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

На правах рукописи

Сергунова Екатерина Вячеславовна

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ КОНСЕРВАЦИИ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук

Научный консультант:
профессор, доктор фармацевтических наук
Сорокина Алла Анатольевна

Москва, 2015

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БАВ – биологически активные вещества

ГФ – Государственная Фармакопея

ОФС – общая фармакопейная статья

ФС – фармакопейная статья

НД – нормативный документ

ЛП – лекарственный препарат

ЛР – лекарственное растение

ЛРС – лекарственное растительное сырье

НГМ – настойка гомеопатическая матричная

НФ – неподвижная фаза

ПФ – подвижная фаза

СО – стандартный образец

ТСХ – тонкослойная хроматография

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

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

КВ – коэффициент вариации

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ…….....7

Глава 1. Обзор литературы…….....16

1.1. Морфологическая характеристика лекарственного растительного сырья группы «Плоды»…….....16

1.2.Химический состав плодов…….....19

1.3.Применение плодов в аллопатической медицине и гомеопатии…….....29

1.4. Стандартизация плодов: характеристики подлинности и доброкачественности……33

1.5.Методы анализа биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье…….....……37

1.6.Способы консервации лекарственного растительного сырья……....42

1.7.Перспективы использования замороженного лекарственного растительного сырья в аллопатической медицине и гомеопатии……45

1.8.Выводы к главе 1…….....50

Глава 2. Объекты и методы исследования……...51

Глава 3. Изучение влияния способов консервации на качественный состав биологически активных веществ в плодах…….....56

3.1. Изучение аскорбиновой кислоты в свежих, замороженных и высушенных плодах……56

3.2. Качественный анализ свободных органических кислот в плодах различных способов консервации…….....57

3.3. Изучение фенольных соединений в свежих, замороженных и высушенных плодах…….....65

3.3.1. Качественный анализ флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в плодах различных способов консервации…….....65

3.3.2. Качественный анализ дубильных веществ в плодах различных способов консервации…….....74

3.3.3. Качественный анализ антоцианов в плодах различных способов консервации……76
3.4. Выводы к главе 3…….....80
Глава 4. Изучение влияния способов консервации на содержание биологически активных веществ в плодах……..81
4.1. Количественная оценка содержания свободных органических кислот в плодах различных способов консервации…….....81
4.2. Количественная оценка содержания аскорбиновой кислоты в плодах различных способов консервации…….....84
4.3. Определение содержания фенольных соединений в плодах различных способов консервации……..92
4.3. 1. Определение содержания флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных плодах…….....92
4.3.2. Количественная оценка содержания антоцианов в плодах различных способов консервации…….....101
4.3.3. Количественная оценка содержания дубильных веществ в плодах различных способов консервации…...……...……...106
4.4. Количественный анализ полисахаридов в плодах различных способов консервации…….....109
4.5. Выводы к главе 4……..114
Глава 5. Изучение стабильности биологически активных веществ в замороженных и высушенных плодах при хранении……116
Глава 6. Сравнительный анализ экстракционных препаратов из свежего, замороженного и высушенного сырья……..124
6.1. Разработка оптимальных условий получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов……124
6.2. Характеристика водных извлечений из плодов различных способов консервации……128
6.2.1. Определение коэффициента водопоглощения……..128

6.2.2. Определение органолептических характеристик……..129
6.2.3. Определение сухого остатка…….....131
6.3. Определение содержания биологически активных веществ в водных извлечениях из плодов, подвергнутых консервации…….……134
6.3.1. Количественная оценка аскорбиновой кислоты в водных извлечениях…135
6.3.2. Определение содержания органических кислот в водных извлечениях……137
6.3.3. Количественный анализ флавоноидов в отварах……..139
6.3.4. Определение содержания дубильных веществ в отварах……144
6.3.5. Количественная оценка полисахаридов в отварах……147
6.4. Анализ водно-спиртовых экстракционных препаратов из плодов боярышника кроваво-красного, калины обыкновенной и рябины обыкновенной……..149
6.5. Изучение химического состава настоек матричных гомеопатических из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной…….....155
6.6. Выводы к главе 6……..…….....163
Глава 7. Морфолого-анатомическое изучение замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного, шиповника коричного и рябины обыкновенной……164
7.1. Морфологическое описание замороженных и высушенных плодов…….165
7.1.1. Макроскопический анализ высушенных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной и шиповника коричного……165
7.1.2. Макроскопический анализ замороженных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной и шиповника коричного……167
7.2. Анатомическое строение замороженных и высушенных плодов……...170
7.2.1. Микроскопический анализ высушенных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной и шиповника коричного……171

