,64
	Замороженные	0,292	95	2,45	0,0063	0,0024	0,006	2,05
	Высушенные	0,121	95	2,45	0,0034	0,0013	0,003	2,48
Плоды малины	Свежие	0,178	95	2,45	0,0058	0,0022	0,005	2,81
	Замороженные	0,165	95	2,45	0,0029	0,0011	0,003	1,82
	Высушенные	0,015	95	2,45	0,0013	0,0005	0,001	6,67
Плоды шиповника	Свежие	1,310	95	2,45	0,0130	0,0049	0,012	0,92
	Замороженные	1,162	95	2,45	0,0087	0,0033	0,008	0,69
	высушенные	0,319	95	2,45	0,0069	0,0026	0,006	1,88

исходного содержания в свежем сырье. При этом сушка приводит к окислению указанного биологически активного вещества и значительно снижает количество аскорбиновой кислоты в исследуемых плодах.

3.2. Изучение фенольных соединений в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника, шиповника, рябины и малины.

Фенольные соединения являются вторичными метаболитами, образование которых свойственно любой растительной клетке. По данным различных авторов, на долю ароматических соединений приходится от 25 до 60% сухой биомассы растений Земли. Фенольные соединения локализуются в различных органах и

тканях растений. Плоды являются богатым источником указанных БАВ, особенно таких групп, как флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества [21, 82, 98].

3.2.1. Качественный анализ флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в плодах различных способов консервации.

Изучение компонентного состава флавоноидов и фенолкарбоновых кислот проводили с помощью тонкослойной хроматографии.

Для анализа были получены спиртовые извлечения из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, шиповника, рябины и малины. В качестве неподвижной фазы использовали пластинки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ». С целью подбора оптимальных условий хроматографирования были изучены следующие хроматографические системы:

- бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4 : 1 : 5)
- бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (9 : 1 : 0,5)
- этилацетат – кислота уксусная ледяная – вода (25 : 5 : 5)
- этилацетат – метанол – кислота муравьиная безводная (90 : 5 : 5)
- хлороформ : уксусная кислота ледяная (3 : 1)

Наилучшее разделение наблюдалось в системе растворителей бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (9 : 1 : 0,5), которая и была выбрана для дальнейшего исследования.

Методика проведения хроматографического анализа сводилась к следующему. По 10 мкл извлечений из анализируемых образцов с помощью микрошприца наносили на линию старта хроматографической пластинки. Также на пластинку наносили по 3 мкл растворов стандартных образцов рутина, кверцетина, гиперозида, лютеолина, хлорогеновой и кофейной кислот в концентрации 20 мг/мл. Далее пластинку помещали в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную парами подвижной фазы, и хроматографировали восходящим способом. После прохождения фронтом

растворителей 12 см пластинку вынимали из камеры и высушивали на воздухе в течение 10 мин.

Идентификацию зон адсорбции проводили после опрыскивания хроматограммы раствором алюминия хлорида и нагревания в сушильном шкафу при температуре 100 - 105 °С в течение 5 мин. Хроматограммы просматривали при дневном и УФ-свете при длине волны 360 нм.

Полученные результаты представлены на рис.3.2.1.1.

При просмотре в дневном свете на хроматограммах плодов боярышника обнаруживались 3 зоны адсорбции желто-коричневого цвета с R_f около 0,62 (гиперозид), R_f около 0,88 (кверцетин) и слабоинтенсивная зона с R_f около 0,56 (рутин). Дополнительно при просмотре хроматограмм в УФ-свете были детектированы зоны ярко-голубого цвета с R_f около 0,47 и 0,80, которые соответствовали хлорогеновой и кофейной кислотам соответственно.

На хроматограммах плодов рябины различных способов консервации также было установлено наличие зон адсорбции рутина, кверцетина и хлорогеновой кислоты.

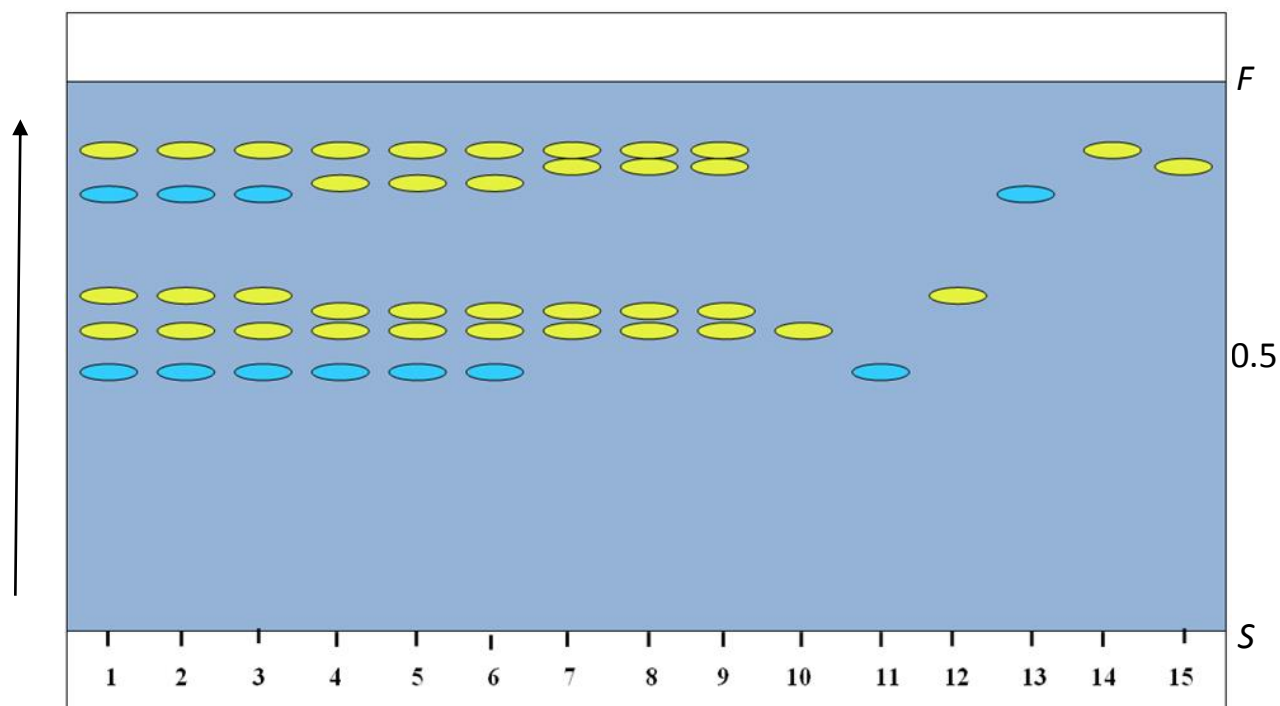
В свежих, замороженных и высушенных плодах шиповника со стандартными образцами были достоверно идентифицированы рутин, кверцетин и лютеолин (R_f около 0,86).

Не идентифицированные зоны адсорбции с R_f около 0,59 и 0,83, присутствовавшие на хроматограммах плодов шиповника и рябины, по характерной желто-коричневой окраске при дневном свете и желто-зеленому свечению в УФ-свете были отнесены к соединениям флавоноидной природы.

Не было выявлено различий в характере и окраске пятен на хроматограммах свежих, замороженных и высушенных образцов.

На хроматограммах извлечений из плодов малины при просмотре в условиях дневного освещения присутствовала только одна зона адсорбции бордово-красного цвета с R_f около 0,37. Зон адсорбции, характерных для флавоноидов и фенолкарбоновых кислот не наблюдалось.

Рис.3.2.1.1. Схема хроматограммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот исследуемых плодов (УФ-свет).



Спиртовые извлечения:

- | | |
|----------------------------------|---------------------------------|
| 1 – свежих плодов боярышника | 6 – высушенных плодов рябины |
| 2 – заморож. плодов боярышника | 7 – свежих плодов шиповника |
| 3 – высушенных плодов боярышника | 8 – заморож. плодов шиповника |
| 4 – свежих плодов рябины | 9 – высушенных плодов шиповника |
| 5 – заморож. плодов рябины | |

Стандартные образцы:

- | | |
|--|--|
| 10 – рутина ($R_f = 0,56$) | 13 – кофейной кислоты ($R_f = 0,80$) |
| 11 – хлорогеновой кислоты ($R_f = 0,47$) | 14 – кверцетина ($R_f = 0,88$) |
| 12 – гиперозида ($R_f = 0,62$) | 15 – лютеолина ($R_f = 0,86$) |

При хроматографировании в системе растворителей вода - муравьиная кислота безводная - этилацетат (5:10:85) и последующей обработке хроматограмм раствором железоаммонийных квасцов, во всех изучаемых объектах установлено присутствие зоны адсорбции темно-синего цвета на уровне зоны адсорбции свидетеля галловой кислоты с R_f около 0,92. При этом интенсивность окраски зон адсорбции на хроматограммах высушенных плодов была значительно меньше.

Из данных литературы известно, что плоды малины обладают богатым составом и высоким количественным содержанием фенолкарбоновых кислот [131, 137]. Также общеизвестно, что указанные соединения могут находиться в растительном сырье в свободном или связанном виде – в форме простых и сложных эфиров [131].

В связи с этим для идентификации фенолкарбоновых кислот в плодах малины были получены извлечения с проведением предварительного щелочного гидролиза, для разрушения связанных форм кислот.

Извлечения из плодов малины получали по следующей методике.

Методика. Аналитическую пробу свежих и замороженных плодов малины измельчают до кашицеобразного состояния, а высушенных плодов – до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. 100 г свежих или замороженных измельченных плодов (или 20 г высушенных) помещают в плоскодонную колбу со шлифом вместимостью 300 мл, приливают 150 мл спирта этилового 70% и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 1 ч. Полученное извлечение охлаждают и фильтруют через двойной слой марли с подложенным тампоном ваты в колбу вместимостью 500 мл. К фильтрату приливают 150 мл 2 М раствора гидроксида натрия и выдерживают при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 500 мл, приливают 150 мл этилацетата и встряхивают в течение 15 мин. После полного расслоения этилацетатный слой собирают в колбу вместимостью 300 мл. Обработку этилацетатом повторяют дважды. Полученное этилацетатное извлечение упаривают под вакуумом на ротационном испарителе до объема 30 мл.

С помощью микрошприца на стартовую линию хроматографической пластинки наносят по 20 мкл полученных этилацетатных извлечений и хроматографируют восходящим способом в системе растворителей толуол – метиловый спирт – кислота уксусная ледяная (90 : 16 : 4). После прохождения фронтом растворителей 12 см, пластинку вынимают из камеры, высушивают на воздухе в течение 5 мин. и опрыскивают раствором хлорида железа с последующим нагреванием в сушильном шкафу при 105°C в течение 5 минут.

Полученные результаты представлены на рис.3.2.1.2.

На хроматограммах извлечений из свежих и замороженных образцов наблюдалось 7 зон адсорбции. Со стандартными образцами идентифицированы галловая кислота (R_f около 0,33), кофейная кислота (R_f около 0,48) и салициловая кислота (R_f около 0,68).

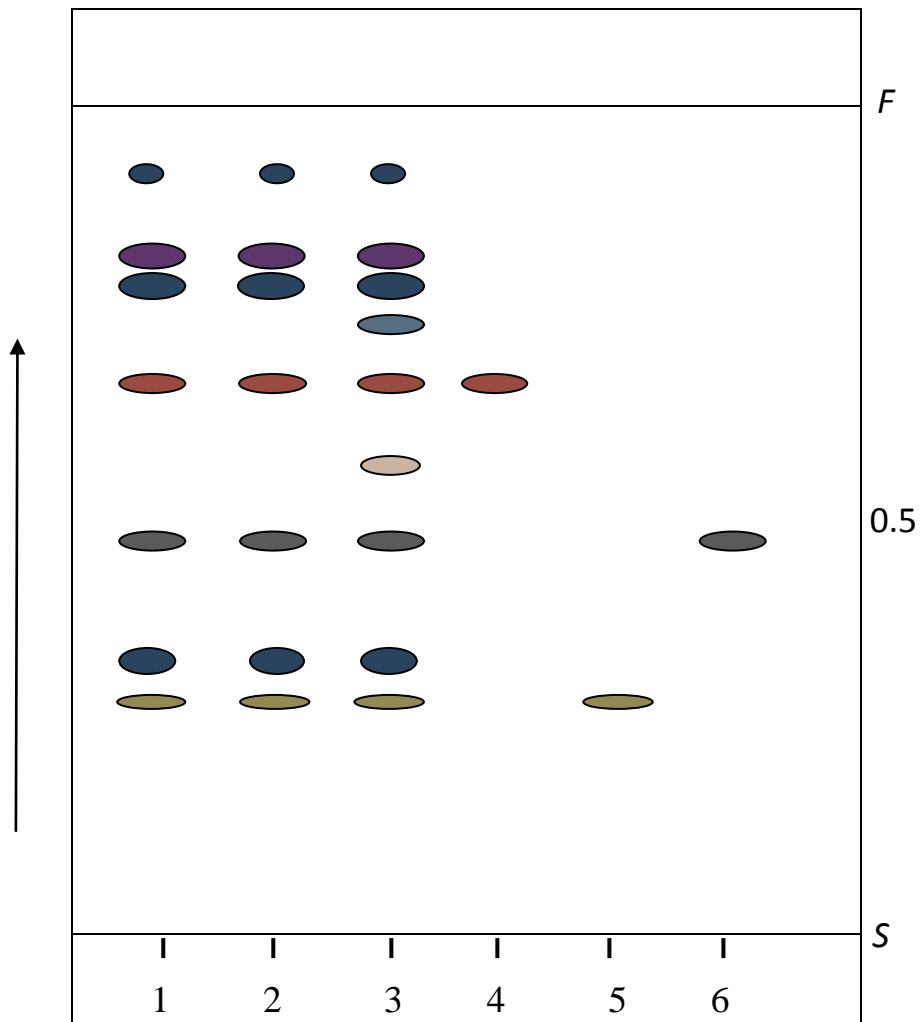
На хроматограмме извлечения из высушенных плодов малины присутствовало две дополнительные слабоинтенсивные зоны адсорбции с R_f около 0,57 и 0,73. Вероятно, из-за высокой влажности свежего и замороженного сырья, концентрация данных соединений в извлечениях из указанных плодов была ниже, чем из высушенных. Этим объясняется отсутствие указанных зон на хроматограммах свежих и замороженных плодов малины.

3.2.2. Количественная оценка содержания флавоноидов в плодах боярышника, рябины и шиповника различных способов консервации.

Количественное содержание флавоноидов в плодах боярышника, рябины и шиповника проводили методом дифференциальной спектрофотометрии.

ГФ XI издания регламентирует проводить определение содержания флавоноидов в плодах боярышника в пересчете на гиперозид, однако предлагаемая методика трудновоспроизводима, а ГСО гиперозида является весьма дорогостоящим. В связи с этим в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника определяли содержание суммы флавоноидов в пересчете на

Рис. 3.2.1.2. Схема хроматограммы фенолкарбоновых кислот в плодах малины.

Этилацетатные извлечения:

- 1 – свежих плодов малины
- 2 – заморож. плодов малины
- 3 – высушенных плодов малины

Стандартные образцы:

- 4 – салициловой кислоты ($R_f = 0,68$)
- 5 – галловой кислоты ($R_f = 0,33$)
- 6 – кофейной кислоты ($R_f = 0,48$)

рутин по альтернативной методике, приведенной в изменении №3 к статье 32 ГФ XI издания «Плоды боярышника».

Методика. Аналитическую пробу свежих или замороженных плодов боярышника измельчают до кашицеобразного состояния, а высушенных плодов – до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 10 г (точная навеска) измельченного свежего или замороженного сырья (или около 5 г высушенного сырья) помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл спирта этилового 70%, и, присоединив к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 минут. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы профильтровывают через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. В круглодонную колбу со шротом прибавляют 40 мл спирта этилового 70%, и как ранее нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 минут. После охлаждения раствор фильтруют через тот же фильтр в ту же колбу. Объем раствора в колбе доводят до метки. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 6 мл раствора алюминия хлорида, и на 3 минуты помещают в кипящую водяную баню. После чего колбу быстро охлаждают, прибавляют 2 мл буферного раствора с рН 4,0 и доводят спиртом этиловым 70% до метки.

Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 5 мл препарата, 2 мл буферного раствора с рН 4,0, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом 70% до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл СО рутина, обработанного аналогично испытуемому раствору, начиная со слов «...помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл...», используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 1 мл СО рутина и 2 мл буферного раствора с рН 4,0, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом этиловым 70% до метки.

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

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 1 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot m_0 \cdot 2000}{D_0 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого образца;

D₀ – оптическая плотность раствора РСО рутин;

m₀ – масса навески рутина, в граммах;

a – масса навески сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Приготовление раствора СО рутина: около 0,05 г рутина, предварительно высушенного при температуре от 130 до 135 °С в течение 3 ч, растворяют в 50 мл спирта этилового 70% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на кипящей водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают.

Приготовление раствора алюминия хлорида: 2 г алюминия хлорида (ГОСТ 3759-75) растворяют в 50 мл спирта этилового 70% в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Приготовление буферного раствора с рН 4,0: 10 мл 1М раствора натрия едкого помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 57 мл раствора уксусной кислоты, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают.

Результаты определения суммы флавоноидов в плодах боярышника представлены в таблице 3.2.2.1.

Количественное содержание флавоноидов в плодах боярышника различных способов консервации

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Свежие плоды	0,192	95	2,45	0,0087	0,0033	0,008	4,17
Замороженные плоды	0,164	95	2,45	0,0063	0,0024	0,006	3,66
Высушенные плоды	0,152	95	2,45	0,0069	0,0026	0,006	3,94

Как видно из таблицы содержание флавоноидов в свежих плодах составило $0,192 \pm 0,008$ %, в замороженных плодах – $0,164 \pm 0,006$ % и в высушенных плодах – $0,152 \pm 0,006$ %. Полученные данные свидетельствует об уменьшении количества флавоноидов в сырье, как при сушке, так и замораживании.

Унифицированной методики для определения содержания флавоноидов в плодах рябины нет. В ходе исследований нами было установлено, что оптимальной методикой для количественной оценки содержания указанной группы БАВ в плодах рябины является вышеописанная методика определения суммы флавоноидов в плодах боярышника. Данный выбор обусловлен следующим.

Плоды рябины характеризуются высоким содержанием фенолкарбоновых кислот. Указанные соединения, как и флавоноиды, обладают способностью к комплексообразованию при взаимодействии с алюминия хлоридом. Когда содержание фенолкарбоновых кислот в сырье высокое, они сдвигают максимум поглощения флавоноидных комплексов в низкочастотную область и не позволяют получить точных результатов. В связи с этим применение классической дифференциальной спектрофотометрии в данном случае нецелесообразно.