7.2.2. Анализ анатомического строения замороженных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной и шиповника коричного……175
7.3. Выводы к главе 7……180
Общие выводы……..……..……181
Список литературы……..……..……184
Приложения…….....…….……..206

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Использование биологически активных веществ (БАВ) растений в их природной композиции обеспечивает широкий спектр фармацевтического воздействия, необходимый для лечения органов и систем организма человека. Одно из основных направлений фармации – всестороннее изучение и рациональное использование лекарственного растительного сырья (ЛРС), которое служит источником для получения препаратов с разными фармакологическими свойствами.

Для получения водных извлечений (настоев и отваров), настоек, экстрактов, таблетированных форм ЛРС чаще всего используется в высушенном виде. Свежесобранное ЛРС перерабатывается для производства сока и экстракционных препаратов. В гомеопатии для изготовления гомеопатических препаратов в качестве сырьевых источников также используются свежие лекарственные растения. Свежее ЛРС содержит комплекс действующих веществ, входящих в состав растений в естественном состоянии, которые не подвержены гидролитическому разложению и воздействию ферментов.

Широкого применения в аллопатической практике свежее растительное сырье не нашло. Главным образом, это связано с невозможностью долгого хранения ЛРС в свежем виде и необходимостью его быстрой переработки сразу после сбора. Для сохранения фармакологических свойств ЛРС и обеспечения его качества в процессе хранения используют консервацию, целью которой является получение продукта, способного храниться длительное время без значительных изменений качества. Проблема консервации свежего ЛРС достаточно актуальна как для аллопатии, так и для гомеопатии. В настоящее время основным методом консервации является сушка с учетом гистологических показателей и природы БАВ. Влияние высоких температур на качество ЛРС изучено достаточно хорошо. Более 85% лекарственного растительного сырья, включенного в ГФ XI издания, после процесса заготовки подвергается высушиванию. Однако, действующие вещества многих лекарственных растений (ЛР) во время сушки и последующего

хранения подвергаются превращениям вследствие ферментативных процессов, действия света и кислорода воздуха. Методом консервации ЛРС может служить замораживание, обеспечивающее полное или частичное превращение клеточного сока в лед.

Плоды одна из морфологических групп ЛРС, которая достаточно широко используется в медицине. Плоды поступают в аптеку в фасованном виде для безрецептурного отпуска и приготовления водных извлечений и на фармацевтическое производство для получения настоек и экстрактов, входят в состав сборов, также используются в гомеопатии. В соответствии с требованиями ГФ XIII изд. официально разрешено применение плодов как в высушенном, так и в свежем виде. Наиболее богатый состав БАВ имеют свежие плоды. Однако в связи с большим содержанием влаги хранить сочные плоды в свежем виде наиболее затруднительно (согласно инструкции по заготовке срок хранения свежего сырья составляет не более 3-х суток). И сушка, и замораживание имеют свои достоинства и недостатки, так как в ходе этих процессов содержание БАВ в сырье изменяется, что может привести к снижению или потери фармакологических свойств ЛРС. В настоящее время замораживание является наиболее оптимальным способом консервации для сочных плодов. Данный способ консервации широко применяется в пищевой промышленности, но почти не используется в фармации, что делает исследования по влиянию низких температур на качество ЛРС актуальными.

Степень разработанности темы исследования. Большое количество нормативных документов, а также многочисленные научные исследования по оценке влияния замораживания на качество плодово-ягодной продукции позволяют с уверенностью утверждать о перспективности низкотемпературного метода консервации пищевого растительного сырья (Родина С.Ф., 1994г, Максименко М.Г., 1998, Винницкая В.Ф., 2003г). В тоже время научное обоснование возможности применения замороженного лекарственного растительного сырья в медицинской практике практически отсутствует.

Имеются лишь отдельные работы (Степанова Т.А. 1998г, Степанов А.С. 2004, Исаева Н.В. 2007), посвященные исследованиям качественного и количественного состава биологически активных веществ (БАВ) в свежих, замороженных и высушенных плодах барбариса, лимонника китайского и элеутерококка колючего, калины обыкновенной.

Отсутствует информация о влиянии низких температур на качественный состав и количественное содержание биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах (водных и водно-спиртовых, применяемых в аллопатии), на их стабильность при хранении; нет данных о влиянии способов консервации на вариабельность диагностических признаков сырья при установлении характеристик подлинности.

В связи с этим, представляется актуальным проведение системного анализа по выявлению влияния метода консервации на вариабельность химического состава БАВ плодов ЛР с целью предложения наиболее эффективного способа сохранения качества сырья.

Цель и задачи исследования. Цель настоящих исследований заключается в проведении комплексных теоретических и экспериментальных исследований по обоснованию влияния способов консервации на состав и содержание отдельных групп БАВ в ЛРС «плоды» и » и полученных из него водных и водно-спиртовых извлечений..

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести информационно-аналитическое исследование по вопросам анализа, стандартизации и использования свежего, замороженного и высушенного ЛРС «плоды»;

2. Провести сравнительное изучение качественного состава БАВ свежих, замороженных и высушенных плодов шиповника коричного, рябины обыкновенной, малины обыкновенной, аронии черноплодной, боярышника кроваво-красного, калины обыкновенной, черники обыкновенной;

3. Изучить влияние отрицательных температур на содержание отдельных групп БАВ (органических кислот, аскорбиновой кислоты, флавоноидов, антоцианов, дубильных веществ, полисахаридов) в плодах шиповника коричного, рябины обыкновенной, малины обыкновенной, аронии черноплодной, боярышника кроваво-красного, калины обыкновенной, черники обыкновенной (в сравнении со свежим и высушенным ЛРС);

4. Провести сравнительный анализ стабильности БАВ в высушенном и замороженном сырье при хранении на примере плодов шиповника коричного, рябины обыкновенной, малины обыкновенной, аронии черноплодной, боярышника кроваво-красного;

5. Провести сравнительный анализ показателей качества водных извлечений, полученный из плодов - объектов исследования различных способов консервации;

6. Провести сравнительный анализ состава БАВ в жидких экстрактах из плодов боярышника кроваво-красного, калины обыкновенной и рябины обыкновенной различных способов консервации;

7. Изучить возможность использования замороженного и высушенного ЛРС для изготовления гомеопатических препаратов на примере настойки матричной гомеопатической плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной;

8. Изучить влияние отрицательных температур на вариабельность и проявляемость диагностических признаков плодов шиповника коричного, боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной;

9. Разработать проект нормативной документации (ОФС) на ЛРС «Плоды замороженные» и инструкции по заготовке свежих и замороженных плодов лекарственных растений семейства Розоцветных.

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

Научная новизна исследования. На основе выполненного информационного поиска и комплекса экспериментальных исследований получены новые данные о влиянии отрицательных температур на содержание

отдельных групп БАВ в 7 видах плодов. Доказана идентичность компонентного состава БАВ свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной, шиповника коричного, малины обыкновенной, аронии черноплодной, калины обыкновенной и черники обыкновенной.

Выявлены основные закономерности изменения содержания в исследуемых плодах органических кислот, флавоноидов, антоцианов, дубильных веществ и полисахаридов в зависимости от способа консервации. Установлено, что в процессе замораживания уменьшается содержание полисахаридов, органических кислот и аскорбиновой кислоты в плодах на 5-7%, количество флавоноидов, дубильных веществ снижается на 10–20%, антоцианов – на 20–30%. Высушивание плодов приводит к более значительным потерям органических кислот, аскорбиновой кислоты и антоцианов.

Изучена стабильность БАВ в замороженных плодах в процессе хранения в морозильной камере при температуре –18°С в течение 12 месяцев, рекомендованы сроки годности для замороженного сырья.

Показана возможность получения из свежих и замороженных плодов отваров и жидких экстрактов. С использованием физико-химических методов анализ дана сравнительная характеристика их качественного состава и количественного содержания основных групп БАВ.

На примере замороженных плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной показана возможность использования замороженных плодов в качестве альтернативы свежему сырью при изготовлении гомеопатических матричных настоек.

Изучено влияние отрицательных температур на вариабельность и проявляемость морфолого-анатомических признаков плодов (на примере плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной и шиповника коричного) для установления характеристик подлинности сырья. Показано, что замораживание не влияет на проявляемость анатомических признаков плодов, но изменяет характеристики их внешнего вида.

Теоретическая значимость работы заключается в обосновании целесообразности практического использования замораживания как способа консервации ЛРС «Плоды» на основании обобщения и систематизирования полученных экспериментально-практических сведений и выявленных закономерностей влияния отрицательных температур на качественный и количественный состав БАВ в ЛРС. Полученные результаты могут служить основой для разработки показателей качества изученных видов замороженных плодов, а также для получения и стандартизации лекарственных средств на их основе. Важным аспектом исследования 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.