Описанная ранее методика определения содержания суммы флавоноидов в плодах боярышника основана на использовании реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом в присутствии ионизирующей добавки –

ацетата натрия. Одновременное использование комплексообразующих и ионизирующих реагентов вызывает более значительное батохромное смещение полос поглощения флавоноидов по сравнению с использованием только комплексообразующего реагента, что позволяет вести определение флавоноидного комплекса в длинноволновой части спектра, свободной от поглощения фенолкарбоновых кислот.

На рис.3.2.2.1. представлены УФ-спектры продуктов реакции флавоноидов и фенолкарбоновых кислот плодов рябины с алюминия хлоридом в присутствии ацетата натрия и без него. Как видно из представленных данных использование ацетата натрия позволяет разделить максимумы поглощения флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, тем самым, исключая влияние последних на итоговый результат определений.

В качестве стандартного вещества для пересчета нами был выбран рутин, поскольку максимум поглощения комплекса флавоноидов рябины с алюминия хлоридом (409 нм) совпадает с максимумом поглощения продукта реакции рутина с указанным комплексообразующим реагентом (рис.3.2.2.1).

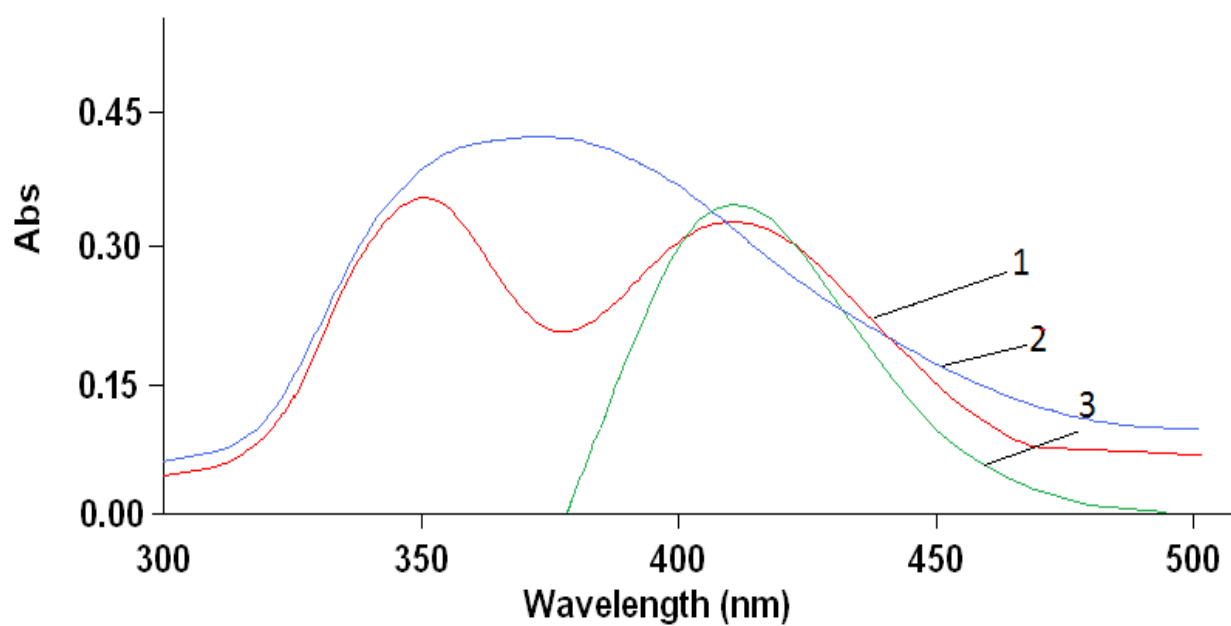
Результаты определения суммы флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных плодах рябины представлены в таблице 3.2.2.2.

Таблица 3.2.2.2.

Количественное содержание флавоноидов в плодах рябины различных способов консервации

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Свежие плоды	0,242	95	2,45	0,0063	0,0024	0,006	2,48
Замороженные плоды	0,218	95	2,45	0,0097	0,0037	0,009	4,05
Высушенные плоды	0,193	95	2,45	0,0047	0,0018	0,004	2,07

Рис.3.2.2.1. УФ-спектры комплексов флавоноидов и фенолкарбоновых кислот плодов рябины обыкновенной с алюминия хлоридом.



1 – в присутствии ацетата натрия, 2 – без добавления ацетата натрия,
3 – комплекс рутина с алюминия хлоридом.

Количественное определение содержания флавоноидов в плодах шиповника проводили по следующей методике.

Методика. Аналитическую пробу свежих или замороженных плодов шиповника измельчают до кашицеобразного состояния, а высушенных плодов – до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 10 г свежих или замороженных (или около 5 г высушенных) измельченных плодов помещают в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляют 30 мл 50% спирта этилового. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Вату помещают в колбу для экстрагирования и прибавляют 30 мл 50% спирта этилового. Экстракцию повторяют еще дважды в описанных выше условиях, фильтруя извлечения в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят 50% спиртом этиловым до метки и перемешивают (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 1 мл раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом и доводят объем раствора 95% спиртом этиловым до метки. Через 40 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл извлечения, 1 капли разведенной уксусной кислоты и доведенный 95% спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность СО рутина, приготовленного аналогично испытуемому раствору.

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

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого образца;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО рутина;

m_0 – масса навески рутина, в граммах;

a – масса навески сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Результаты определения суммы флавоноидов в плодах шиповника представлены в таблице 3.2.2.3.

Как видно из представленных данных, замораживание и высушивание приводит к незначительным изменениям количественного содержания флавоноидов в плодах шиповника.

Таблица 3.2.2.3.

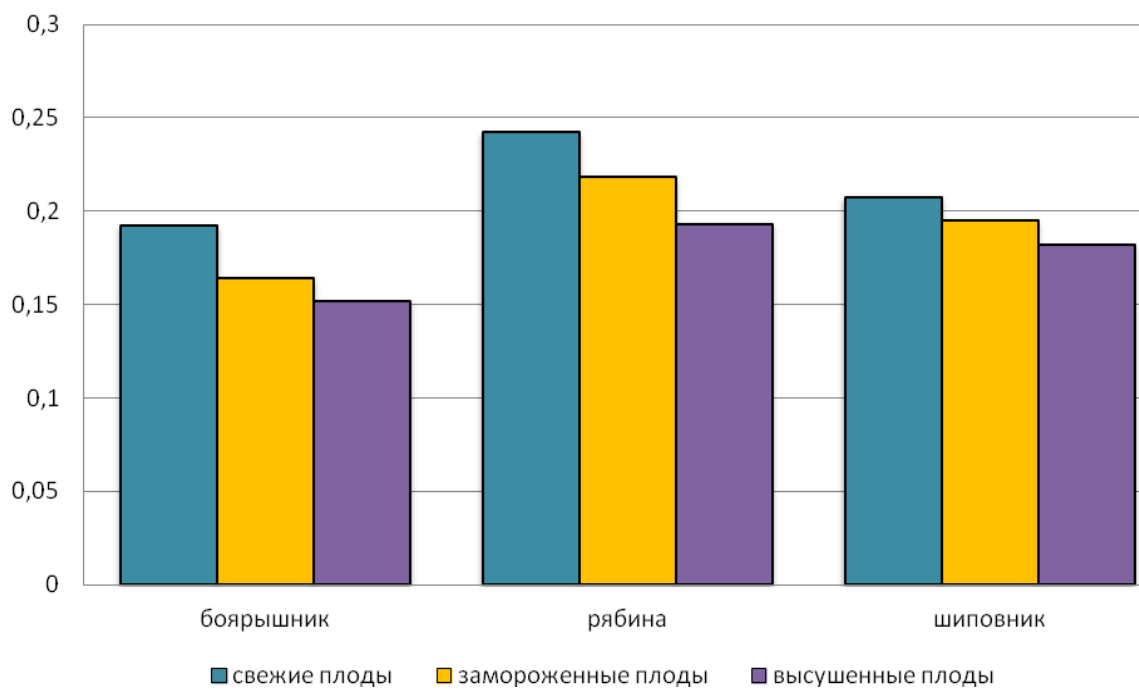
Количественное содержание флавоноидов в плодах шиповника различных способов консервации

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	ΔX	E, %
Свежие плоды	0,207	95	2,45	0,0045	0,0017	0,004	1,93
Замороженные плоды	0,195	95	2,45	0,0058	0,0022	0,005	2,56
Высушенные плоды	0,182	95	2,45	0,0077	0,0029	0,007	3,85

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что плоды боярышника, шиповника и рябины характеризуются схожими значениями суммы флавоноидов – 0,192 %, 0,242 % и 0,207% (в свежих плодах) соответственно (рис.3.2.2.2). Вероятно, данное явление объясняется ботаническим родством исследуемых видов лекарственных растений, которое заключается в принадлежности их к одному семейству.

Консервация плодов рябины и боярышника приводит к снижению содержания флавоноидов на 10 – 15% при замораживании и на 20% при высушивании. При этом потери флавоноидов при воздействии низких и высоких

Рис.3.2.2.2. Содержание суммы флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника, рябины и шиповника.



температур на плоды шиповника составляют 6% и 12% соответственно, что практически в 2 раза ниже, чем в других объектах. Можно предположить, что наблюдаемые различия связаны с более близким компонентным составом фенольных соединений плодов боярышника и рябины, как представителей одного подсемейства, в отличие от плодов шиповника.

3.2.3. Количественная оценка содержания антоцианов в плодах малины различных способов консервации.

Из литературных источников известно, что основная доля флавоноидных соединений в плодах малины приходится на антоцианы [6, 121, 130, 137]. В связи с этим количественную оценку содержания флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных плодах малины проводили по сумме антоцианов.

Для исследования был выбран метод прямой спектрофотометрии. Пересчет вели на цианидин-3,5-диглюкозид поскольку, максимум спектра поглощения извлечений из плодов малины совпал с максимумом спектра поглощения стандартного образца - цианидин-3,5-диглюкозида (рис.3.2.3.1).

Определение проводили по следующей методике.

Методика. Аналитическую пробу свежих или замороженных плодов малины измельчают до кашицеобразного состояния, а высушенных плодов – до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 5 г (точная навеска) свежих или замороженных (или около 2 г высушенных) измельченных плодов помещают в колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты, колбу выдерживают на водяной бане при температуре 40-45 °С в течение 15 мин. Извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл. Вату с сырьем снова помещают в колбу, прибавляют 100 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты, предварительно смывая частицы сырья с воронки в колбу, и повторяют экстрагирование указанным выше способом. Затем содержимое колбы фильтруют через вату в ту же мерную колбу. Сырье на фильтре промывают 40 мл

1% раствора хлористоводородной кислоты. После охлаждения фильтрата доводят объем извлечения 1% раствором хлористоводородной кислоты до метки. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 мл, отбрасывая первые 10 мл фильтрата, и измеряют оптическую плотность фильтрата на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют 1% раствор хлористоводородной кислоты.

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3,5-диглюкозид в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 250 \cdot 100}{453 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где D - оптическая плотность испытуемого раствора;

453 - удельный показатель поглощения цианидин-3,5-дигликозида в 1%растворе хлористоводородной кислоты;

a - масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

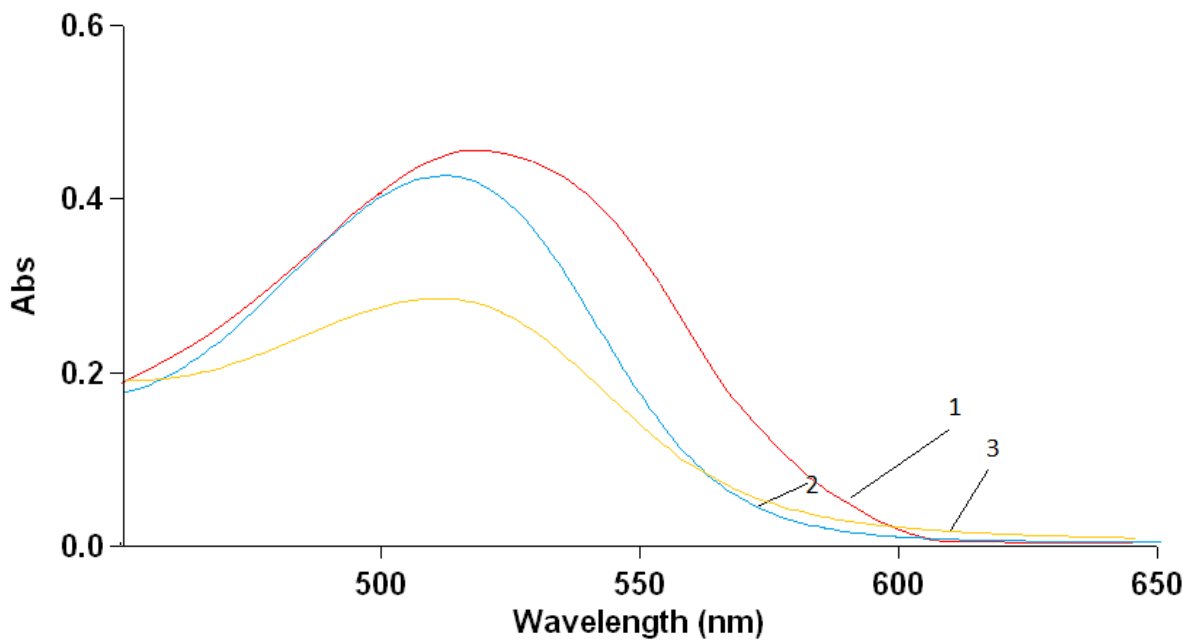
Результаты определения представлены в таблице 3.2.3.1.

Таблица 3.2.3.1.

Количественное содержание антоцианов в плодах малины.

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Свежие плоды	0,903	95	2,45	0,0119	0,0045	0,011	1,22
Замороженные плоды	0,717	95	2,45	0,0085	0,0032	0,008	1,12
Высушенные плоды	0,094	95	2,45	0,0048	0,0018	0,004	4,26

Рис.3.2.3.1. УФ-спектры антоцианов плодов малины обыкновенной.



1 – извлечение из свежих плодов малины, 2 – извлечение из замороженных плодов малины, 3 – извлечение из высушенных плодов малины.

Полученные данные свидетельствуют о значительном снижении количественного содержания антоцианов после высушивания. Замораживание является более перспективным методом консервации для сохранения указанной группы БАВ в плодах малины.

3.2.4. Количественная оценка содержания дубильных веществ в плодах различных способов консервации.

Определение содержания дубильных веществ в плодах боярышника, рябины, малины и шиповника различных способов консервации проводили согласно методике общей статьи ГФ XI издания в.1, стр.286 «Определение содержания окисляемых веществ в лекарственном растительном сырье» - перманганатометрическим титрованием.

Методика. Аналитическую пробу свежих или замороженных плодов измельчают до кашицеобразного состояния, а высушенных плодов – до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 5 г (точная навеска) свежих или замороженных (или около 2 г высушенных) измельченных плодов, помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливают 250 мл нагретой до кипения воды очищенной и кипятят с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 минут при периодическом перемешивании. Жидкость охлаждают до комнатной температуры и процеживают около 100 мл в колбу вместимостью 200 – 250 мл через вату так, чтобы частицы сырья не попали в колбу.

Затем 25 мл полученного извлечения помещают в колбу вместимостью 750 мл, прибавляют 500 мл воды очищенной и 25 мл раствора индигосульфокислоты. Титруют раствором перманганата калия (0,02 моль/л) при постоянном перемешивании до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно ставят контрольный опыт: к 25 мл раствора индигосульфокислоты прибавляют 500 мл воды очищенной и титруют перманганатом калия.

Определение содержания дубильных веществ (X) в процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье рассчитывают согласно формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где V – объем раствора перманганата калия (0,02 моль/л), израсходованного на титрование извлечения, в миллилитрах;

V₁ – объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование в контрольном опыте, в миллилитрах;

0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л), в граммах;

a – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Приготовление раствора индигосульфокислоты: 1 г индигокармина растворяют в 25 мл концентрированной серной кислоты, затем прибавляют еще 25 мл концентрированной серной кислоты и разбавляют водой очищенной до 1 л, осторожно вливая раствор в воду.

Полученные данные количественного содержания дубильных веществ в исследуемых образцах представлены ниже, в таблице 3.2.4.1.

Согласно полученным результатам воздействие на плоды низких температур позволяет сохранить большее количество дубильных веществ в сырье, по сравнению с высушиванием. По-видимому, при сушке происходит окисление и термическая деградация полифенолов, а также образование нерастворимых флобафенов. Потери дубильных веществ при замораживании могут быть связаны с разрушением клеточных органелл из-за образующихся кристаллов льда, высвобождением белков и их взаимодействием с дубильными веществами с образованием нерастворимых комплексов.

Результаты определения содержания дубильных веществ в анализируемых объектах.

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Плоды боярышника	Свежие	2,13	95	2,45	0,0865	0,0327	0,08	3,76
	Замороженные	1,78	95	2,45	0,0830	0,0314	0,08	4,49
	Высушенные	1,36	95	2,45	0,0646	0,0244	0,06	4,41
Плоды рябины	Свежие	4,27	95	2,45	0,1296	0,0490	0,12	2,81
	Замороженные	3,66	95	2,45	0,0994	0,0376	0,09	2,46
	Высушенные	2,35	95	2,45	0,0757	0,0286	0,07	2,98
Плоды малины	Свежие	5,06	95	2,45	0,1511	0,0571	0,14	2,77
	Замороженные	4,03	95	2,45	0,0929	0,0351	0,09	2,23
	Высушенные	2,41	95	2,45	0,1220	0,0461	0,11	4,56
Плоды шиповника	Свежие	7,12	95	2,45	0,1405	0,0531	0,13	1,83
	Замороженные	6,41	95	2,45	0,0757	0,0286	0,07	1,09
	высушенные	3,24	95	2,45	0,0886	0,0335	0,08	2,47

3.3. Изучение содержания полисахаридов в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника, шиповника, рябины и малины.

В настоящее время разработано множество физических, химических и физико-химических методов определения содержания полисахаридов в лекарственном сырье. В данном исследовании использовался гравиметрический метод количественной оценки сахаров, так как он является наиболее доступным и простым в исполнении.

Методика. Аналитическую пробу свежих или замороженных плодов измельчают до кашицеобразного состояния, а высушенных плодов – до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Навеску

измельченных свежих, замороженных и высушенных плодов массой 10 г (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 200 мл воды очищенной и кипятят с обратным холодильником на электрической плитке в течение 30 минут. Экстракцию повторяют еще 2 раза, используя в первом случае 200 мл, а во втором – 100 мл воды. Затем полученные растворы объединяют, центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течение 10 минут и декантируют в мерную колбу вместимостью 500 мл через 5 слоев марли, вложенную в стеклянную воронку диаметром 55 мм и предварительно промытую водой. Фильтр промывают водой и доводят объем раствора до метки.