Практическая значимость работы. Полученные экспериментальные данные по составу БАВ свежих и замороженных плодов использованы при разработке проектов ОФС «Плоды замороженные» и фармакопейной статьи «Шиповника плоды» для ГФ РФ XIII изд., принятые ФГБУ «НЦ ЭСМП» к рассмотрению. Разработаны инструкции по заготовке свежих и замороженных плодов лекарственных растений семейства Розоцветных и инструкции по заготовке и хранению свежих плодов малины обыкновенной, рябины обыкновенной, боярышника кроваво-красного и шиповника коричного (ФГБНУ ВИЛАР, акт внедрения от 02.1.2015г.). Результаты научных исследований по влиянию отрицательных температур на состав и содержание БАВ в плодах использованы в исследовательских работах при разработке технологии получения охлажденных и замороженных продуктов питания (ФГБНУ ВНИИТеК, акт внедрения от 30.10.2015г.). Акты внедрения подтверждают использование разработанных научно-методических подходов к возможному использованию замораживания как метода консервации.

Полученные в ходе исследований данные включены в учебное пособие по фармакогнозии для интернов, обучающихся по направлению «Фармацевтическая химия и фармакогнозия». Результаты исследований внедрены в учебный процесс

при чтении курса лекций и проведении практических занятий со студентами и интернами кафедры фармакогнозии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (акт внедрения от 08.09.2015г.).

Методология и методы исследования. Теоретическую основу исследования составили труды советских (Арзамасцев А.П., Гаммерман А.Ф., Муравьева Д.А., Челомбитько В.А., Яковлев Г.П., Самылина И.А. и др.) и зарубежных исследователей (Wagner H., Tschurich A. et al.), развивающие системный подход в создании и стандартизации рациональных лекарственных растительных препаратов; международная и российская нормативная документация на лекарственное растительное сырье. Методология исследования заключалась в сравнительном изучении химического состава лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов на его основе в зависимости от способа консервации с последующим выбором оптимального метода консервации, позволяющего сохранить максимально биологически активные соединения и рекомендациями по хранению и использованию сырья. При выполнении работы были использованы методы сравнительного, документированного анализа; комплекс физико-химических методов, технологических испытаний; математические методы анализа и обработки результатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

- данные по сравнительному изучению химического состава БАВ (органических кислот, флавоноидов, аскорбиновой кислоты, антоцианов, дубильных веществ, полисахаридов) свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной, шиповника коричного, малины обыкновенной, аронии черноплодной, калины обыкновенной и черники обыкновенной;
- результаты исследования стабильности БАВ замороженных плодов лекарственных растений семейств Розоцветных, Вересковых, Жимолостных;

- данные по изучению и стандартизации лекарственных препаратов из свежих и замороженных плодов (отвар, жидкий экстракт, настойка матричная гомеопатическая);
- результаты морфолого-анатомического изучения замороженных плодов.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов подтверждена многократной повторностью экспериментов; статистической обработкой полученных результатов и их сопоставлением с данными литературы. Все полученные результаты и выводы, сделанные из них, основаны на достаточном количестве экспериментальных исследований. В работе использовалось сертифицированное оборудование, на которое выданы действующие свидетельства о поверке. Разработанные методики валидированы. В исследовании использован достаточный объем литературных источников отечественных и иностранных авторов.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: научно-практической конференции «Стандартизация готовых лекарственных средств» (НИИФ ГОУ ВПО ММА им. И.М.Сеченова, Москва, 2010), научно-методической конференции «Гаммермановские чтения» (Санкт-Петербург, 2011), Итоговой Всероссийской научной конференции молодых исследователей с международным участием «Татьянин день» (Москва, 2011), XIX, XX, XXI Российских национальных конгрессах «Человек и лекарство» (Москва, 2012, 2013, 2014), I,II и III научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 2013, 2014, 2015), XXIV Московской международной гомеопатической конференции «Развитие гомеопатического метода в современной медицине» (Москва, 2014), Итоговой Всероссийской научной конференции молодых исследователей с международным участием «Медицинская весна» (Москва, 2014), научно-методической конференции «II Гаммермановские чтения» (Санкт-Перербург, 2014).

Личный вклад автора. Автором осуществлен выбор научного направления. Наибольшая часть исследований выполнена лично автором диссертационной

работы. Во всех работах, выполненных с соавторами, автору принадлежат постановка цели и задач, обоснование выбора оптимальных путей их решения, планирование и реализация эксперимента, анализ полученных результатов, формулировка общих выводов; участие в докладах и публикациях, внедрение результатов исследования.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 31 печатная работа, в том числе 17-в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 1 работа – в зарубежном журнале.

Связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России по научной проблеме «Разработка современных технологий подготовки специалистов с высшим медицинским и фармацевтическим образованием на основе достижений медико-биологических исследований» (номер государственной регистрации 01.2.006 06352). Тема включена в план научных исследований кафедры фармакогнозии «Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья, лекарственных сборов, лекарственных форм из сырья и разработка методов их стандартизации с учетом влияния антропогенных факторов, оценки качества и сертификации».

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 3, 5, 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 242 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, семи глав, общих выводов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 42 таблицами и 54 рисунками. Список литературы включает 227 источников, в т.ч. 56 – на иностранных языках.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Морфологическая характеристика лекарственного растительного сырья группы «Плоды»

Плодами в фармацевтической практике называют высушенные, реже свежесобранные простые и сложные, а также ложные плоды, соплодия и их части.

Плоды как морфологическая группа сырья входят в современные отечественные (ГФ XIX, X, XI) и зарубежные фармакопеи (европейская, французская, китайская, японская, США) [28,29,30,31,178,200,215].

В ГФ XI издания включены 83 статьи на лекарственное растительное сырье, представленное следующими морфологическими группами: почки, коры, цветки, листья, травы и побеги, семена, плоды и подземные органы. Чаще всего применяются травы, подземные органы, плоды и листья (табл.1). В качестве сырьевых источников травы и побеги, листья, подземные органы составляют 30%, 19% и 18% (от общего количества), плоды 15%, цветки 11%, коры и семена 2,5% (каждая группа), почки 2%.

Таблица 1. Морфологические группы ЛРС, включенные в ГФ XI

Морфологическая группа ЛРС	Число видов ЛРС	Состав, %
Травы, побеги	22	30
Подземные органы	15	18
Листья	18	19
Плоды	13	15
Цветки	9	11
Коры	3	2.5
Семена	3	2,5
Почки	2	2

К медицинскому применению разрешены 83 фармакопейных вида лекарственного растительного сырья (ЛРС), среди которых 13 представлено плодами (ГФ XI):

- плоды аниса обыкновенного
- плоды тмина
- плоды укропа пахучего
- плоды фенхеля
- соплодия ольхи
- плоды боярышника
- плоды можжевельника
- плоды черники
- плоды черемухи
- плоды жостера слабительного
- плоды шиповника
- плоды рябины
- плоды калины

Анализ зарубежной нормативной документации показал, что наиболее широко морфологическая группа плоды представлена в ГФ республики Беларусь (10 видов), Украины (12 видов), Китая (13видов), Европейская фармакопея, т.6 (2008) и фармакопея USP XXXIII (1997) приводит 5 видов ЛРС, относящихся к морфологической группе плоды [27,187, 215].

Следует отметить, что плоды, используемые в качестве ЛРС, заготавливают от лекарственных растений (ЛР), относящихся к семействам: Розоцветные, Сельдерейные, Вересковые, Жимолостные, Крушиновые, Кипарисовые, Березовые, Лоховые, Бобовые, Астровые (табл. 2).

Анализ показывает, что большинство плодов лекарственных растений относятся к семействам Розоцветных и Сельдерейных - самым большим по численности в растительном мире согласно ботаническому классификатору [109,189].

Таблица 2. Характеристика плодов семейств лекарственных растений

Семейство	Наименование ЛРС	Содержание, %
Розоцветные (Rosaceae)	Плоды шиповника, боярышника, рябины обыкновенной, малины, аронии черноплодной, черемухи обыкновенной	25
Бобовые (Fabaceae)	Плоды сенны, софоры японской	15
Жимолостные (Caprifoliaceae)	Плоды калины	5
Сельдерейные (Apiaceae)	Плоды тмина, фенхеля, аниса, кориандра, укропа огородного, амми большой, пастернака посевного	25
Крушиновые (Rhamnaceae)	Плоды жостера слабительного	5
Вересковые (Ericaceae	Плоды черники	5
Кипарисовые (Cupressaceae)	Плоды можжевельника	5
Лоховые (Eleagnaceae)	Плоды облепихи крушиновидной	5
Березовые (Betulaceae)	Соплодия ольхи	5
Астровые (Asteraceae)	Плоды расторопши	5