25 мл раствора помещают в центрифужную пробирку, прибавляют 75 мл 95% спирта, перемешивают, выдерживают на водяной бане в течение 5 минут. Через час содержимое центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течении 30 минут.

Надосадочную жидкость фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 13-16 кПа через высушенный до постоянной массы при температуре 100-105 °С стеклянный фильтр ПОР 16 диаметром 40 мм. Осадок количественно переносят на фильтр и последовательно промывают 15 мл раствора 95% спирта в воде (3:1), 10 мл ацетона, 10 мл этилацетата. Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100-105 °С до постоянной массы.

Содержания суммы полисахаридов (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье определяют по формуле:

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W) \cdot 25}$$

где m_1 – масса фильтра, в граммах;

m_2 – масса фильтра с осадком, в граммах;

m – масса сырья, в граммах;

W – потеря в массе сырья при высушивании, в процентах.

Результаты определения содержания полисахаридов в свежих, замороженных и высушенных образцах приведены в таблице 3.3.1.

Таблица 3.3.1.

Результаты определения содержания полисахаридов в изучаемых видах растительного сырья.

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Плоды боярышника	Свежие	5,69	95	2,78	0,0997	0,0446	0,12	2,11
	Замороженные	4,07	95	2,78	0,0644	0,0288	0,08	1,97
	Высушенные	3,88	95	2,78	0,1216	0,0544	0,15	3,87
Плоды рябины	Свежие	4,43	95	2,78	0,0756	0,0338	0,09	2,03
	Замороженные	3,60	95	2,78	0,0805	0,0360	0,10	2,33
	Высушенные	3,32	95	2,78	0,0659	0,0295	0,08	1,85
Плоды малины	Свежие	6,33	95	2,78	0,1046	0,0468	0,13	2,05
	Замороженные	5,28	95	2,78	0,0709	0,0317	0,09	1,48
	Высушенные	5,35	95	2,78	0,1127	0,0504	0,14	2,36
Плоды шиповника	Свежие	9,32	95	2,78	0,1183	0,0529	0,15	1,61
	Замороженные	7,71	95	2,78	0,1295	0,0579	0,16	1,73
	высушенные	7,52	95	2,78	0,1447	0,0647	0,18	1,95

Как видно из таблицы 3.3.1, тенденция к снижению содержания полисахаридов наблюдается как при воздействии на плоды высоких, так и низких температур. Данное явление объясняется гидролитическими процессами, протекающими в растительном сырье при замораживании и высушивании, а также инверсией сахарозы.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.

1. Проведено сравнительное изучение состава биологически активных веществ свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника, рябины, малины и шиповника с использованием тонкослойной хроматографии. Во всех исследуемых объектах обнаружены яблочная кислота, лимонная кислота, аскорбиновая кислота, галловая кислота. В плодах боярышника также идентифицированы гиперозид, рутин, кверцетин, хлорогеновая и кофейная кислоты, в плодах рябины – сорбиновая кислота, рутин, кверцетин, хлорогеновая кислота, в плодах шиповника – рутин, кверцетин, лютеолин, в плодах малины – янтарная кислота, салициловая и кофейная кислоты.

3. Установлено, что способ консервации не влияет на компонентный состав биологически активных веществ в изучаемых объектах.

4. Подобраны оптимальные методики и условия пробоподготовки (степень измельчения сырья, соотношение сырья и экстрагента) для количественного определения органических кислот, аскорбиновой кислоты, флавоноидов, дубильных веществ и полисахаридов в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника, рябины, шиповника, малины.

6. Установлено, что содержание свободных органических кислот в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья составляет – $2,61 \pm 0,02\%$; $2,57 \pm 0,03\%$; $0,90 \pm 0,02\%$ для плодов боярышника; $5,90 \pm 0,03\%$; $5,78 \pm 0,04\%$; $3,35 \pm 0,03\%$ для плодов рябины; $4,62 \pm 0,04\%$; $4,77 \pm 0,06\%$; $2,15 \pm 0,03\%$ для плодов шиповника; $7,40 \pm 0,04\%$; $6,00 \pm 0,04\%$; $5,38 \pm 0,08\%$ для плодов малины (соответственно).

7. Содержание аскорбиновой кислоты в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья составляет – $0,087 \pm 0,002\%$; $0,072 \pm 0,002\%$; $0,027 \pm 0,001\%$ для плодов боярышника; $0,314 \pm 0,002\%$; $0,292 \pm 0,006\%$; $0,121 \pm 0,003\%$ для плодов рябины; $1,310 \pm 0,012\%$; $1,162 \pm 0,008\%$; $0,319 \pm 0,006\%$ для плодов шиповника; $0,178 \pm 0,005\%$; $0,165 \pm 0,003\%$; $0,015 \pm 0,001\%$ для плодов малины (соответственно).

8. Содержание флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья составляет – $0,192 \pm 0,008\%$; $0,164 \pm 0,006\%$; $0,152 \pm 0,006\%$; для плодов боярышника; $0,242 \pm 0,006\%$; $0,218 \pm 0,009\%$; $0,193 \pm 0,004\%$; для плодов рябины; $0,207 \pm 0,004\%$; $0,195 \pm 0,005\%$; $0,182 \pm 0,007\%$; для плодов шиповника (соответственно).

9. Содержание суммы антоцианов в свежих, замороженных и высушенных плодах малины составляет $0,903 \pm 0,011\%$; $0,717 \pm 0,008\%$; $0,094 \pm 0,004\%$ (соответственно).

10. Содержание дубильных веществ в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья составляет – $2,13 \pm 0,08\%$; $1,78 \pm 0,08\%$; $1,36 \pm 0,06\%$ для плодов боярышника; $4,27 \pm 0,12\%$; $3,66 \pm 0,09\%$; $2,35 \pm 0,07\%$ для плодов рябины; $7,12 \pm 0,13\%$; $6,41 \pm 0,07\%$; $3,24 \pm 0,08\%$ для плодов шиповника; $5,06 \pm 0,14\%$; $4,03 \pm 0,09\%$; $2,41 \pm 0,11\%$ для плодов малины (соответственно).

11. Содержание полисахаридов в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья составляет – $5,69 \pm 0,12\%$; $4,07 \pm 0,08\%$; $3,88 \pm 0,15\%$ для плодов боярышника; $4,43 \pm 0,09\%$; $3,60 \pm 0,10\%$; $3,32 \pm 0,08\%$ для плодов рябины; $9,32 \pm 0,15\%$; $7,71 \pm 0,16\%$; $7,52 \pm 0,18\%$ для плодов шиповника; $6,33 \pm 0,13\%$; $5,28 \pm 0,09\%$; $5,35 \pm 0,14\%$ для плодов малины (соответственно).

12. Показано, что замораживание практически не влияет на содержание свободных органических кислот и аскорбиновой кислоты, в отличие от высушивания, которое приводит к значительному снижению данных показателей. Количество полисахаридов, дубильных веществ и флавоноидов уменьшается как при сушке, так и при замораживании. Содержание антоцианов в высушенных плодах малины снижается практически в 10 раз по сравнению со свежим сырьем.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПЛОДАХ БОЯРЫШНИКА, РЯБИНЫ, ШИПОВНИКА И МАЛИНЫ ПРИ ХРАНЕНИИ.

4.1. Стабильность БАВ при хранении плодов в свежем виде.

На сегодняшний день в отечественной фармации отсутствуют нормативные документы, регламентирующие условия и сроки хранения свежих плодов боярышника, рябины, шиповника и малины. Каких-либо требований в целом к свежему ЛРС также не разработано. Общепринято считать, что срок хранения свежего ЛРС составляет 24 часа [91]. Тем не менее, проведенный ранее анализ литературы показал, что для каждого вида растительного сырья сроки и условия хранения строго индивидуальны и зависят от его химического состава и стабильности БАВ.

В связи с этим нами было проведено исследование по изучению стабильности основных групп БАВ (органических кислот, флавоноидов, дубильных веществ и полисахаридов) в свежих плодах боярышника, рябины, шиповника и малины.

Плоды помещали в бумажные пакеты и хранили в условиях неотопливаемого помещения (температура $+16 - +18^{\circ}\text{C}$) в течение 4 суток, а также в условиях холодильной камеры (температура $0 - +1^{\circ}\text{C}$) в течение 30 суток. Содержание БАВ определяли по методикам, приведенным в главе 3.

При хранении в неотопливаемом помещении на 4 сутки в плодах боярышника появлялись признаки гнили и плесени. В плодах малины указанные признаки порчи наблюдались уже на 2 сутки хранения. Поскольку такое сырье недопустимо для применения в фармацевтической практике, дальнейшие испытания с данными образцами плодов не проводили.

Результаты проведенного эксперимента представлены в таблицах 4.1.1 и 4.1.2.

В ходе исследования установлено, что наибольшей деградации при хранении свежих плодов в неотопливаемом помещении подвержена аскорбиновая

кислота. В плодах шиповника на 4 сутки хранения количество аскорбиновой кислоты снижалось до 61,6% от исходного, а в плодах боярышника ее содержание уже на 3 сутки составляло лишь 9,2% от первоначального. Также во всех объектах к конечному сроку хранения наблюдалось уменьшение содержания органических кислот и дубильных веществ в среднем на 5 – 9%. Содержание антоцианов в плодах малины через 24 ч снижалось на 6% от исходного. Количество флавоноидов и полисахаридов изменялось незначительно.

Хранение свежих плодов в условиях охлаждения (температура 0 - +1°C) обеспечивает удовлетворительное качество сырья в течение более продолжительного срока. Заметное снижение содержания аскорбиновой кислоты, органических кислот и дубильных веществ наблюдалось в плодах боярышника на 5 сутки хранения, в плодах шиповника – на 4 сутки хранения, в плодах малины – на 3 сутки хранения.

Установлено, что наибольшей стабильностью БАВ при хранении как в неотапливаемом помещении, так и в холодильной камере, отличались плоды рябины. Возможно, данное обстоятельство обусловлено содержанием в плодах рябины сорбиновой кислоты – природного консерванта.

На основании полученных данных рекомендованы следующие сроки хранения свежих плодов. В неотапливаемых помещениях плоды боярышника можно хранить в течение 2 суток, плоды рябины – в течение 3 суток, плоды шиповника – в течение 24 ч, плоды малины – в течение 12 ч. В условиях охлаждения (0 - +1°C) плоды боярышника могут храниться до 4 суток, плоды рябины – до 20 суток, плоды малины – до 2 суток, плоды шиповника – до 3 суток.

Таблица 4.1.1.

Стабильность БАВ в свежих плодах при хранении (t = +16 - +18°C)

Вид сырья	Срок хранения	Влажность, %	Сумма органических кислот, %	Аскорбиновая кислота, %	Сумма флавоноидов, %	Дубильные вещества, %	Полисахариды, %
Плоды боярышника	6 ч	71,81	2,61	0,087	0,192	2,13	5,69
	12 ч	70,53	2,58	0,078	0,190	2,10	5,60
	24 ч	69,84	2,57	0,067	0,189	2,06	5,56
	48 ч	67,44	2,40	0,034	0,186	2,00	5,54
	72 ч	66,38	2,36	0,008	0,182	1,93	5,48
	96 ч	—	—	—	—	—	—
Плоды рябины	6 ч	73,04	5,90	0,314	0,242	4,27	4,43
	12 ч	72,81	5,90	0,306	0,242	4,25	4,42
	24 ч	72,01	5,87	0,292	0,240	4,25	4,40
	48 ч	70,27	5,85	0,280	0,240	4,20	4,40
	72 ч	69,55	5,72	0,271	0,240	4,12	4,38
	96 ч	68,35	5,60	0,243	0,238	4,03	4,37
Плоды малины	6 ч	79,12	7,40	0,178	0,903	5,06	6,33
	12 ч	78,07	7,28	0,157	0,876	5,01	6,24
	24 ч	76,69	7,02	0,105	0,849	4,95	6,18
	48 ч	—	—	—	—	—	—
	72 ч	—	—	—	—	—	—
	96 ч	—	—	—	—	—	—
Плоды шиповника	6 ч	69,21	4,62	1,310	0,207	7,12	9,32
	12 ч	69,03	4,59	1,268	0,205	7,08	9,30
	24 ч	68,26	4,58	1,211	0,205	7,03	9,28
	48 ч	67,37	4,47	0,958	0,202	6,83	9,25
	72 ч	67,15	4,40	0,915	0,200	6,77	9,20
	96 ч	66,93	4,36	0,807	0,200	6,71	9,18

Таблица 4.1.2.

Стабильность БАВ в свежих плодах при хранении в холодильной камере ($t = 0 - +1^{\circ}\text{C}$)

Вид сырья	Срок хранения	Влажность, %	Сумма органических кислот, %	Аскорбиновая кислота, %	Сумма флавоноидов, %	Дубильные вещества, %	Полисахариды, %
Плоды боярышника	0 сут	71,81	2,61	0,087	0,192	2,13	5,69
	1 сут	72,27	2,61	0,081	0,191	2,11	5,70
	2 сут	71,82	2,58	0,074	0,190	2,07	5,68
	3 сут	71,54	2,53	0,070	0,190	2,05	5,68
	4 сут	71,12	2,48	0,042	0,188	2,03	5,66
	5 сут	70,83	2,42	0,025	0,183	1,97	5,60
Плоды рябины	0 сут	73,04	5,90	0,314	0,242	4,27	4,43
	1 сут	73,62	5,91	0,311	0,242	4,26	4,43
	2 сут	73,25	5,90	0,306	0,242	4,25	4,43
	3 сут	73,09	5,89	0,300	0,242	4,25	4,42
	4 сут	72,85	5,89	0,295	0,241	4,23	4,41
	5 сут	72,34	5,87	0,292	0,241	4,23	4,41
	10 сут	70,23	5,84	0,286	0,240	4,19	4,40
	15 сут	69,11	5,80	0,281	0,240	4,16	4,40
	20 сут	68,07	5,75	0,273	0,238	4,10	4,38
	25 сут	66,84	5,62	0,260	0,236	4,02	4,35
30 сут	64,32	5,54	0,252	0,236	4,00	4,33	
Плоды малины	0 сут	79,12	7,40	0,178	0,903	5,06	6,33
	1 сут	80,45	7,35	0,164	0,892	5,03	6,30
	2 сут	80,05	7,30	0,151	0,887	5,00	6,28
	3 сут	79,68	7,19	0,132	0,880	4,92	6,22
	4 сут	79,14	7,05	0,117	0,872	4,87	6,18
	5 сут	77,82	6,93	0,103	0,864	4,82	6,13
Плоды шиповника	0 сут	69,21	4,62	1,310	0,207	7,12	9,32
	1 сут	68,57	4,60	1,282	0,206	7,10	9,32
	2 сут	68,42	4,57	1,264	0,206	7,06	9,30
	3 сут	68,36	4,52	1,228	0,203	7,04	9,30
	4 сут	68,12	4,43	1,105	0,200	6,97	9,26
	5 сут	68,04	4,33	0,973	0,200	6,91	9,23

4.2. Стабильность БАВ при хранении плодов в замороженном и высушенном виде.

Следующим этапом нашего исследования было изучение стабильности БАВ в замороженных и высушенных плодах боярышника, рябины, малины и шиповника при хранении в течение 1 года.

Замороженное сырье хранили в соответствии с ГОСТ 29187-91 «Плоды и ягоды быстрозамороженные» в полиэтиленовых пакетах при температуре -18 – 20 °С без размораживания. Высушенное сырье упаковывали в бумажные пакеты и хранили согласно статье ГФ XI издания, в.1 «Хранение лекарственного растительного сырья» в сухом, чистом, хорошо вентилируемом помещении.

Переконтроль проводился через 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев по всем изучаемым группам БАВ по описанным ранее методикам.

Результаты исследования представлены в таблицах 4.2.1 и 4.2.2.

Как видно из полученных данных в процессе хранения плодов в замороженном виде постепенно снижается влажность сырья, что может быть связано с явлением «вымораживания». Содержание флавоноидов и полисахаридов через 12 месяцев практически не изменяется, а содержание органических кислот даже немного возрастает. Количество аскорбиновой кислоты и дубильных веществ при хранении существенно снижаются, в среднем потери аскорбиновой кислоты составляют 15 - 25%, а дубильных веществ 9 – 24%. Рекомендуемые сроки хранения для замороженных плодов боярышника, рябины и шиповника – 9 мес, для плодов малины – 6 месяцев.

При хранении высушенного сырья существенные потери наблюдаются только в отношении аскорбиновой кислоты, ее содержание к 12 месяцу хранения снижается до 67% от исходного.

Таблица 4.2.1

Стабильность БАВ в замороженных плодах при хранении (t = - 18 - 20°C)

Вид сырья	Срок хранения	Влажность, %	Сумма органических кислот, %	Аскорбиновая кислота, %	Сумма флавоноидов, %	Дубильные вещества, %	Полисахариды, %
Плоды боярышника	0 мес.	70,60	2,57	0,072	0,164	1,78	4,07
	1 мес.	70,24	2,55	0,070	0,164	1,74	4,02
	3 мес.	69,45	2,52	0,072	0,162	1,58	3,86
	6 мес.	67,89	2,52	0,064	0,158	1,55	3,83
	9 мес.	65,32	2,50	0,061	0,155	1,51	3,85
	12 мес.	64,06	2,48	0,054	0,147	1,35	3,82
Плоды рябины	0 мес.	72,90	5,78	0,292	0,222	3,66	4,30
	1 мес.	72,64	6,35	0,273	0,220	3,61	4,21
	3 мес.	69,05	6,31	0,272	0,214	3,47	4,12
	6 мес.	68,51	6,27	0,263	0,215	3,34	4,14
	9 мес.	66,70	6,23	0,256	0,207	3,29	4,11
	12 мес.	66,11	6,04	0,237	0,203	3,11	4,11
Плоды малины	0 мес.	78,12	6,00	0,165	0,717	4,03	6,08
	1 мес.	76,73	6,33	0,163	0,709	3,91	6,02
	3 мес.	75,82	6,24	0,160	0,685	3,77	5,95
	6 мес.	72,37	6,17	0,151	0,673	3,72	5,91
	9 мес.	71,09	6,03	0,137	0,664	3,35	5,83
	12 мес.	68,35	5,88	0,133	0,658	3,25	5,85
Плоды шиповника	0 мес.	67,32	4,77	1,162	0,195	6,41	9,27
	1 мес.	67,03	4,95	1,154	0,195	6,38	9,09
	3 мес.	65,14	4,93	1,136	0,193	6,25	9,02
	6 мес.	63,64	4,84	1,128	0,188	5,80	8,94
	9 мес.	61,32	4,78	1,113	0,185	5,41	8,86
	12 мес.	60,94	4,75	0,982	0,184	5,27	8,40

Таблица 4.2.2

Стабильность БАВ в высушенных плодах при хранении.