В большинстве классификаций (Яковлев Г.П., Челомбитько В.А.) плоды обычно разделяют на простые, ложные и сборные [171]. *Простые* плоды образованы из одной завязи и состоят из околоплодника и заключенных в него семян (плоды черники, черемухи, боярышика и др.) *Ложные* плоды образованы завязью и другими частями цветка (плоды шиповника). *Сборные* плоды (или

сложные) образуются из нескольких пестиков (плоды малины) и состоят из многих мелких плодиков, которые также имеют околоплодник и заключенное в него семя. *Соплодия* образуются при срастании плодов из всего соцветия (соплодия ольхи) [81].

По консистенции околоплодника (перикарпия) выделяют сочные и сухие плоды. К сухим относят плоды из рассматриваемого семейства Сельдерейные: фенхель обыкновенный, анис обыкновенный, укроп огородный, кориандр посевной, тмин обыкновенный, амми большая [18]. Сочные плоды, разрешенные к медицинскому применению, заготавливают от ЛР семейств Розоцветных, Лоховых, Кипарисовых, Жимолостных, Вересковых, Крушиновых. Типы сочных плодов определяются развитием и строением. Выделяют *односемянные* плоды - костянки и *многосемянные* - ягода, яблоко (табл. 3) [12,147].

Таблица 3. Характеристика строения плодов

Типы плодов	Наименование ЛРС
Костянка	Плоды малины, жостера, черемухи, облепихи, калины
Яблоко	Плоды боярышника, аронии черноплодной, рябины обыкновенной
Ягода	Плоды можжевельника, черники
Цинародий	Плоды шиповника

Таким образом, проведенный системный анализ видов ЛРС показал разнообразие в строение, морфологии и таксономической принадлежности группы лекарственного растительного сырья «Плоды».

1.2. Химический состав плодов

Плоды – группа лекарственного растительного сырья, содержащая комплекс БАВ, определяющих его терапевтическую активность. Плоды являются источником получения и выделения витаминов: аскорбиновой кислоты, каротиноидов, группы В, Р, Е. В плодах накапливаются полифенольные

соединения разной структуры (флавоноиды, антоцианы, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты), полисахариды и органические кислоты и эфирные масла, а также макро и микроэлементы (табл. 4).

Органические кислоты составляют большую группу и играют 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 и противовоспалительным (бензойная, салициловая кислоты), желчегонным (яблочная, лимонная кислоты), потогонным (салициловая кислота), антиоксидантным (аскорбиновая кислота) и др. [10,94].

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 [51]. 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).

В плодах малины идентифицированы лимонная кислота, яблочная кислота, янтарная кислота, салициловая кислота. Содержание суммы свободных органических кислот достигает 7%. Благодаря наличию слабых органических кислот плоды способствуют сдвигу pH в щелочную сторону, выведению из организма солей мочевой кислоты, стимулируют мочеотделение, улучшают пищеварение [20].

Лимонная, яблочная, янтарная, хинная, щавелевая и молочная (0,90—1,28%) кислоты обнаружены в плодах черники. До 3% органических кислот содержатся в составе плодов калины (муравьиная, лимонная, яблочная, изовалериановая) [94].

Плоды шиповника, рябины обыкновенной и малины являются богатыми источниками аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота оказывает на организм человека многогранное воздействие. Повышая окислительно-восстановительные процессы в тканях, она играет важную роль в существовании барьерной функции кожи, способствует регенерации при различных

повреждениях, что объясняется её участием в ассимиляционных и диссимиляционных процессах; снижает меланогенез в эпидермисе, оказывает специфическое действие на стенки капилляров, стимулируя процесс синтеза проколлагена и превращая его в коллаген; способствует утилизации глюкозы, уменьшает тканевую проницаемость, подавляет гидролитические реакции, что играет немаловажную роль в регенерации ожогов [16].

Установлено, что кислота аскорбиновая оказывает бактерицидное действие на ряд микроорганизмов, что связанно со сдвигами в окислительно-восстановительном режиме [177].

Доказана роль кислоты аскорбиновой в процессе снижения холестерина и ослаблении развития атеросклероза.

Кислота аскорбиновая оказывает диуретический эффект, что объясняется её тормозящим влиянием на тканевую гиолуронидазу и приводит к понижению проницаемости канальцевой стенки и уменьшению реабсорбции воды. Помимо важных витаминных свойств, аскорбиновая кислота обладает выраженным противовоспалительным действием [134,223].