Вид сырья	Срок хранения	Влажность, %	Сумма органических кислот, %	Аскорбиновая кислота, мг%	Сумма флавоноидов, %	Дубильные вещества, %	Полисахариды, %
Плоды боярышника	0 мес.	4,60	0,90	0,027	0,152	1,36	3,88
	1 мес.	4,62	0,92	0,024	0,152	1,36	3,90
	3 мес.	4,54	0,89	0,022	0,152	1,35	3,87
	6 мес.	4,55	0,86	0,020	0,151	1,30	3,85
	9 мес.	4,53	0,81	0,020	0,150	1,30	3,81
	12 мес.	4,51	0,81	0,018	0,151	1,27	3,83
Плоды рябины	0 мес.	4,60	3,35	0,121	0,193	2,35	4,32
	1 мес.	4,65	3,27	0,115	0,191	2,35	4,28
	3 мес.	4,65	3,28	0,108	0,192	2,33	4,27
	6 мес.	4,63	3,24	0,093	0,190	2,31	4,22
	9 мес.	4,67	3,24	0,087	0,190	2,25	4,21
	12 мес.	4,72	3,21	0,080	0,188	2,17	4,19
Плоды малины	0 мес.	5,02	5,38	0,015	0,094	2,41	5,94
	1 мес.	5,01	5,31	0,015	0,092	2,39	5,90
	3 мес.	5,05	5,24	0,014	0,089	2,36	5,90
	6 мес.	5,09	5,26	0,013	0,083	2,28	5,87
	9 мес.	5,12	5,22	0,010	0,078	2,26	5,89
	12 мес.	5,17	5,21	0,010	0,078	2,21	5,87
Плоды шиповника	0 мес.	5,33	2,15	0,319	0,182	3,24	9,22
	1 мес.	5,33	2,08	0,315	0,180	3,20	9,20
	3 мес.	5,37	2,11	0,309	0,179	3,21	9,13
	6 мес.	5,36	2,12	0,305	0,176	3,20	9,11
	9 мес.	5,39	2,09	0,300	0,177	3,17	9,06
	12 мес.	5,42	2,10	0,296	0,176	3,15	9,04

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Проведено исследование по изучению стабильности БАВ в свежих плодах боярышника, рябины, малины и шиповника при хранении в неотапливаемом помещении (при температуре $+16 - +18^{\circ}\text{C}$) и в условиях охлаждения (при температуре $0 - +1^{\circ}\text{C}$). Во всех объектах наблюдалось снижение содержания аскорбиновой кислоты, органических кислот и дубильных веществ. При этом скорость деградации БАВ различалась в зависимости от вида сырья. Так, в плодах малины существенные изменения химического состава БАВ наблюдались уже через 1 сутки хранения в неотапливаемом помещении и через 3 суток хранения в холодильной камере. В то же время в плодах рябины количественное содержание органических кислот, аскорбиновой кислоты, дубильных веществ, флавоноидов и полисахаридов практически не изменялось в течение 3 суток при хранении в неотапливаемом помещении и 20 суток – в условиях охлаждения.

2. На основании проведенных исследований рекомендованы сроки хранения свежих плодов при температуре $+16 - +18^{\circ}\text{C}$ и в условиях охлаждения ($0 - +1^{\circ}\text{C}$): для плодов боярышника - 2 и 4 суток, для плодов рябины – 3 и 20 суток, для плодов шиповника – 24 ч и 4 суток, для плодов малины – 12 ч и 2 суток (соответственно).

3. Изучена стабильность органических кислот, аскорбиновой кислоты, флавоноидов, дубильных веществ и полисахаридов в плодах при хранении в замороженном и высушенном виде. К 12 месяцу хранения в замороженных плодах наблюдалось уменьшение содержания аскорбиновой кислоты и дубильных веществ. В высушенном сырье существенные изменения были отмечены только в отношении содержания аскорбиновой кислоты.

4. Установлены сроки хранения для замороженных плодов боярышника, рябины и шиповника – 9 месяцев, для плодов малины – 6 месяцев.

ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСТРАКЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ СВЕЖЕГО, ЗАМОРОЖЕННОГО И ВЫСУШЕННОГО СЫРЬЯ.

Фармакологическое действие препаратов, полученных из растительного сырья, в отличие от других лекарственных средств, определяется не одним конкретным соединением, а целым комплексом биологически активных веществ. В связи с этим, чаще всего из лекарственного растительного сырья получают суммарные экстракционные препараты: водные и водно-спиртовые извлечения [72, 102].

Нами была рассмотрена возможность использования замороженного ЛРС для получения таких препаратов.

5.1. Разработка оптимальных условий получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов.

Получение водных извлечений из высушенных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины регламентируется общей фармакопейной статьей ГФ XI изд., в.2 «Настои и отвары», а также инструкциями по применению указанных видов ЛРС. Нормативная документация, регламентирующая технологию получения водных экстрактов из свежего и замороженного растительного сырья, в настоящее время отсутствует. В связи с этим нами было проведено исследование по подбору оптимальных условий изготовления водных извлечений из свежих и замороженных плодов.

Для оценки влияния измельченности ЛРС на степень извлечения БАВ из свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, малины и шиповника получали настои из указанных видов сырья согласно инструкциям по применению в соотношении сырье : экстрагент 1 : 20. Плоды использовали в цельном и измельченном до кашицеобразного состояния виде. Степень извлечения БАВ оценивали по значению сухого остатка.

Результаты исследования представлены в таблице 5.1.1.

Сухой остаток водных извлечений из свежих и замороженных плодов в зависимости от измельченности сырья.

Вид ЛРС	Сухой остаток, %			
	Плоды боярышника	Плоды рябины	Плоды малины	Плоды шиповника
Настои из свежих плодов				
Цельные плоды	0,59 ± 0,04	0,38 ± 0,03	0,55 ± 0,03	0,44 ± 0,04
Измельченные плоды	1,03 ± 0,06	0,76 ± 0,04	0,72 ± 0,05	1,12 ± 0,07
Настои из замороженных плодов				
Цельные плоды	0,75 ± 0,05	0,51 ± 0,04	0,57 ± 0,04	0,65 ± 0,05
Измельченные плоды	0,87 ± 0,05	0,70 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,92 ± 0,04

Как видно из таблицы, настои, полученные с использованием измельченных плодов, характеризовались более высокими значениями сухого остатка, чем водные извлечения, полученные из цельного сырья. Вероятно, это связано с гистологической структурой свежих и замороженных плодов.

Официально разрешено получение отваров и настоев из высушенных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины в соотношении сырье : экстрагент 1 : 20 (в соответствии с инструкцией по применению) или 1:10 (согласно фармакопейной методике). Для выбора оптимальной концентрации водных извлечений из свежих и замороженных плодов были получены настои из измельченного ЛРС в соотношении сырье : экстрагент 1: 10 и 1:20. Расчет необходимого объема экстрагента вели с учетом влажности исходных плодов по следующей формуле:

$$X = V_{\text{изв.}} - \frac{m * W}{100}$$

где X – объем экстрагента, мл

$V_{\text{изв}}$ – объем извлечения, мл

m – навеска сырья, г

W – влажность сырья, %.

Результаты исследования представлены в таблице 5.1.2.

Таблица 5.1.2.

Сухой остаток водных извлечений из свежих и замороженных плодов в зависимости от соотношения сырье : экстрагент

Соотношение сырье : экстрагент	Сухой остаток, %			
	Плоды боярышника	Плоды рябины	Плоды малины	Плоды шиповника
Настои из свежих плодов				
1 : 10	2,21 ± 0,07	1,74 ± 0,05	1,80 ± 0,05	2,15 ± 0,06
1 : 20	1,03 ± 0,06	0,76 ± 0,04	0,72 ± 0,05	1,12 ± 0,07
Настои из замороженных плодов				
1 : 10	2,04 ± 0,09	1,46 ± 0,05	1,57 ± 0,07	1,95 ± 0,08
1 : 20	0,87 ± 0,05	0,70 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,92 ± 0,04

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении степени извлечения БАВ из свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины более чем в 2 раза в водных извлечениях, полученных в соотношении сырье : экстрагент 1 : 10.

С целью определения оптимального режима экстрагирования были получены настои и отвары из измельченных свежих и замороженных плодов исследуемых видов лекарственных растений в соотношении сырье : экстрагент 1 : 10. Степень извлечения БАВ определяли по сухому остатку.

Полученные результаты представлены в таблице 5.1.3.

Сухой остаток в отварах и настоях из свежего и замороженного
растительного сырья.

Вид извлечения	Сухой остаток, %			
	Плоды боярышника	Плоды рябины	Плоды малины	Плоды шиповника
Извлечения из свежих плодов				
Настой	2,21 ± 0,07	1,74 ± 0,05	1,80 ± 0,05	2,15 ± 0,06
Отвар	3,32 ± 0,11	2,55 ± 0,08	2,02 ± 0,08	3,01 ± 0,12
Извлечения из замороженных плодов				
Настой	2,04 ± 0,09	1,46 ± 0,05	1,57 ± 0,07	1,95 ± 0,08
Отвар	3,18 ± 0,10	2,42 ± 0,10	1,83 ± 0,05	2,87 ± 0,09

Установлено, что сухой остаток в отварах из свежих и замороженных плодов боярышника, рябины и шиповника более чем в 1,5 раза превышал таковой в настоях из данных видов сырья. Отвары и настои из свежих и замороженных плодов малины по значению сухого остатка различались незначительно.

Таким образом, в ходе исследования нами были подобраны оптимальные условия получения водных извлечений из свежего и замороженного ЛРС.

Методика получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, шиповника. Около 30 г измельченных до кашицеобразного состояния свежих плодов (в случае использования замороженных плодов необходимо провести предварительное размораживание при комнатной температуре в течении 2 – 3 ч) заливают заранее рассчитанным (с учетом влажности сырья) объемом воды очищенной. Настаивают в инфундирном стакане на кипящей водяной бане при частом перемешивании в течение 30 минут, затем при комнатной температуре 10 минут. Полученное извлечение фильтруют (отжимая растительное сырье) и доводят водой до требуемого объема.

Методика получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов малины. Около 30 г измельченных до кашицеобразного состояния свежих или замороженных (после предварительной разморозки) плодов заливают заранее рассчитанным (с учетом влажности сырья) объемом воды очищенной. Настаивают в инфундирном стакане на кипящей водяной бане при частом перемешивании в течение 15 минут, затем при комнатной температуре 45 минут. Фильтруют (отжимая растительное сырье) и доводят водой до требуемого объема.

5.2. Характеристика водных извлечений из плодов боярышника, рябины, малины и шиповника.

Для исследования были получены отвары из свежих и замороженных плодов боярышника, рябины и шиповника, а также настои из плодов малины в соответствии с ранее описанными методиками.

Изготовление водных извлечений из высушенных плодов проводили по фармакопейной методике в соотношении сырье - экстрагент 1 : 10 из измельченного сырья [2,3].

В процессе изготовления водных извлечений из высушенного лекарственного растительного сырья необходимо учитывать его водопоглотительную способность. Любое растительное сырье, тем более измельченное, обладает свойством поглощать определенное количество воды, которое из сырья нельзя вернуть даже путем выжимания. Разные виды сырья различаются по степени удерживания воды и поэтому имеют разные коэффициенты водопоглощения.

Экспериментально установленные коэффициенты водопоглощения для высушенных образцов сырья представлены в таблице 5.2.1.

Коэффициенты водопоглощения для исследуемых видов высушенного лекарственного растительного сырья.

Вид сырья	Плоды боярышника	Плоды рябины	Плоды малины	Плоды шиповника
Кв, мл/г	$2,63 \pm 0,02$	$1,23 \pm 0,01$	$1,69 \pm 0,04$	$1,10 \pm 0,02$

В полученных отварах и настоях определяли органолептические характеристики (цвет, прозрачность, запах, вкус, pH). Результаты определения представлены в таблице 5.2.2.

Полученные извлечения представляли собой окрашенные прозрачные или слабо опалесцирующие жидкости со специфическим запахом, кисло-сладким вкусом и кислой реакцией среды.

5.3. Количественное содержание биологически активных веществ в водных извлечениях из плодов, подвергнутых консервации.

На сегодняшний день в нормативной документации на настои и отвары отсутствуют требования стандартизации водных извлечений по количественному содержанию БАВ. Однако данный показатель чрезвычайно важен для анализа качества экстракционных препаратов, поскольку именно сумма БАВ, перешедшая в извлечение из лекарственного растительного сырья, определяет основное фармакологическое действие указанной лекарственной формы.

В связи с этим нами была проведена количественная оценка содержания органических кислот, аскорбиновой кислоты, флавоноидов, дубильных веществ и полисахаридов в исследуемых отварах и настоях. Также водные извлечения анализировали по общей сумме БАВ, которую характеризует сухой остаток.

Таблица 5.2.2.

Органолептические характеристики водных извлечений

	Вид сырья	Цвет	Прозрачность	Запах	Вкус	pH
Отвары из плодов боярышника	Свежее	Золотисто-желтый	Прозрачный	Специфический	Сладковатый, вяжущий	3,85
	Замороженное	Светло-желтый	Прозрачный	Специфический	Сладковатый	4,05
	Высушенное	Красно-оранжевый	Со слабой опалесценцией	Специфический	Сладковатый	4,22
Отвары из плодов рябины	Свежее	Оранжевый	Со слабой опалесценцией	Специфический	Горьковато-кислый	3,48
	Замороженное	Оранжевый	Прозрачный	Специфический	Горьковатый	3,45
	Высушенное	Ярко-оранжевый	Прозрачный	Специфический	Горьковатый	3,54
Настои из плодов малины	Свежее	Темно-красный	Прозрачный	Специфический	Кисло-сладкий	3,27
	Замороженное	Темно-красный	Прозрачный	Специфический	Кислый	3,41
	Высушенное	Красный	Прозрачный	Специфический	Кисло-сладкий	3,63
Отвары из плодов шиповника	Свежее	Темно-красный	Со слабой опалесценцией	Специфический	Кисло-сладкий	3,53
	Замороженное	Красный	Со слабой опалесценцией	Специфический	Кисло-сладкий	3,51
	высушенное	Темно-красный	Прозрачный	Специфический	Кисло-сладкий	3,79

Сухой остаток представляет собой сумму веществ, извлекаемых из сырья водой, и может характеризовать содержание гидрофильной фракции биологически активных веществ в водных извлечениях.

Определение сухого остатка настоев и отваров проводили по методике, изложенной в статье ГФ XI издания «Настойки». 5 мл извлечения помещали в предварительно высушенный и взвешенный бюкс. Извлечение выпаривали на водяной бане досуха и помещали в сушильный шкаф при температуре 95-100 °С на 2 ч. Затем бюкс охлаждали в эксикаторе в течение 30 минут и взвешивали.

Сухой остаток определяли по формуле:

$$X = \frac{(m_{62} - m_6) \cdot 100}{m_{61} - m_6}$$

где m_6 – масса пустого бюкса, в граммах;

m_{61} – масса бюкса с навеской до прокаливания, в граммах;

m_{62} – масса бюкса с навеской после прокаливания.

Результаты определения сухого остатка представлены в таблице 5.3.1.

Все водные извлечения, полученные из свежего сырья, характеризовались большим значением сухого остатка, по сравнению с отварами и настоями из плодов, подвергнутых консервации. В извлечениях из замороженного сырья значение данного показателя было снижено в среднем на 6,7%, а в извлечениях из высушенного сырья – на 13,5%.

Таблица 5.3.1.

Результаты определения сухого остатка водных извлечений

Вид сырья	Сухой остаток, %			
	Отвар из плодов боярышника	Отвар из плодов рябины	Настой из плодов малины	Отвар из плодов шиповника
Свежее сырье	3,32 ± 0,11	2,55 ± 0,08	1,80 ± 0,05	3,01 ± 0,12
Замороженное сырье	3,18 ± 0,10	2,42 ± 0,10	1,57 ± 0,07	2,87 ± 0,09
Высушенное сырье	2,80 ± 0,07	1,58 ± 0,08	1,50 ± 0,05	2,71 ± 0,11

Метрологические характеристики определения сухого остатка представлены в таблице 5.3.2. Как видно из таблицы относительная ошибка определения не превышала 4,5%.

Таблица 5.3.2.

Метрологические характеристики определения сухого остатка водных извлечений

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	3,32	95	2,45	0,1190	0,0449	0,11	3,31
	Замороженное	3,18	95	2,45	0,1081	0,0408	0,10	3,14
	Высушенное	2,80	95	2,45	0,0734	0,0277	0,07	2,50
Отвары из плодов рябины	Свежее	2,55	95	2,45	0,0842	0,0318	0,08	3,14
	Замороженное	2,42	95	2,45	0,0758	0,0286	0,10	4,13
	Высушенное	2,24	95	2,45	0,0811	0,0306	0,08	3,57
Настои из плодов малины	Свежее	1,80	95	2,45	0,0562	0,0212	0,05	2,78
	Замороженное	1,57	95	2,45	0,0723	0,0273	0,07	4,46
	Высушенное	1,50	95	2,45	0,0485	0,0183	0,05	3,33
Отвары из плодов шиповника	Свежее	3,01	95	2,45	0,1261	0,0476	0,12	3,87
	Замороженное	2,87	95	2,45	0,0973	0,0367	0,09	3,14
	высушенное	2,71	95	2,45	0,1267	0,0478	0,11	4,06

Количественное определение свободных органических кислот и аскорбиновой кислоты в водных извлечениях, как и в сырье, проводили методом кулонометрического титрования.

Методика количественного определения суммы органических кислот в водных извлечениях. 0,5 мл извлечения вносят в кулонометрическую ячейку, заполненную фоновым электролитом – водным раствором сульфата калия, и проводили измерение с помощью кулонометрического титратора.

Содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в процентах (X) рассчитывали по следующей формуле:

$$X = \frac{m \cdot 10^{-6} \cdot V \cdot 100}{Va \times a}$$

где V – объем полученного водного извлечения, мл

Va – объем извлечения, вводимого в кулонометрическую ячейку, мл

m – количество органических кислот, полученное при измерении, мкг

a – масса полученного водного извлечения, г.

Методика количественного определения аскорбиновой кислоты в водных извлечениях. 5,0 мл извлечения (0,5 мл извлечения из плодов шиповника) вносят в кулонометрическую ячейку, заполненную электролитом – 0,1 М раствором KI в хлороводородном буферном растворе (рН = 1,2) и проводят измерение с помощью кулонометрического титратора.

Содержание аскорбиновой кислоты в процентах (X) рассчитывают по следующей формуле:

$$X = \frac{m \times 10^{-6} \cdot V \cdot 100}{Va \times a}$$

где V – объем полученного извлечения, мл

Va – объем извлечения, вводимого в кулонометрическую ячейку, мл

m – количество аскорбиновой кислоты, полученное при измерении, мкг

a – масса полученного водного извлечения, г.

Полученные экспериментальные данные по содержанию свободных органических кислот и аскорбиновой кислоты в отварах и настоях представлены в таблицах 5.3.3. и 5.3.4. соответственно.

Установлено, что в отварах из свежих и замороженных плодов рябины и боярышника содержание органических кислот было в 2 – 2,5 раза выше, чем в извлечениях из высушенных плодов. Водные извлечения из свежих и замороженных плодов малины и шиповника также характеризовались большим содержанием указанной группы БАВ по сравнению с настоями и отварами из высушенного сырья.

По количественному содержанию аскорбиновой кислоты водные извлечения из высушенного сырья значительно уступали отварам и настоям из свежих и замороженных плодов.

Таблица 5.3.3.

Результаты определения суммы свободных органических кислот в водных извлечениях.

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	0,207	95	2,45	0,0032	0,0012	0,003	1,45
	Замороженное	0,184	95	2,45	0,0005	0,0002	0,004	2,17
	Высушенное	0,073	95	2,45	0,0019	0,0007	0,002	2,74
Отвары из плодов рябины	Свежее	0,435	95	2,45	0,0051	0,0019	0,005	1,15
	Замороженное	0,422	95	2,45	0,0032	0,0012	0,003	0,71
	Высушенное	0,220	95	2,45	0,0027	0,0010	0,003	1,36
Настои из плодов малины	Свежее	0,573	95	2,45	0,0017	0,0007	0,002	3,49
	Замороженное	0,452	95	2,45	0,0015	0,0006	0,001	0,22
	Высушенное	0,418	95	2,45	0,0029	0,0011	0,003	0,72
Отвары из плодов шиповника	Свежее	0,186	95	2,45	0,0029	0,0011	0,003	1,61
	Замороженное	0,207	95	2,45	0,0016	0,0006	0,002	1,00
	высушенное	0,136	95	2,45	0,0025	0,0009	0,002	1,47

Результаты определения содержания аскорбиновой кислоты в водных извлечениях.

Вид сырья		X, мг/100 г	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	4,43	95	2,45	0,0757	0,0286	0,07	1,58
	Замороженное	4,10	95	2,45	0,0973	0,0367	0,10	2,44
	Высушенное	2,31	95	2,45	0,0487	0,0183	0,05	2,16
Отвары из плодов рябины	Свежее	26,30	95	2,45	0,0844	0,0318	0,08	0,30
	Замороженное	23,52	95	2,45	0,0498	0,0188	0,05	0,21
	Высушенное	6,72	95	2,45	0,0736	0,0278	0,07	1,04
Настои из плодов малины	Свежее	9,42	95	2,45	0,0260	0,0098	0,02	2,12
	Замороженное	8,35	95	2,45	0,0454	0,0171	0,04	0,48
	Высушенное	0,91	95	2,45	0,0822	0,0310	0,08	8,79
Отвары из плодов шиповника	Свежее	94,14	95	2,45	0,030	0,0114	0,30	0,32
	Замороженное	88,37	95	2,45	0,1298	0,0490	0,12	0,14
	высушенное	37,19	95	2,45	0,1590	0,0600	0,15	0,40

Стандартизацию отваров и настоев из свежих, замороженных и высушенных плодов по сумме флавоноидов проводили по следующим методикам.

Методика определения суммы флавоноидов в водных извлечениях плодов боярышника и плодах рябины. 5 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 6 мл раствора алюминия хлорида, и на 3 минуты помещают в кипящую водяную баню. После чего колбу быстро охлаждают, прибавляют 2 мл буферного раствора с рН 4,0 и доводят водой очищенной до метки.

Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм,

используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 5 мл извлечения, 2 мл буферного раствора с рН 4,0, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный водой до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл СО рутина, обработанного аналогично испытуемому раствору, начиная со слов «...помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл...», используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 1 мл СО рутина и 2 мл буферного раствора с рН 4,0, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный водой до метки.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на рутин в водных извлечениях, в процентах, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 0,00002 \cdot 5 \cdot 100}{D_0 \cdot a}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

0,00002 – содержание рутина в 1 мл раствора СО;

a – количество водного извлечения, взятого для анализа, г

Приготовление раствора СО рутина: около 0,05 г рутина, предварительно высушенного при температуре от 130 до 135 °С в течение 3 ч, растворяют в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на кипящей водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Приготовление раствора алюминия хлорида: 2 г алюминия хлорида (ГОСТ 3759-75) растворяют в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Приготовление буферного раствора с рН 4,0: 10 мл 1М раствора натрия едкого помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 57 мл

раствора уксусной кислоты, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Методика определения суммы флавоноидов в водных извлечениях плодов шиповника. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл извлечения, 1 мл водного раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора водой очищенной до метки. Через 40 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл извлечения, 1 капли разведенной уксусной кислоты и доведенный водой очищенной до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного образца рутина, приготовленного аналогично испытуемому раствору.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в отварах из плодов шиповника в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 0,00002 \cdot 5 \cdot 100}{D_0 \cdot a}$$

где D – оптическая плотность испытуемого образца;

D₀ – оптическая плотность раствора РСО рутина;

0,00002 – содержание рутина в 1 мл раствора РСО;

a – масса отвара, г.

Методика определения суммы антоцианов в настоях плодов малины. 5 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, приливают 12,5 мл 2% раствора хлористоводородной кислоты и доводят объем раствора водой очищенной до метки. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В

качестве раствора сравнения используют 1% раствор хлористоводородной кислоты.

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3,5-диглюкозид в водных извлечениях в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 5 \cdot 100}{453 \cdot a}$$

где D - оптическая плотность испытуемого раствора;

453 - удельный показатель поглощения цианидин-3,5-диглюкозида в 1%растворе хлористоводородной кислоты;

a - масса настоя в граммах.

Результаты определения содержания флавоноидов в отварах и настоях из свежих, замороженных и высушенных плодов представлены в таблице 5.3.4.

В ходе исследования установлено, что по содержанию суммы флавоноидов отвары из свежего сырья и плодов, подвергнутых консервации, различаются незначительно. В то же время количество антоцианов в настоях из высушенных плодов малины было снижено почти в 3 раз.

Таблица 5.3.4.

Метрологические характеристики определения содержания флавоноидов в водных извлечениях.

Вид сырья		X, мг/100 г	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	3,05	95	2,45	0,0487	0,0184	0,05	1,64
	Замороженное	3,02	95	2,45	0,0736	0,0278	0,07	2,32
	Высушенное	3,01	95	2,45	0,0681	0,0257	0,06	1,99
Отвары из плодов рябины	Свежее	9,68	95	2,45	0,0346	0,0130	0,03	0,31
	Замороженное	9,27	95	2,45	0,0162	0,0061	0,02	0,22
	Высушенное	8,87	95	2,45	0,0216	0,0081	0,02	0,23

Настои из плодов малины*	Свежее	9,38	95	2,45	0,0973	0,0367	0,10	1,07
	Замороженное	9,14	95	2,45	0,0941	0,0355	0,09	0,98
	Высушенное	3,81	95	2,45	0,0184	0,0069	0,02	0,52
Отвары из плодов шиповника	Свежее	5,08	95	2,45	0,0151	0,0057	0,01	0,19
	Замороженное	4,92	95	2,45	0,0280	0,0114	0,03	0,61
	высушенное	4,88	95	2,45	0,0465	0,0176	0,04	0,82

*представлены результаты определения антоцианов

В основе определения дубильных веществ в отварах и настоях из плодов боярышника лежит методика ГФ XI издания – окислительно-восстановительное титрование перманганатом калия.

Методика. 25 мл водного извлечения помещают в колбу вместимостью 750 мл, прибавляют 500 мл воды очищенной и 25 мл раствора индигосульфокислоты. Титруют раствором перманганата калия (0,02 моль/л) при постоянном перемешивании до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт: к 25 мл раствора индигосульфокислоты прибавляют 500 мл воды и титруют перманганатом калия.

Определение содержания дубильных веществ (X) в процентах рассчитывают согласно формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot Viz \cdot 100}{V_a \cdot a}$$

где V – объем раствора перманганата калия (0,02 моль/л), израсходованного на титрование извлечения, в миллилитрах;

V₁ – объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование в контрольном опыте, в миллилитрах;

0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора перманганата калия (0,02 моль/л), в граммах;

V_a – объем извлечения, взятого для титрования, в мл,

$V_{из}$ – объем исходного извлечения, мл;

a – масса извлечения, г.

Результаты титрования представлены в таблице 5.3.5.

Таблица 5.3.5.

Содержание дубильных веществ в водных извлечениях.

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %	
Отвары из плодов боярышника	Свежее	0,120	95	2,45	0,0038	0,0014	0,004	3,33
	Замороженное	0,118	95	2,45	0,0063	0,0024	0,006	5,08
	Высушенное	0,112	95	2,45	0,0029	0,0011	0,003	2,67
Отвары из плодов рябины	Свежее	0,332	95	2,45	0,0050	0,0019	0,005	1,51
	Замороженное	0,246	95	2,45	0,0036	0,0013	0,003	1,22
	Высушенное	0,208	95	2,45	0,0057	0,0022	0,005	2,40
Настои из плодов малины	Свежее	0,452	95	2,45	0,0062	0,0023	0,006	1,33
	Замороженное	0,408	95	2,45	0,0050	0,0019	0,005	1,22
	Высушенное	0,362	95	2,45	0,0091	0,0034	0,008	2,21
Отвары из плодов шиповника	Свежее	0,369	95	2,45	0,0123	0,0047	0,011	2,98
	Замороженное	0,293	95	2,45	0,0061	0,0023	0,006	2,05
	высушенное	0,244	95	2,45	0,0084	0,0032	0,008	3,28

Из полученных данных можно сделать вывод, что способ консервации исходного сырья не оказывает существенного влияния на содержание дубильных веществ в водных извлечениях. При этом стоит отметить, что настои из плодов малины характеризовались большими количествами указанных БАВ, чем водные

извлечения из других видов сырья. Вероятно, это связано с более щадящим температурным режимом изготовления настоев, по сравнению с отварами.

Для анализа содержания полисахаридов в отварах и настоях использовалась модифицированная методика гравиметрического определения полисахаридов в сырье.

Методика. 100 мл водного извлечения центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течение 10 минут и декантируют в мерную колбу вместимостью 250 мл через 5 слоев марли, вложенную в стеклянную воронку диаметром 55 мм и предварительно промытую водой очищенной. Фильтр промывают водой очищенной и доводят объем раствора до метки. 25 мл полученного раствора помещают в центрифужную пробирку, прибавляют 75 мл 95% спирта, перемешивают и на 5 минут помещают в водяную баню. Через час содержимое центрифугируют с частотой вращения 5000 об/мин в течении 30 минут. Надосадочную жидкость фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 13-16 кПа через высушенный до постоянной массы при температуре 100-105 °С стеклянный фильтр ПОР 16 диаметром 40 мм. Осадок количественно переносят на фильтр и последовательно промывают 15 мл раствора 95% спирта в воде (3:1), 10 мл ацетона, 10 мл этилацетата. Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100-105 °С до постоянной массы. Расчет содержания полисахаридов в отварах и настоях проводят по формуле:

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot V \cdot 100}{25}$$

где m_1 – масса фильтра, в граммах;

m_2 – масса фильтра с осадком, в граммах;

V – объем полученного извлечения, в мл,

a – масса водного извлечения, г.

Результаты представлены в таблице 5.3.6.

Содержание полисахаридов в водных извлечениях.

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S _x	ΔX	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	0,46	95	2,78	0,0160	0,0007	0,02	4,35
	Замороженное	0,32	95	2,78	0,0225	0,0100	0,03	9,38
	Высушенное	0,30	95	2,78	0,0137	0,0006	0,02	6,67
Отвары из плодов рябины	Свежее	0,58	95	2,78	0,0217	0,0097	0,03	5,17
	Замороженное	0,42	95	2,78	0,0350	0,0157	0,04	9,52
	Высушенное	0,45	95	2,78	0,0137	0,0006	0,02	4,44
Настои из плодов малины	Свежее	0,51	95	2,78	0,0257	0,0097	0,03	5,88
	Замороженное	0,46	95	2,78	0,0209	0,0079	0,02	4,35
	Высушенное	0,48	95	2,78	0,0193	0,0086	0,02	4,17
Отвары из плодов шиповника	Свежее	1,07	95	2,78	0,0378	0,0169	0,05	4,67
	Замороженное	0,98	95	2,78	0,0458	0,0205	0,06	6,12
	высушенное	0,94	95	2,78	0,0470	0,0169	0,05	5,32

Установлено, что содержание полисахаридов в водных извлечениях из замороженных и высушенных плодов практически не различалось. Отвары из свежих плодов боярышника и рябины характеризовались более высоким содержанием полисахаридов, чем водные извлечения из указанных видов сырья, подвергнутых консервации.

5.4. Анализ водно-спиртовых экстракционных препаратов из плодов боярышника.

Сравнительное изучение водно-спиртовых извлечений, полученных с использованием свежего, замороженного и высушенного сырья, проводили на примере настойки и жидкого экстракта из плодов боярышника, поскольку данные

экстракционные препараты включены в Реестр лекарственных средств и официально разрешены к медицинскому применению [44].

Изготовление настоек проводили согласно фармакопейной статье ГФ XI изд., в.2 «Настойки» из измельченного сырья, в соотношении сырье – экстрагент 1 : 5 методом дробной мацерации. В качестве экстрагента был выбран этиловый спирт 70% концентрации для извлечений из высушенного сырья и 85% концентрации для извлечений из свежего и замороженного сырья. Концентрация спирта при изготовлении настоек из свежих и замороженных плодов была подобрана с учетом высокой влажности данного растительного сырья и особенностей его гистологической структуры.

Жидкие экстракты из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника получали методом реперколяции в соотношении сырья и экстрагента 1:1. Концентрация этилового спирта подбиралась по такому же принципу, как и в настойках. Метод реперколяции был выбран не случайно. Главным его достоинством является получение нативного комплекса биологических активных веществ без выпаривания или с частичным выпариванием. С учетом высокого содержания в плодах боярышника фенольных соединений, легко окисляющихся при нагревании, использование данного способа экстрагирования предпочтительнее классической перколяции. Кроме этого, разделение растительного сырья на части и применение батареи перколяторов способствует интенсификации процесса извлечения действующих веществ.

Стандартизацию полученных извлечений проводили по следующим показателям: цвет, рН, сухой остаток, содержание действующих веществ. В исследовании использовали методики, приведенные ранее для водных извлечений.

Полученные результаты представлены в таблице 5.4.1.

Как видно из данных таблицы, полученные настойки и экстракты представляли собой окрашенные жидкости со слабо кислой реакцией среды. Сухой остаток в экстрактах почти в 5 раз превышал значение указанного показателя в настойках. Данное явление объясняется различным соотношением

Таблица 5.4.1

Характеристика водно-спиртовых извлечений из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника.

Показатели качества	Настойки			Экстракты		
	Свежее сырье	Замороженное сырье	Высушенное сырье	Свежее сырье	Замороженное сырье	Высушенное сырье
Цвет	Красно-оранжевый	Красно-оранжевый	Темно-красный	Темно-красный	Красно-оранжевый	Темно-красный
рН	5,23	5,32	5,27	4,44	4,71	5,03
Сухой остаток, %	5,67±0,12	5,51±0,10	5,78±0,14	25,43±0,24	25,17±0,14	21,57±0,23
Сумма органических кислот, %	0,53±0,03	0,42±0,02	0,29±0,02	1,53±0,02	1,42±0,01	0,63±0,02
Аскорбиновая кислота, мг/100г	15,13±0,03	18,02±0,01	6,47±0,01	42,31±0,03	47,29±0,05	12,72±0,04
Сумма флавоноидов, мг/100г	11,74±0,07	10,14±0,03	8,03±0,06	62,02±0,02	57,12±0,04	49,31±0,02
Дубильные вещества, %	0,35±0,02	0,31±0,03	0,22±0,02	1,07±0,04	0,93±0,05	0,55±0,02
Полисахариды, %	0,22±0,07	0,25±0,05	0,39±0,10	0,58±0,12	0,44±0,10	0,84±0,11

сырья и экстрагента при изготовлении водно-спиртовых извлечений. При этом все изучаемые экстракционные препараты удовлетворяли требованиям нормативной документации по данному показателю: для настоек – не менее 1%, для экстрактов – не менее 18%.

В результате количественного определения содержания действующих веществ в изучаемых объектах установлено следующее. Извлечения из свежих и замороженных плодов боярышника характеризовались большим содержанием органических кислот, аскорбиновой кислоты и дубильных веществ, чем экстракционные препараты из высушенного сырья. Указанная тенденция прослеживалась как в настойках, так и в экстрактах.

По количественному содержанию флавоноидов настойки отличались незначительно, тогда как в экстрактах из высушенных плодов данный показатель был ниже, чем в экстрактах из свежего и замороженного сырья.

В то же время полисахаридная фракция в настойках и экстрактах из высушенных плодов боярышника была значительно выше. Вероятно, такие различия связаны с разной концентрацией спирта, используемого в качестве экстрагента при изготовлении извлечений из свежего, замороженного и высушенного сырья.

Руководствуясь экспериментально полученными данными, можно сделать вывод, что доминирующими группами биологически активных веществ в водно-спиртовых извлечениях из плодов боярышника являются дубильные вещества и органические кислоты. Но стандартизацию сырья и препаратов из плодов боярышника проводят по содержанию суммы флавоноидов, которых в количественном соотношении намного меньше, чем других действующих веществ. Такое несоответствие объясняется высокой фармакологической активностью флавоноидов, которые даже в столь низких количествах определяют основное терапевтическое и фармакологическое действие сырья и лекарственных препаратов боярышника.

5.5. Изучение химического состава настоек матричных гомеопатических из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника.

С целью изучения возможности использования лекарственного растительного сырья, подвергнутого консервации, для изготовления гомеопатических препаратов, нами были получены и исследованы настойки матричные гомеопатические из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника сглаженного.

Изготовление матричных настоек из свежего и замороженного сырья проводили по методу 2 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные» с использованием в качестве экстрагента 90% (об.) этилового спирта. Настойку из высушенных плодов получали по методу 4 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные», в качестве экстрагента использовали 70% (об.) этиловый спирт.

В исследуемых объектах определяли рН, плотность, сухой остаток по методикам ГФ XI изд. Установлено, что указанные показатели в настойках из свежих и замороженных плодов боярышника практически не различались. Матричная настойка из высушенного сырья характеризовалась более высокой реакцией среды (4,32), а также сниженным в 1,5 раза значением сухого остатка, по сравнению с матричной настойкой из свежего сырья.