В плодах высоковитаминных видов шиповника ее содержание может достигать 5,5% . В плодах шиповника секции Canina, которые относят к низковитаминным, содержание аскорбиновой кислоты составляет 1-2% [71,94, 217].

Содержание аскорбиновой кислоты в плодах аронии сильно варьируется, и зависит от места и времени сбора, условий хранения, а также от места произрастания растения. Растения средней полосы России содержат большее количество витамина С – от 50 до 170 мг% в некоторых случаях. Произрастающая в Сибири черноплодная рябина содержит меньшее количество витамина: на Алтае 14 –28 мг%, на Среднем Урале 19-25 мг%.

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

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 [156].

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 гиполипидемическая активность полисахаридов шиповника и их способность оказывать влияние на адгезивность перитониальных макрофагов [47].

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 [104].

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 [11].

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% [42].

Значительное количество сахаров - до 6,5% содержат плоды калины. Кроме того, в плодах калины содержится до 2,5% пектиновых веществ, в состав которых входят галактоза, глюкоза, арабиноза, ксилоза, рамноза. Пектин 0,91%, протопектин 1,75% преимущественно локализованы в экзокарпии плодов. Пектин обладает отхаркивающим действием, снижает содержание холестерина в крови (антигиперхолестеринемическое), кровоостанавливающим, закрепляющим действием, адсорбирует токсины. Плоды аронии содержат до 10 % сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза), плоды черники содержат сахара: глюкозу, фруктозу, сахарозу (до 30%), пектины (0,14 – 0,69%) [69,71].

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. 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, гидроксилизином, ГАМК, лизином, гистидином. Плоды малины накапливают порядка 0,5 - 0,8% азотистых веществ. Аминокислотный состав плодов калины представлен серином, глутаминовой и аспарагиновой кислотами, аланином, аргинином, глицином, гистидином, изолейцином, лейцином, лизином, пролином и треонином [134].

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 [156,202].

Биофлавоноиды – это обширная группа фенольных соединений растительного происхождения, имеющих общую дифенилпропановую структуру и обладающих капилляроукрепляющей (так называемой Р-витаминной) активностью [1,7,135, 193,218].

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, биокверцетин, пиннатифидин, 8-метоксикемпферол. Преобладающим компонентом в сумме флавоноидов во всех случаях остается гиперозид. Содержание суммы флавоноидов в плодах боярышника находится в пределе от 0,057% до 0,085%, причем от 0,028% до 0,04% приходится на гиперозид [8,9,21,211].

Вещества с Р-витаминной активностью, сумма которых достигает 2 – 3 %, а иногда и 5% накапливаются в плодах аронии черноплодной. К ним относятся флавоноиды, такие как рутин, кверцетин, кверцитрин, гесперидин, катехины, цианидин и его гликозиды (цианидин-3-О-глюкозид). При этом содержание катехинов и антоцианов является примерно одинаковым (600 – 1500 мг%) при незначительном содержании флавоноидов [105,213].

Среди флавоноидных соединений в плодах калины обыкновенной содержатся астрагалин, аментофлавон и пеонозид, которые обладают Р-витаминной активностью (0,99-1,7%). Флавоноид аментофлавон (рис.10) обладает противовоспалительным и антибрадикинетическим действием [77].

Плоды черники обыкновенной богаты флавоноидами (4-6%), представленные преимущественно кверцетрином, рутином, кверцетином и астрагалином [20,44,52,105].

Содержание лейкоантоцианов в плодах различных видов боярышника колеблется от 400 до 1500 мг/100 г. Плоды боярышника кроваво-красного богаты также антоцианами (до 1200 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 [7].

Установлено, что основными антоцианами плодов рябины обыкновенной 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 [17,107,191].

В плодах различных видов шиповника идентифицированы цианидин-3-глюкозид, пеларгонидин-3,5-глюкозид, а также проантоцианидиновые производные (процианидины B1, B2, B3, B4) [209].

Антоцианы в плодах калины представлены цианидином, мальвинидином, дельфинидином (96 мг%-130 мг%) [137,201].

В плодах черники обыкновенной идентифицировано 14 антоцианов, представленных 3-О арабинозидами, 3-О-глюкозидами и 3-О-галактозидами пяти антоцианидинов: цианидина, дельфинидина, петунидина, пеонидина и мальвидина [22,225,227].

Существует много работ по изучению состава фенольных соединений плодов малины обыкновенной 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% [7,55,105,172,226].