Результаты определения приведены в таблице 5.5.1.

Таблица 5.5.1.

Показатели качества настоек матричных гомеопатических

Объекты исследования	рН	Плотность, г/мл	Сухой остаток, %
Настойка матричная из свежих плодов	3,04	0,965	8,15 ± 0,14
Настойка матричная из замороженных плодов	3,11	0,961	7,92 ± 0,10
Настойка матричная из высушенных плодов	4,32	0,948	5,62 ± 0,11

Путем ТСХ-анализа, проведенного по методикам, описанным ранее, во всех исследуемых настойках идентифицированы гиперозид, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, галловая кислота, яблочная кислота и лимонная кислота. Зоны адсорбции гиперозида, хлорогеновой и яблочной кислот на хроматограммах настоек из высушенных плодов боярышника были менее интенсивными, чем на хроматограммах матричных настоек из свежего и замороженного сырья.

Оценку количественного содержания основных групп БАВ (органических кислот, аскорбиновой кислоты, флавоноидов, дубильных веществ и полисахаридов) в матричных настойках проводили по вышеописанным методикам для анализа водных и водно-спиртовых извлечений. Результаты исследования представлены в таблице 5.5.2.

Как видно из данных таблицы, матричная настойка из высушенных плодов по содержанию всех изучаемых групп БАВ значительно уступала настойке из свежего сырья. При этом нельзя с уверенностью утверждать, что данные различия связаны именно с качеством и свойствами высушенного растительного сырья. Вполне возможно, что сниженное содержание действующих веществ в гомеопатической настойке из высушенных плодов боярышника объясняется различиями в технологии получения матричных настоек из свежего и замороженного сырья (соотношение сырье-экстрагент для настоек из свежего сырья составляет 1:2, а из высушенного – 1:10).

Матричные настойки из замороженных плодов боярышника по содержанию органических кислот, аскорбиновой кислоты, дубильных веществ, флавоноидов и полисахаридов практически не отличались от настоек из свежего сырья. Это говорит о возможности использования замороженных плодов боярышника в качестве альтернативы свежему сырью при изготовлении настойки матричной гомеопатической.

Количественное содержание БАВ в настойках матричных гомеопатических.

Объекты исследования	Органические кислоты, %	Аскорбиновая кислота, мг/100г	Флавоноиды, мг/100г	Дубильные вещества, %	Полисахариды, %
Настойка матричная из свежих плодов	0,450±0,006	23,17±0,05	15,40±0,04	0,48±0,03	0,43±0,05
Настойка матричная из замороженных плодов	0,402±0,004	21,09±0,02	13,74±0,02	0,46±0,02	0,46±0,03
Настойка матричная из высушенных плодов	0,107±0,003	4,21±0,03	7,23±0,02	0,14±0,02	0,23±0,05

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5.

1. Подобраны оптимальные условия получения водных извлечений из свежего и замороженного растительного сырья. Установлено, что наиболее целесообразно из свежих и замороженных плодов боярышника, шиповника и рябины получать отвары в соотношении сырье : экстрагент 1 : 10 из измельченного сырья. Водные извлечения из свежих и замороженных плодов малины следует изготавливать в форме настоя.

2. Установлено, что по органолептическим характеристикам водные извлечения из свежего и замороженного сырья не уступают извлечениям из высушенных плодов.

3. Определено содержание флавоноидов, дубильных веществ, полисахаридов в полученных отварах и настоях. Показано, что по указанным группам БАВ водные извлечения из свежего сырья и плодов, подвергнутых консервации, различались незначительно.

4. Проведено количественное определение содержания органических кислот и аскорбиновой кислоты в водных извлечениях. Исследуемые отвары и настои, полученные из свежего и замороженного сырья, характеризовались большими количествами органических кислот и аскорбиновой кислоты, чем извлечения из высушенных плодов.

5. Проведена сравнительная характеристика водно-спиртовых извлечений (настойка, жидкий экстракт) из плодов боярышника различными способами консервации. Установлено, что доминирующими группами БАВ в водно-спиртовых извлечениях из плодов боярышника являются дубильные вещества и органические кислоты.

6. Изучено влияние способа консервации исходного сырья на качество водно-спиртовых экстракционных препаратов из плодов боярышника. Установлено, что по органолептическим характеристикам и содержанию изучаемых групп БАВ настойки и экстракты из свежих и замороженных плодов отличаются незначительно. Извлечения из высушенных плодов

характеризовались сниженным содержанием органических кислот, аскорбиновой кислоты и дубильных веществ. В то же время по содержанию полисахаридов настойки и экстракты из высушенного сырья в 1,5 раза превосходили извлечения из свежих и замороженных плодов.

7. Показана возможность использования замороженного сырья для изготовления настоек матричных гомеопатических из плодов боярышника. Установлена идентичность качественного и количественного состава матричных настоек из свежих и замороженных плодов боярышника по изучаемым группам БАВ.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. В ходе информационно-аналитического исследования установлено, что наряду с сушкой перспективным методом консервации свежего ЛРС является замораживание. Выбор способа консервации для каждого конкретного вида сырья требует индивидуального подхода, и должен быть основан на экспериментальных исследованиях.

2. Методом ТСХ установлено наличие в свежих, замороженных и высушенных плодах боярышника, шиповника, рябины и малины органических кислот, флавоноидов, фенолкарбоновых кислот. Во всех исследуемых объектах обнаружены яблочная, лимонная, аскорбиновая кислоты. Также в плодах рябины идентифицирована сорбиновая кислота, а в плодах малины – янтарная кислота. Из флавоноидов в исследуемых объектах обнаружены рутин, кверцетин (плоды боярышника, рябины, шиповника), гиперозид (плоды боярышника), лютеолин (плоды шиповника). Среди фенолкарбоновых кислот во всех объектах идентифицирована галловая кислота, а также в плодах боярышника – хлорогеновая и кофейная кислоты, в плодах рябины – хлорогеновая кислота, в плодах малины – салициловая и кофейная кислоты. Показано, что способ консервации не изменяет компонентный состав БАВ исследуемых объектов.

3. Проведено определение содержания БАВ в плодах боярышника. Установлено, что в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья содержание свободных органических кислот составляет $2,61 \pm 0,02\%$; $2,57 \pm 0,03\%$; $0,90 \pm 0,02\%$; аскорбиновой кислоты - $0,087 \pm 0,002\%$; $0,072 \pm 0,002\%$; $0,027 \pm 0,001\%$; флавоноидов - $0,192 \pm 0,008\%$; $0,164 \pm 0,006\%$; $0,152 \pm 0,006\%$; дубильных веществ - $2,13 \pm 0,08\%$; $1,78 \pm 0,08\%$; $1,36 \pm 0,06\%$; полисахаридов - $5,69 \pm 0,12\%$; $4,07 \pm 0,08\%$; $3,88 \pm 0,15\%$ (соответственно). Замораживание не влияет на содержание в плодах боярышника свободных органических кислот, но сопровождается снижением количества аскорбиновой кислоты, флавоноидов, дубильных веществ – на 15-17%, а полисахаридов – на 28%. Сушка плодов боярышника приводит к уменьшению содержания аскорбиновой кислоты и органических кислот в среднем на 70% по сравнению со свежим сырьем.

4. Проведено определение содержания БАВ в плодах рябины. Установлено, что в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья содержание свободных органических кислот составляет $5,90 \pm 0,03\%$; $5,78 \pm 0,04\%$; $3,35 \pm 0,03\%$; аскорбиновой кислоты - $0,314 \pm 0,002\%$; $0,292 \pm 0,006\%$; $0,121 \pm 0,003\%$; флавоноидов - $0,242 \pm 0,006\%$; $0,218 \pm 0,009\%$; $0,193 \pm 0,004\%$; дубильных веществ - $4,27 \pm 0,12\%$; $3,66 \pm 0,09\%$; $2,35 \pm 0,07\%$; полисахаридов - $4,43 \pm 0,09\%$; $3,60 \pm 0,10\%$; $3,32 \pm 0,08\%$ (соответственно). При замораживании плодов рябины наблюдается снижение содержания аскорбиновой кислоты и флавоноидов на 7 – 10%, дубильных веществ - на 14%, полисахаридов - на 19%. Высушивание плодов приводит к значительным потерям органических кислот, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты (до 45 – 60%). Содержание флавоноидов и полисахаридов при сушке плодов рябины снижается на 20 – 25%.

5. Проведено определение содержания БАВ в плодах шиповника. Установлено, что в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья содержание свободных органических кислот составляет $4,62 \pm 0,04\%$; $4,77 \pm 0,06\%$; $2,15 \pm 0,03\%$; аскорбиновой кислоты - $1,310 \pm 0,012\%$; $1,162 \pm 0,008\%$; $0,319 \pm 0,006\%$; флавоноидов - $0,207 \pm 0,004\%$; $0,195 \pm 0,005\%$; $0,182 \pm 0,007\%$; дубильных веществ - $7,12 \pm 0,13\%$; $6,41 \pm 0,07\%$; $3,24 \pm 0,08\%$; полисахаридов - $9,32 \pm 0,15\%$; $7,71 \pm 0,16\%$; $7,52 \pm 0,18\%$ (соответственно). В ходе замораживания плодов шиповника наблюдается снижение содержания аскорбиновой кислоты и дубильных веществ на 10%, полисахаридов – на 17%. Содержание органических кислот и флавоноидов при замораживании изменяется незначительно. При сушке плодов шиповника наблюдаются существенные потери аскорбиновой кислоты (до 75%), органических кислот (до 54%) и дубильных веществ (до 55%).

6. Проведено определение содержания БАВ в плодах малины. Установлено, что в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья содержание свободных органических кислот составляет $7,40 \pm 0,04\%$; $6,00 \pm 0,04\%$; $5,38 \pm 0,08\%$; аскорбиновой кислоты - $0,178 \pm 0,005\%$; $0,165 \pm 0,003\%$; $0,015 \pm 0,001\%$; антоцианов - $0,903 \pm 0,011\%$; $0,717 \pm 0,008\%$; $0,094 \pm 0,004\%$; дубильных веществ - $5,06 \pm 0,14\%$; $4,03 \pm 0,09\%$; $2,41 \pm 0,11\%$; полисахаридов -

$6,33 \pm 0,13\%$; $5,28 \pm 0,09\%$; $5,35 \pm 0,14\%$ (соответственно). Замораживание плодов малины приводит к уменьшению содержания органических кислот, антоцианов, дубильных веществ и полисахаридов в среднем на 16 – 20% и аскорбиновой кислоты – на 7%. При сушке количество аскорбиновой кислоты и антоцианов в плодах малины снижается почти на 90%, дубильных веществ - на 52%.

7. Проведено изучение стабильности БАВ в свежем, замороженном и высушенном сырье. Рекомендованы сроки хранения свежих плодов при температуре $+16 - +18^{\circ}\text{C}$ и в холодильной камере ($0 - +1^{\circ}\text{C}$): для плодов боярышника - 2 и 4 суток, для плодов рябины – 3 и 20 суток, для плодов шиповника – 24 ч и 4 суток, для плодов малины – 12 ч и 2 суток (соответственно). Также рекомендованы сроки хранения для замороженных плодов боярышника, рябины и шиповника – 9 месяцев, для плодов малины – 6 месяцев.

8. Показана возможность получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов боярышника, шиповника, рябины и малины. При сравнительном анализе установлено, что по органолептическим характеристикам и содержанию основных групп БАВ водные извлечения из свежего и замороженного сырья не уступают извлечениям из высушенных плодов.

9. Изучено влияние способа консервации исходного сырья на качество водно-спиртовых экстракционных препаратов из плодов боярышника. Показано, что настойки и экстракты из свежих и замороженных плодов по содержанию изучаемых групп БАВ отличаются незначительно. Водно-спиртовые извлечения из высушенных плодов характеризуются сниженным содержанием органических кислот, аскорбиновой кислоты и дубильных веществ. По содержанию полисахаридов настойки и экстракты из высушенного сырья в 1,5 раза превосходят извлечения из свежих и замороженных плодов.

10. Показана возможность использования замороженного сырья для изготовления настоек матричных гомеопатических из плодов боярышника. Установлена идентичность качественного и количественного состава матричных настоек из свежих и замороженных плодов боярышника по изучаемым группам БАВ.

11. На основании полученных экспериментальных данных разработаны проекты инструкций по заготовке и хранению свежих и замороженных плодов боярышника, рябины, шиповника и малины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аббасова, Т. Ю. Антоцианы плодов некоторых видов *Crataegus*L / Т. Ю. Аббасова, Э. Н. Новрузов, Э. И. Мамедов // Химия растительного сырья. – 2012. – № 3. – С. 177 – 180.
2. Аврач, А. С. Анализ плодов боярышника, подвергнутых консервированию различными способами, и их водных экстрактов / А. С. Аврач // Приложение к журналу «Сеченовский вестник»: тезисы итоговой всероссийской научной конференции молодых исследователей с международным участием «Татьянин день». – М., 2011. – С.27.
3. Аврач, А. С. Биологически активные вещества плодов и водных извлечений малины обыкновенной / А. С. Аврач, Е. В. Сергунова, Я. В. Куксова // Фармация. – 2014. - №1. – С. 8 – 10.
4. Аврач, А. С. Изучение биологически активных веществ плодов боярышника – как сырья для приготовления настоек матричных гомеопатических / А. С. Аврач, И. А. Самылина, Е. В. Сергунова // Сборник материалов XXIV Московской международной гомеопатической конференции «Развитие гомеопатического метода в современной медицине». – М., 2014. – С. 146 – 147.
5. Аврач, А. С. Изучение состава органических кислот плодов рябины обыкновенной различными способами консервации / А. С. Аврач, И. А. Самылина, Е. В. Сергунова // Сборник научных трудов научно-методической конференции « II Гаммермановские чтения». – Спб., 2014. – С. 14 – 15.
6. Аврач, А. С. Изучение фенольных соединений плодов и настоев малины обыкновенной различными способами консервации / А. С. Аврач, И. А. Самылина, Е. В. Сергунова // Сеченовский вестник. – 2014. - №1 (15). – С. 114 – 115.
7. Аврач, А. С. Перспективы использования замороженного лекарственного растительного сырья в аллопатической медицине и гомеопатии / А. С. Аврач, И. А. Самылина, Е. В. Сергунова // «Инновационные процессы в лекарствоведении»: сборник научных трудов. – Ярославль, 2012. – С.5 – 10.

8. Аврач, А. С. Тонкослойная хроматография в анализе плодов лекарственных растений семейства Розоцветные / А. С. Аврач, Е. В. Сергунова, И. А. Самылина // Фармация. – 2014. - №2. – С. 15 – 18.
9. Аврач, А. С. Хромато-масс-спектрометрическое определение флавоноидов в плодах боярышника / А. С. Аврач, Е. В. Сергунова, И. А. Самылина // Фармация. – 2013. - №3. – С. 14-16.
10. Агапова, Н. М. Совершенствование фармацевтического анализа лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов с помощью гальваностатической кулонометрии: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Агапова Наталья Михайловна. – М., 2011. – С. 24.
11. Анисимова, К. В. Интенсификация безвакуумной сублимационной сушки плодов за счет звукового поля / К. В. Анисимова, О. Б. Поробова, А. Б. Анисимов // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 2. – С.103 - 106.
12. Анисимова, К. В. Математическое моделирование процесса сублимационной сушки плодов в поле ультразвука в потоке инертного газа / К. В. Анисимова, А. П. Ильин, Л. С. Воробьева // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2008. – № 12. – С.62.
13. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения / А. А. Лапин [и др.] // Химия растительного сырья. – 2007. – № 2. – С. 79 – 83.
14. Антоцианы некоторых видов рода *Rubus*L. из коллекции ботанического сада БелГУ / В. Н. Сорокопудов [и др.] // Химия растительного сырья. – 2005. – № 4. – С. 61 – 65.
15. Бакшуттов, С. А. Биологически активные вещества плодов видов рода *Crataegus*L. в условиях Белогорья / С. А. Бакшуттов, В. Н. Сорокопудов, И. А. Навальнева // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2011. - № 9(104), вып.15/2. – С. 268 – 272.
16. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3-х т. / Под ред. Б.Н. Головкина. – М.: Наука, 2001. – Т 1. – 368 с.

17. Ботанико - фармакогностический словарь: справ. пособие / Под ред. К. Ф. Блиновой. – М.: Высшая школа, 1990. – 272 с.
18. Галимова, Д. Ф. Изучение полифенольных соединений рябины обыкновенной флоры Башкортостана / Д. Ф. Галимова, Г. М. Латыпова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т.13, № 5(3). – С. 33 – 35.
19. Галимова, Д. Ф. Изучение состава органических кислот рябины обыкновенной флоры Башкортостана / Д. Ф. Галимова [и др.] // Традиционная медицина. – 2011. – № 5(28). – С. 177 – 180.
20. Гаммерман, А. Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР / А. Ф. Гаммерман, И. И. Гром. – М.: Медицина, 1976. – 288 с.
21. Георгиевский В. П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комиссаренко, С. Е. Дмитрук. – Новосибирск: «Наука», 1990. – 333 с.
22. Голуб, О. В. Товароведная характеристика ягод крыжовника / О. В. Голуб, И. Н. Ковалевская, Т. С. Габерман // Техника и технология пищевых производств. – 2010. – №2 (17). – С. 73 – 77.
23. Гончаров, Н. Ф. Сравнительное изучение гидроксикоричных кислот и флавоноидных соединений плодов некоторых видов рода *Crataegus*L/ Н. Ф. Гончаров // Кубанский научный медицинский вестник. – 2008. – № 5(104). – С. 49 – 51.
24. ГОСТ 17594-81. Лист лавровый сухой. Технические условия. [Текст]. – Введ. 1982 – 07 – 01. – М.: Государственный комитет СССР по стандартам, 1982. – 12 с.
25. ГОСТ 19215-73. Клюква свежая. Требования при заготовках, поставках и реализации. [Текст]. – Введ. 1975 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1975. – 7 с.
26. ГОСТ 20450-75. Брусника свежая [Текст]. – Введ. 1975 – 01 – 28. – М.: Изд-во стандартов, 1975. – 8 с.

- 27.ГОСТ 21567-76. Трава майорана. [Текст]. – Введ. 1977 – 07 – 01. – М.: Государственный комитет стандартов совета министров СССР, 1977. – 4 с.
- 28.ГОСТ 21569-76. Корневища и корни дягиля лекарственного. [Текст]. – Введ. 1977 – 04 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1977. – 2 с.
- 29.ГОСТ 21570-76. Трава зубровки. [Текст]. – Введ. 1976 – 02 – 13. – М.: Государственный комитет стандартов совета министров СССР, 1976. – 5 с.
- 30.ГОСТ 28501-90. Фрукты косточковые сушеные. Технические условия. [Текст]. – Введ. 1991 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1991. – 12 с.
- 31.ГОСТ 29046-91. Пряности. Имбирь. Технические условия. [Текст]. – Введ. 1993 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1993. – 6 с.
- 32.ГОСТ 29049-91. Пряности. Корица. Технические условия. [Текст]. – Введ. 1993 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1993. – 7 с.
- 33.ГОСТ 3525-75. Плоды малины [Текст]. – Введ. 1977 – 07 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1977. – 3 с.
- 34.ГОСТ 6714-74. Плоды рябины обыкновенной. [Текст]. – Введ. 1975 – 07 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1975. – 3 с.
- 35.ГОСТ 6882-88. Виноград сушеный. [Текст]. – Введ. 1989 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 7 с.
- 36.ГОСТ Р 50520-93. Земляника. Руководство по хранению в холодильных камерах [Текст]. – Введ. 1994 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1994. – 3 с.
- 37.ГОСТ Р 50521-93. Черника и голубика. Руководство по хранению в холодильных камерах [Текст]. – Введ. 1994 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1994. – 4 с.
- 38.ГОСТ Р 53956–2010. Фрукты быстрозамороженные. Общие технические условия [Текст]. – Введ. 2010 – 11 – 24. – М.: ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 2011. – 20 с.
- 39.ГОСТ Р 54691-2011. Малина и ежевика свежие: технические условия. [Текст]. – Введ. 2013 – 01 – 01. – М.: ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 2013. – 12 с.

40. Гостищев, А. И. Каротиноиды, хлорогеновые кислоты и другие природные соединения плодов рябины / А. И. Гостищев [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2010. – № 3(74), вып.10. – С. 83 – 92.
41. Государственная фармакопея республики Беларусь: т.2. Общие и частные фармакопейные статьи. – Минск, 2007. – 471 с.
42. Государственная фармакопея СССР / Государственное издательство медицинской литературы. - 8-е изд., доп. – М.: Медгиз, 1952. – 822 с.
43. Государственная фармакопея СССР: вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 294 с.
44. Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных к медицинскому применению. – М., 1998. – 1005с.
45. Губанов, И. А. Дикорастущие полезные растения СССР / И. А. Губанов, И. Л. Крылова, В. Л. Тихонова. – М.: Мысль, 1976. – 360 с.
46. Губина, М. Д. Химический состав голубики топяной из колпашевского района Томской области / М. Д. Губина, Е. Д. Сулова, Т. П. Ларина // Бруничные в СССР: ресурсы, интродукция, селекция. – Новосибирск: Наука, 1990. – С. 141 – 144.
47. Губина, М. Д. Химический состав, хранение, использование дикорастущих плодов черники и брусники, произрастающих в Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. тех. наук: 05.18.15 / Губина Мария Денисовна – Л., 1983. – 24 с.
48. Динамика аскорбиновой кислоты в плодах древесных растений в условиях Якутии [Электронный ресурс] / С. М. Сабарайкина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 6. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/100-5147>.
49. Евдокименко, С. Н. Оценка сортов ремонтантной малины по биохимическим показателям ягод / С. Н. Евдокименко, А. Ф. Никулин, И. А. Бохан // Вестник Брянской сельскохозяйственной академии. – 2008. – № 3. – С. 4 – 9.

50. Евдокимова, О. В. Изучение тритерпеновых соединений сырьевых источников боярышника / О. В. Евдокимова, И. А. Самылина // Сб. науч. тр. НИИ фармации МЗ РФ. – М., 1995. – Вып.34. – С. 172 – 177.
51. Жарова, С. Н. Заготовка и хранение плодов. / С. Н. Жарова, Е. И. Панкова, И. Э. Старостенко. – Л.: Лениздат, 1987. – 160 с.
52. Злобин, А. А. Общая химическая характеристика водорастворимых полисахаридов плодов шиповника морщинистого *Rosa Rugosa* / А. А. Злобин, Р. Г. Оводова, С. В. Попов // Химия растительного сырья. – 2003. – № 2. – С. 39 – 44.
53. Злобин, А. А. Пектиновые полисахариды рябины обыкновенной *Sorbus aucuparia* L / А. А. Злобин [и др.] // Химия растительного сырья. – 2011. – № 1. – С. 39 – 44.
54. Зологина, В. Г. Технология комплексной переработки плодов рябины обыкновенной: автореф. дис. ... канд. тех. наук: 05.21.03 / Зологина Вероника Геннадьевна. – Красноярск, 2005. – 23 с.
55. Иванова, Е. А. Фенольные соединения ягод жимолости при замораживании и хранении / Е. А. Иванова, В. С. Колодязная, С. А. Стрельцина // Пищевая промышленность. – 1997. – №3. – С. 6-7.
56. Исаева, Н. В. Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья и матричных настоек барбариса обыкновенного: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Исаева Надежда Валентиновна. – М., 2007. – 162 с.
57. Кадочникова, Е. Н. Динамика основных пищевых веществ дикорастущей и культивируемой замороженной ежевики при хранении / Е. Н. Кадочникова, М. Д. Губина // Техника и технология пищевых производств. – 2011. – № 3. – С. 26 – 29.
58. Киселева, Т. А. Количественное определение суммы флавоноидов в плодах боярышника / Т. А. Киселева, И. А. Самылина // Фармация. – 1987. – Т. 36, №5. – С. 30 – 32.

- 59.Короткий, И. А. Исследование влияния режимов замораживания и низкотемпературного хранения на качественные показатели ягод черной смородины / И. А. Короткий // вестник КрасГАУ. – 2008. – № 2. – С. 291 – 294.
- 60.Котенко, К. Л. Холосас – рецепт природы для здоровья человека/ К. Л. Котенко//MedicalNature. – 2013. – № 3 – 4. – С. 66.
- 61.Котова, Э. Э. Стандартизация плодов боярышника и лекарственных препаратов на их основе по показателю «Количественное определение» / Э. Э. Котова, А. Г. Котов, Н. П. Хованская // Фармаком. – 2004. – С. 35-41.
- 62.Кох, Д. А. Изменение физико – химического состава плодов мелкоплодных яблок в процессе замораживания / Д. А. Кох // Вестник КрасГАУ. – 2010. – № 10. – С. 232 – 234.
- 63.Куксова, Я. В. Разработка показателей качества настоев плодов малины / Я. В. Куксова, А. С. Аврач, И. А. Самылина // Сборник научных трудов научно-методической конференции « II Гаммермановские чтения». – Спб., 2014. – С. 56 – 57.
64. Лобанова, А. А. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья / А. А. Лобанова, В. В. Будаева, Г. В. Сакович // Химия растительного сырья. – 2004. – № 1. – С. 47 – 52.
- 65.Лучина, Н. А. Товароведно-технологическая оценка плодов малины и возможности их комплексной переработки: автореф. дис. ... канд. тех. наук: 05.18.15 / Лучина Наталья Александровна. – Новосибирск, 2003. – 15 с.
66. Лякина, М. Н. Исследования по совершенствованию методов стандартизации фитопрепаратов и гомеопатических лекарственных средств: дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.02, 15.00.01 / Лякина Марина Николаевна. – М., 2006. – 366 с.
67. Ляхова, Н. С. Фармакологическое изучение суммарных извлечений из плодов боярышника: автореф. дис. ... канд. фарм.наук: 15.00.25 / Ляхова Наталья Сергеевна. – Пятигорск, 2008. – 24 с.
68. Мазнев, Н. И. Энциклопедия лекарственных растений / Н. И. Мазнев. – М.: Мартин, 2004. – 496 с.

- 69.Максютина, Н. П. Растительные лекарственные средства / Н. П. Максютинa, Н. Ф. Комиссаренко, А. П. Прокопенко [и др.]; под общ. ред. Н. П. Максютинoй. – Киев: Здоровье, 1985. – 280 с.
- 70.Матасова, С. А. Химический состав сухого водного экстракта из шрота шиповника / С. А. Матасова, Г. Л. Рыжова, К. А. Дычко // Химия растительного сырья. – 1997. – № 2. – С. 28 – 31.
- 71.Матюхина, З. П. Товароведение пищевых продуктов / З. П. Матюхина, Э. П. Королькова. – М.: ИРПО, изд. Центр «Академия», 1998. – 272с.
72. Машковский, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. 15-е изд. – М.: Новая волна, 2005. – 1200 с.
- 73.Медонкаева, А. Э. Сохраняемость пищевой ценности винограда при длительном хранении в замороженном виде /А. Э. Медонкаева // Новые виды продукции из плодов и винограда. – М.: 1990. – С. 44 – 48.
74. Морев, С. Н. Количественное определение гиперозида в сырье и жидком экстракте боярышника методом ВЭЖХ / С. Н. Морев, Т. Н. Киселева, Д. М. Попов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 1989. – Т.23, №7. – С. 853 – 855.
- 75.Мясищева, Н. В. Изучение биологически активных веществ ягод черной смородины в процессе хранения / Н. В. Мясищева, Е. Н. Артемова // Техника и технология пищевых производств. – 2013. – №3. – С. 36 – 40.
- 76.Николаева, М.А. Товароведение плодов и овощей. / М. А. Николаева. – М.: Экономика, 1991. – 288 с.
77. Носовская, Т. Д. Лечебные свойства рябины обыкновенной [Электронный ресурс] / Т. Д. Носовская // Провизор. – 2000. – № 6. – Режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/archive/2000/N6/ryabina.php>.
- 78.ОФС 42-0027-05. Настойки гомеопатические матричные.
- 79.Пастушенков, Л. В. Лекарственные растения. Использование в народной медицине и быту / Л. В. Пастушенков, А. Л. Пастушенков, В. Л. Пастушенков. – 5-е изд., перераб. и доп. – СПб.: БХВ-Петербург, 2012. – 432 с.

80. Писарев, Д. И. Разработка экспресс-метода определения каротиноидов в сырье растительного происхождения / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, Т. А. Романова // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2010. – №22, вып. 12/2. – С. 119 – 122.
81. Починок, Х. Н. Методы биохимического анализа растений / Х. Н. Починок. – Киев: «Наукова думка», 1976. – 336 с.
82. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2. Семейства Actinidaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae / Под ред. А. Л. Буданцева. – СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – 513 с.
83. Романова, Н. Г. Плоды боярышника и рябины – перспективный сырьевой источник для создания продуктов функционального питания / Н. Г. Романова // Достижения науки и техники АПК. – 2008. – № 9. – С. 59 – 62.
84. РСТ РСФСР 19-75. Малина и ежевика свежие дикорастущие [Текст]. – Введ. 1975 – 11 – 03. – М.: Госплан РСФСР, 1975. – 6 с.
85. РСТ РСФСР 22-75. Калина лесная свежая [Текст]. – Введ. 1975 – 11 – 03. – М.: Госплан РСФСР, 1975. – 5 с.
86. РСТ РСФСР 29-75. Облепиха свежая дикорастущая [Текст]. – Введ. 1975 – 11 – 03. – М.: Госплан РСФСР, 1975. – 5 с.
87. РСТ РСФСР 356-88. Смородина красная и белая свежие [Текст]. – Введ. 1988 – 01 – 19. – М.: Госплан РСФСР, 1988. – 6 с.
88. Рыжова, Г. Л. Получение сухого экстракта из плодов рябины сибирской и изучение его химического состава / Г. Л. Рыжова, С. А. Матасова, С. Г. Башуров // Химия растительного сырья. – 1997. – № 2. – С. 37 – 41.
89. Салахов, И.А. Определение флавоноидов боярышника в лекарственных формах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / И.А. Салахов, С.Ю. Гармонов // Вестник Казанского технологического университета. – 2007. – № 6. – С. 34 – 36.
90. Самылина, И. А. Проблемы стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов/ И. А. Самылина//Мат.1-го

- международного конгресса «Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты». – Москва, 1994. – С. 361.
91. Самылина, И. А. Стандартизация свежего растительного сырья / И. А. Самылина, Т. Л. Киселева // Фармация. – 2007. – № 1. – С. 49 – 51.
92. Самылина, И. А. Фармакогностическое изучение, стандартизация сырья, лекарственных средств боярышника и тыквы: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.02 / Самылина Ирина Александровна. – М., 1992. – 87 с.
93. Сборник фармакопейных статей по гомеопатии / Под редакцией член-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. – М., 2005. – 80 с.
94. Сергунова, Е. В. Влияние способа консервации на качество плодов и водных извлечений калины обыкновенной / Е. В. Сергунова, Н. А. Зайцева, И. А. Самылина // Фармация. – М., 2009. – №5. – С.16 – 18.
95. Сергунова, Е. В. Изучение плодов боярышника различных способов консервации и водных извлечений / Е. В. Сергунова, А. А. Сорокина, А. С. Аврач // Фармация. – 2010. - № 5. – С. 16-18.
96. Сергунова, Е. В. Исследования по стандартизации плодов шиповника и лекарственных форм на его основе: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Сергунова Екатерина Вячеславовна. – М., 2002. – 24 с.
97. Сергунова, Е. В. Изучение фенольных соединений плодов и лекарственных форм шиповника методом ВЭЖХ / Е. В. Сергунова, А. А. Сорокина // Фармация. – 2012. - № 5. – С. 11 – 13.
98. Сергунова, Е. В. Стабильность дубильных веществ и способ консервации сырья / Е. В. Сергунова, А. А. Сорокина, А. С. Аврач // Сборник научных трудов научно-методической конференции «Гаммермановские чтения - 2011». – Спб., 2011. – С.8–9.
99. Синютина, С. Е. Экстракция флавоноидов из лекарственного растительного сырья и изучение их антиоксидантных свойств / С. Е. Синютина, С. В. Романцова, В. Ю. Савельева // Вестник ТГУ. – 2011. – Т.16, вып.1. – С. 345 – 347.

100. Скурихин, И. М. Все о пище с точки зрения химика: Справ. издание / И. М. Скурихин, А. П. Нечаев. – М.: Высшая школа, 1991. – 136 с.
101. Соколов, С. Я. Фитотерапия и фитофармакология / С. Я. Соколов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2000. – 147 с.
102. Сорокина, А.А. Изучение вопросов стандартизации водных извлечений. / А. А. Сорокина //Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 2-го межд. съезда (Санкт-Петербург, 1998 г.). – Санкт-Петербург, 1998. – С. 34–38.
103. Степанов, А. С. Стандартизация сырья и препаратов элеутерококка колючего и лимонника китайского: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Степанов Алексей Сергеевич. – Пермь, 2004. – 23 с.
104. Тахтаджян, А. Л. Жизнь растений: в 6-ти томах. Том 5, часть 2: цветковые растения / А. Л. Тахтаджян. – М.: Просвещение, 1981. – 576 с.
105. Темердашев, З. А. Оценка стабильности фенольных соединений и флавоноидов в лекарственных растениях в процессе их хранения / З. А. Темердашев, Н. А. Фролова, Т. Г. Цюпко, Д. А. Чупрынина // Химия растительного сырья. – 2011. – № 4. – С. 193 – 198.
106. Терешина, Н. С. Технология и стандартизация многокомпонентных гомеопатических препаратов: дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.02 / Терешина Наталья Сергеевна. – М., 2006. – 293 с.
107. Третьякова, Ю. В. Товароведная характеристика плодов боярышника и продуктов их переработки: автореф. дис. ...канд. тех. наук: 05.18.15 / Третьякова Юлия Владимировна. – Кемерово, 2009. – 19 с.
108. Турова, А. Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А. Д. Турова, Э. Н. Сапожникова. – М.: Медицина, 1984. – 304 с.
109. Филипцова, Г. Г. Основы биохимии растений: курс лекций / Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич. – Мн.: БГУ, 2004. – 136 с.
110. ФС 42-1052-76. Облепихи плоды свежие.
111. ФС 42-1652-99. Настойка боярышника / Фармакопейный государственный комитет. – введ. 10.05.1999. – М., 1999. – 7 с.

112. ФСП 42-02053108-02. Боярышник, настойка гомеопатическая матричная *Crataegus*/ ООО НПФ «Материя Медика Холдинг». – введ. 26.08.2002. – М., 2002. – 6 с.
113. ФСП 42-8555-07. Боярышника экстракт жидкий / ЗАО «ВИФИТЕХ». – М., 2007. – 8 с.
114. Хачатрян, Г. В. Длительное хранение абрикоса, персика и других культур в замороженном и виде и их дальнейшее использование: автореф.дис. ... канд. с.-х. наук: 05.18.15 / Хачатрян Грета Вагаршаковна. – Ереван, 1981. – 18 с.
115. Чахирова, А. А. Технологические исследования по разработке масляного экстракта из плодов рябины обыкновенной и перспективы его использования: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01 / Чахирова Анна Анатольевна. – Пятигорск, 2008. – 23 с.
116. Чечета, О. В. Определение флавоноидов в плодах шиповника (*Rosasp.*) / О. В. Чечета, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин, С. В. Снопов // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2011. – № 1. – С. 205 – 209.
117. Шевченко, С. М. Динамика аскорбиновой кислоты в плодах растений рода *Cerasus tomentosa* (Thunb.) Wall / С. М. Шевченко, В. Н. Сорокопудов, И. А. Навальнева // Химия растительного сырья. – 2011. – №2. – С. 185 – 186.
118. Шретер, А. И. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций) / А. И. Шретер. – М.: Медицина, 1985. – 329 с.
119. Экспертиза дикорастущих плодов, ягод и травенистых растений: качество и безопасность / И. Э. Цапалова, М. Д. Губина, О. В. Голуб; под общ. ред. В. М. Позняковского – 3-е изд., исправ. и доп. – Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2005. – 213 с.
120. A triterpenoid glucoside and phenolic compounds from *Rosa davurica* / Jong Cheol Park [et al.] // Natural product sciences. – 2003. – № 9(1).–P. 31 – 33.
121. Beekwilder, J. Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry //J. Beekwilder, R. D. Hall, C. H. de Vos // Biofactors. – 2005. – № 23(4). –P. 197 – 205.

122. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens / L. J. Nohynek [et al.] // *Nutrition and cancer*. – 2006. – № 54(1). – P. 18 – 32.
123. *British Pharmacopoeia*. – London: Crown Copyright, 2008. – 10952 p.
124. Cui, T. Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts / T. Cui, K. Nakamura, S. Tian, H. Kayahara, Y. L. Tian // *Bioscience, biotechnology and biochemistry*. – 2006. – № 70(12). – P. 2948 – 2956.
125. De Ancos, B. Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit / B. De Ancos, E. M. Gonzalez, M. P. Cano // *Jornal of agricultural and food chemistry*. – 2000. – № 48(10). – P. 4565 – 4570.
126. Del Caro, A. Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity, and ascorbic acid of prunes / A. Del Caro, A. Piga, I. Pinna, P. M. Fenu, M. Agabbio // *Jornal of agricultural and food chemistry*. – 2004. – № 52. – P. 4780 – 4784.
127. Effect of hawthorn (*Crataegus oxycantha*) crude extract and chromatographic fractions on multiple activities in a cultured cardiomyocyte assay / Long S. R.[et al.] // *Phytomedicine*. – 2006. - №13(9-10). – P. 643-50.
128. Ellagitannins from *Rubus* berries for the control of gastric inflammation: in vitro and in vivo studies / EnricoSangiovanni [et al.] // *PLOS ONE*. – 2013. –Vol. 8(8). – P. 1 – 12.
129. *European Pharmacopoeia*. – 7th ed. – 2010. – 4034 p.
130. Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit / B. De Ancos [et al.] // *Jornal of agricultural and food chemistry*. – 2000. – № 48(30). – P. 873 – 879.
131. Hakkinen, Sari. Flavonois and phenolic acids in berries and berry products: diss. ... doc. med. sciences: 221 / Sari Hakkinen. – Kiopio, 2000. – 90 p.
132. *Handbook of medicinal herbs: 2nd ed.* / James A. Duke [et al.]. – New York: CRC PRESS, 2002. – 894 p.

133. In vitro antiviral activity of a series of wild berry fruit extracts against representatives of Picorna-, Orthomyxo- and Paramyxoviridae / L. Nikolaeva-Glomb [et al.] // Natural product communications. – 2014. – № 9(1). – P. 51–4.
134. Japanese Pharmacopoeia. – 15th ed. – 2006. – 1782 p.
135. Kahkonen, M. P. Berry phenolics and their antioxidant activity / M. P. Kahkonen, A. I. Hopia, M. Heinonen // Journal of agricultural and food chemistry. – 2001. – № 49(8). – P. 4076 – 4082.
136. Kraiker, H. P. Thin layer chromatography of Krebs cycle acids / H. P. Kraiker, R. E. Burch // Z Klin Chem Klin Biochem. – 1973. – P. 393 – 397.
137. Lee, Jungmin. Rubus fruit phenolic research: the good, the bad, and the confusing / Jungmin Lee, Michael Dossett, Chad E. Finn // Food chemistry. – 2012. – № 130. – P. 785 – 796.
138. Mills, S. Principles and Practice of Phytotherapy: 2nd ed. / S. Mills, K. Bone. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 2013. – 1056 p.
139. Mikulic-Petkovsek, M. Composition of sugars, organic acids and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species / M. Mikulic-Petkovsek, V. Schmitzer, A. Slatnar, F. Stampar, R. Veberic // Journal of food science. – 2012. – №77(10). – P.1064 – 1070.
140. Nutritional comparison of frozen and non-frozen fruits and vegetables: literature review / Gayaneh Kyureghian [et al.]. – 2010. – 48 p.
141. Olszewska, M. Antioxidant activity of inflorescences, leaves and fruits of three Sorbus species in relation to their polyphenolic composition / M. Olszewska, P. Michel // Natural product research. – 2009. – № 23(16). – P. 1507 – 1521.
142. Olszewska, M. Separation of quercetin, sexangularetin, kaempferol and isorhamnetin for simultaneous HPLC determination of flavonoid aglycones in inflorescences, leaves and fruits of three Sorbus species / M. Olszewska // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. – 2008. – № 48(3). – P. 629 – 635.
143. Peirce, A. The Apha Practical Guide to Natural Medicines / A. Peirce. - New York: Wm. Morrow & Co., 1999. – 752 p.

144. Pharmacopoeia of the people's republic of China: vol.1. – Peoples medical publishing house, 2005. – 975 p.
145. Radioprotective properties of the phytochemically characterized extracts of *Crataegus monogyna*, *Cornus mas* and *Gentianella austriaca* on human lymphocytes in vitro / A. Leskovac [et al.] // *Planta Med.* – 2007. – № 73(11). – 1169 – 1175.
146. Roman, I. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania [электронный ресурс] / I. Roman, A. Stanila, S. Stanila // *Chemistry central journal.* – 2013. – № 7(1). –
Режимдоступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3668991/>.
147. Stability of anthocyanins in frozen and freeze-dried raspberries during long-term storage: in relation to glass transition / R. M. Syamaladevi [et al.] // *Jornal of food science* – 2011. – V.76, №6. – P. 414 – 421.
148. Storage effects on anthocyanins, phenolics and antioxidant activity of thermally processed conventional and organic blueberries / R. M. Syamaladevy et al. // *Jornal of the science of food and agriculture.* – 2012. – № 92(4). – P. 916 – 924.
149. Wichl, M. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: a handbook for practice on a scientific basis edition* / M. Wichl. – New York: Health & Fitness, 2004. – 761 p.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Инструкция по заготовке и хранению свежих плодов боярышника кроваво-красного

Боярышник кроваво – красный (*Crataegus sanguinea Pall.*) – листопадный кустарник или небольшое дерево высотой 1 – 4 м. Побеги покрыты пурпурно – коричневой корой и несут прямые колючки длиной до 5 см. Листья черешковые, обратнойцевидной формы, с клиновидным основанием, иногда неглубоко 3 – 7 - лопастные, край листа крупнозубчатый. Цветки желтовато – белого цвета, собраны в густые многоцветковые щитковидные соцветия. Цветок имеет 5 продолговато – треугольных, цельных или с 1 – 2 зубцами чашелистиков, венчик (до 1,5 см в диаметре) с 5 лепестками. Плоды – яблочки, шаровидные или короткоэллипсоидальные, диаметром 8 – 10 мм, темно – красного цвета, с мучнистой мякотью и 2 – 3 (реже 1 – 5) косточками.

Цветет боярышник кроваво – красный в июне, плоды созревают в сентябре.

Боярышник кроваво – красный в диком виде произрастает в Волжско – Донском, Волжско – Камском и Заволжском районах Европейской части России, Западной и Восточной Сибири, Амурской области Дальнего Востока. Встречается по разреженным лесам, в поймах рек, на лугах, опушках.

В качестве лекарственного растительного сырья заготавливают свежие плоды боярышника кроваво – красного. Сбор проводят в период полного созревания плодов до наступления заморозков (сентябрь – октябрь), в сухую погоду. Плоды собирают руками, обрывая целиком щитки с плодами, и складывают в корзины, мешки или ведра. Нельзя при сборе срубать или обламывать ветви. В случае соблюдения указанных условий можно проводить ежегодную заготовку плодов боярышника с тех же кустов, поскольку это не ведет к истощению заросли.

Свежие плоды очищают от веток, листьев, плодоножек и упаковывают в деревянные, полимерные или картонные ящики в соответствии с действующими ГОСТами. Упаковочная тара должна быть крепкой, сухой, чистой, без посторонних запахов. Хранить свежие плоды боярышника необходимо в чистых, сухих, незараженных амбарными вредителями складских помещениях. Срок

хранения в неотапливаемых помещениях – не более 2-х суток, в холодильных камерах при температуре 0 – 1 °С – не более 4-х суток.

В случае необходимости более длительного хранения свежие плоды могут быть заморожены. Замораживание и хранение плодов следует проводить в морозильной камере при температуре -18 °С, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из гофрированного картона. Срок хранения свежемороженых плодов боярышника кроваво-красного – 9 месяцев со дня заготовки.

Транспортирование свежих плодов боярышника осуществляют всеми видами транспорта в чистых, сухих, без постороннего запаха, не зараженных амбарными вредителями транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок скоропортящихся грузов, действующих на транспорте конкретных видов. Свежемороженые плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше -18 °С.

Сырье – плоды боярышника кроваво-красного свежие или свежемороженые – представляют собой сочные яблокообразные плоды, от шаровидной до эллипсоидальной формы. Длина 6 – 14 мм, ширина 5 – 11 мм. Поверхность кожистая, гладкая, от буровато-красного до темно-бурого цвета. Мякоть мучнистая, оранжевого цвета, с 1 – 5 деревянистыми косточками, имеющими неправильную треугольную, овальную или сжатую с боков косточку. Поверхность косточек ямчато – морщинистая или бороздчатая по спинке. Мороженые плоды очень твердые. Запах плодов слабый. Вкус сладковатый.

Не допускаются плоды незрелые, почерневшие, поврежденные, заплесневелые, с посторонним запахом, сморщенные.

Инструкция по заготовке и хранению свежих плодов малины обыкновенной

Малина обыкновенная (*Rubus idaeus L.*) – ветвистый колючий кустарник семейства розоцветных высотой 1 – 2 м. Корневище ползучее, длинное, развивающее двулетние надземные побеги. В первый год жизни побеги травянистые, зеленые, покрыты шипами и опушением; к зиме они древеснеют, теряют шипы. На второй год побеги образуют соцветия, плодоносят, после чего засыхают и отмирают. Листья очередные, сложные, непарноперистые, с 5-7 листочками; верхние – тройчатые. Конечный листочек продолговато – яйцевидной формы, длиной 5-10 см, заостренный на вершине, с округлым или сердцевидным основанием. Цвет листьев сверху – зеленый, снизу – сероватойлочный. Цветки зеленовато – белые, собраны в верхушечные и пазушные кистевидные соцветия. Плоды – многокостянки, шаровидно – конической формы, состоят из 30 – 60 плодиков малиново – красного цвета, снаружи покрыты нежными волосками. После созревания плоды легко отделяются от конического белого цветоложа.

Цветет малина в мае – июне, плоды созревают в июле – августе.

Дикорастущая малина широко распространена в лесной и лесостепной зонах Европейской части СНГ и Западной Сибири. Обильнее всего произрастает по лесным гарям и вырубкам, часто встречается на открытых местах по холмам, речкам и оврагам, по опушкам лесов и на лесных полянах.

В качестве лекарственного растительного сырья заготавливают свежие плоды малины, без плодоножек и цветоложа. Заготовку проводят в период полного созревания плодов, в сухую погоду. Плоды малины очень мягкие и сочные, легко мнутся и портятся при неаккуратном сборе. В связи с этим сырье собирают вручную, складывая плоды в неглубокие легкие корзины или ведра.

Свежие плоды малины должны быть очищены от листьев, веток, плодоножек и цветоложа и упакованы в деревянные, полимерные или картонные ящики в соответствии с действующими ГОСТами. Тара для упаковки должна быть новой, чистой, сухой, без постороннего запаха. Хранят свежие плоды малины в чистых, сухих, не зараженных амбарными вредителями, без

постороннего запаха, охлажденных складских помещениях или холодильных камерах. Срок хранения плодов в неотопливаемых помещениях не должен превышать 12 ч, а в холодильных камерах при температуре 0 – 1 °С – не более 2-х суток.

В случае необходимости более длительного хранения свежие плоды могут быть заморожены. Замораживание и хранение плодов следует проводить в морозильной камере при температуре -18 °С, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из гофрированного картона. Срок хранения свежемороженых плодов малины обыкновенной – 6 месяцев со дня заготовки.

Транспортирование свежих плодов малины осуществляют всеми видами транспорта в чистых, сухих, без постороннего запаха, не зараженных амбарными вредителями транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок скоропортящихся грузов, действующих на транспорте конкретных видов. Свежемороженые плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше -18 °С.

Сырье – плоды малины обыкновенной свежие или свежемороженые – представляют собой сочные многокостянки шаровидной или конусовидной формы, не мятые, без повреждений. Длина 12 – 20 мм, ширина 10 – 15 мм. Отдельные костянки мелкие, шаровидной или эллипсовидной формы. Поверхность плодов гладкая, блестящая, от розового до темно – малинового цвета, с многочисленными мелкими волосками. Мякоть костянок сочная, красно – малинового цвета, с косточкой, имеющей ямчатую поверхность. Свежие плоды очень нежные, легко раздавливаются. Мороженые плоды твердые. Запах плодов слабый. Вкус кисловато-сладкий.

Не допускаются плоды незрелые, мятые, поврежденные, заплесневелые, с посторонним запахом, сморщенные.

Инструкция по заготовке и хранению свежих плодов рябины обыкновенной

Рябина обыкновенная - *Sorbus aucuparia L.* – дерево, реже кустарник семейства розоцветных, высотой 4 – 15 м. Кора стволов серая, гладкая. Листья с прилистниками, очередные, непарно-перистосложные с 4 – 7 парами листочков. Отдельные листочки продолговатой или продолговато – ланцетовидной формы, в нижней части – цельнокрайные, в верхней – пильчатые. Цвет листьев сверху – матово – зеленый, снизу – серо – зеленый. Цветки пятичленные, белые, диаметром 8 – 15 мм, с резким неприятным запахом триметиламина, собраны в щитковидные соцветия. Плоды – яблочки, сочные, шаровидной формы, красно – оранжевого цвета, с 2 – 7 семенами.

Цветет рябина в мае – июне, плоды созревают в августе – сентябре.

Рябина обыкновенная в диком виде произрастает по всей лесной зоне Европейской части СНГ, на Урале, в горно-лесном поясе Кавказа и горных районах Крыма. В Сибири широко распространена рябина сибирская (*Sorbus sibirica Hedl.*), которую многие авторы причисляют к подвиду рябины обыкновенной. Рябина растет в подлеске хвойных и смешанных лесов, по лесным опушкам, прогалинам, вырубкам, в кустарниковых зарослях по берегам рек и озер.

В качестве лекарственного растительного сырья используют свежие плоды рябины. Заготовку зрелых плодов проводят с начала осени до наступления заморозков. Сбор сырья осуществляют вручную или с помощью секатора, обрывая щитки с плодами и складывая их в корзины, ведра или мешки. Нельзя при сборе срубать или обламывать ветви.

Свежие плоды очищают от веток, листьев, плодоножек и упаковывают в деревянные, полимерные или картонные ящики в соответствии с действующими ГОСТами. Тара для упаковки должна быть новой, чистой, сухой, без постороннего запаха. Хранят свежие плоды рябины в чистых, сухих, не зараженных амбарными вредителями, без постороннего запаха, охлажденных складских помещениях или холодильных камерах. Срок хранения плодов в

неотапливаемых помещениях не должен превышать 3-х суток, а в холодильных камерах при температуре 0 – 1 °С – 20 суток.

В случае необходимости более длительного хранения свежие плоды могут быть заморожены. Замораживание и хранение плодов следует проводить в морозильной камере при температуре -18 °С, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из гофрированного картона. Срок хранения свежемороженых плодов рябины обыкновенной – 9 месяцев со дня заготовки.

Транспортирование свежих плодов рябины осуществляют всеми видами транспорта в чистых, сухих, без постороннего запаха, не зараженных амбарными вредителями транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок скоропортящихся грузов, действующих на транспорте конкретных видов. Свежемороженые плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше -18 °С.

Сырье – плоды рябины обыкновенной свежие или свежемороженые – представляют собой сочные яблокообразные плоды, шаровидной формы, диаметром 6 – 8 мм. Поверхность гладкая, блестящая, от желто - оранжевого до оранжево - красного цвета. Мякоть мучнистая, желто - оранжевого цвета, с 2 – 7 семенами, имеющими слегка серповидную или продолговатую форму с острыми концами. Поверхность семян гладкая, красно – бурого цвета. Запах плодов слабый. Вкус киловато - горький.

Не допускаются плоды незрелые, почерневшие, поврежденные, заплесневелые, с посторонним запахом, сморщенные.

Инструкция по заготовке и хранению свежих плодов шиповника коричневого

Шиповник коричный (майский) – *Rosa cinnamomea L. (Rosa majalis Herm.)* – колючий кустарник семейства розоцветных, высотой от 0,5 до 2,0 м. Ветви тонкие, блестящие, красно – коричневого цвета, с немногочисленными изогнутыми шипами, расположенными попарно в основании листовых черешков. Листья сложные, непарноперистые, с 7 – 9 листочками продолговато – эллиптической или яйцевидной формы, по краю остропильчатых. Цветки крупные, пятичленные, одиночные или по 2 – 3 на коротких цветоножках. Чашелистиков 5, ланцетовидных, простых, остающихся и приподнимающихся кверху при созревании плодов. Венчик с 5 лепестками розового или темно – красного цвета. Плоды (гипантии) шаровидной или яйцевидной формы, гладкие, голые, мясистые, содержат многочисленные плодики (орешки).

Цветет в мае – июле, плоды созревают в августе – сентябре.

Шиповник коричный в диком виде распространен в Европейской части СНГ, на Урале, в Сибири. Растет по лесным долинам, поймам, в зарослях кустарников, на лесных опушках и полянах.

В качестве лекарственного растительного сырья заготавливают свежие зрелые плоды шиповника коричневого. Сбор сырья проводят в августе – сентябре, пока плоды твердые (техническая зрелость), в сухую, теплую погоду. Мягкие плоды при сборе легко раздавливаются, в связи с чем они непригодны для заготовки. Плоды собирают вручную, складывая в корзины, мешки или ведра.

Свежие плоды очищают от веток, листьев, плодоножек и упаковывают в деревянные, полимерные или картонные ящики в соответствии с действующими ГОСТами. Тара для упаковки должна быть новой, чистой, сухой, без постороннего запаха. Хранят свежие плоды шиповника в чистых, сухих, не зараженных амбарными вредителями, без постороннего запаха, охлажденных складских помещениях или холодильных камерах. Срок хранения свежих плодов в неоттапливаемых помещениях не должен превышать 24 ч, а в холодильных камерах при температуре 0 – 1 °С не более 3-х суток.

В случае необходимости более длительного хранения свежие плоды могут быть заморожены. Замораживание и хранение плодов следует проводить в морозильной камере при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из гофрированного картона. Срок хранения свежемороженых плодов шиповника коричневого – 9 месяцев со дня заготовки.

Транспортирование свежих плодов шиповника осуществляют всеми видами транспорта в чистых, сухих, без постороннего запаха, не зараженных амбарными вредителями транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок скоропортящихся грузов, действующих на транспорте конкретных видов. Свежемороженые плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Сырье – плоды шиповника коричневого свежие или свежемороженые – представляют собой ложные плоды шаровидной или яйцевидной формы, длина 1,0 – 2,0 см, диаметр – 1,0 – 1,5 см. На верхушке плода имеется небольшое круглое отверстие. Плоды состоят из разросшегося мясистого, сочного цветоложа (гипантия) и заключенных в его полости многочисленных плодиков – орешков. Наружная поверхность плодов кожистая, гладкая, блестящая. Мороженые плоды очень твердые. Внутри плоды выстланы длинными щетинистыми волосками. Орешки мелкие, продолговатой формы, со слабо выраженными гранями. Цвет плодов от оранжево – красного до буровато – красного, орешки светло желтые, иногда буроватые. Запах слабый. Вкус кисловато – сладкий.

Не допускаются плоды незрелые, почерневшие, поврежденные, заплесневелые, с посторонним запахом, сморщенные.