Второй по значимости группой БАВ фенольной природы в плодах малины являются фенолкарбоновые кислоты. Доминируют среди них эллаговая, ферруловая, р-кумаровая и салициловая (плоды малины). В плодах боярышника фенолокислоты преимущественно представлены хлорогеновой и кофейной. В плодах рябины обыкновенной и аронии черноплодной, калины преобладают хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты. Суммарное содержание

фенолкарбоновых кислот в плодах фармакопейных видов шиповника составляет 1,39% [72,174].

Группа липофильных БАВ, содержащихся в исследуемых плодах, представлена, главным образом, тритерпеновыми соединениями, а также каротиноидами [56,172].

Из тритерпеновых соединений, присутствующих в плодах боярышника, отмечают, прежде всего, олеаноловую и маслиновую кислоты, находят также урсоловую, кратеговую, акантовую кислоты [43]. Содержание суммы тритерпеновых соединений в плодах различных видов боярышника колеблется от 1,8% до 3,1%. В шиповниках тритерпеновые вещества в основном накапливаются в листьях и корнях (производные урсоловой кислоты). Плоды калины содержат терпеноиды (тритерпеноиды): олеаноловую и урсоловую кислоты. Урсоловая кислота обладает противоопухолевым, диуретическим и противовоспалительным действием.

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 [136,156].

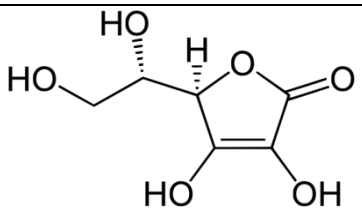
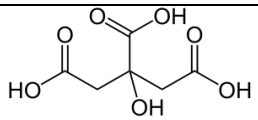
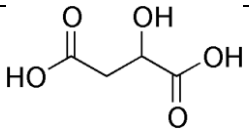
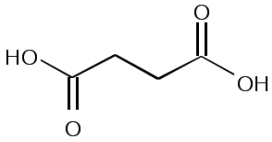
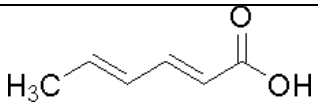
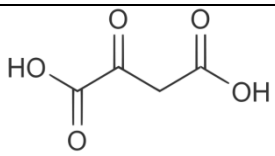
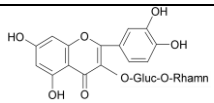
Известно, что содержание каротиноидов в плодах рябины обыкновенной может достигать 120 мкг на 1 г свежего материала, из которых 38% приходится на каротины. Позже исследователями было установлено, что основные компоненты каротиноидного комплекса рябины – α-каротин, β-каротин и его изомер, проликопин и γ-каротин. В плодах шиповника установлено наличие β-каротина, виолаксантина, антераксантина, зеаксантина, рубиксантина, ликопина, лютеина. Содержание каротиноидов в плодах различных видов боярышника колеблется от 2 до 13 мг/%, в плодах калины от 2 до 7 мг/% [57].

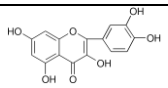
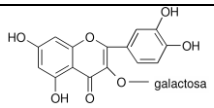
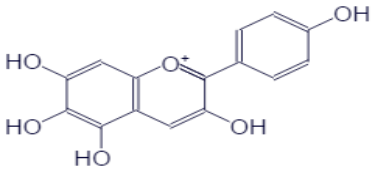
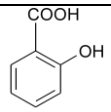
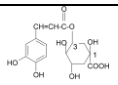
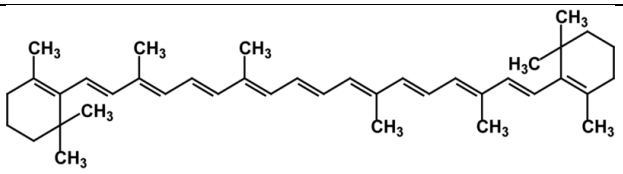
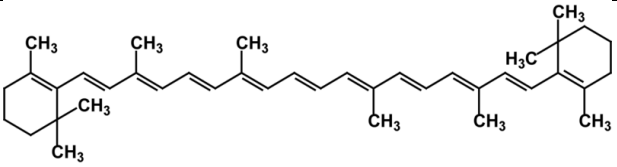
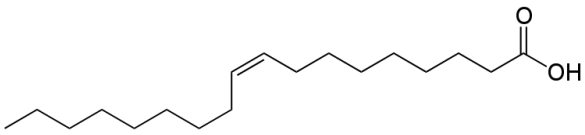
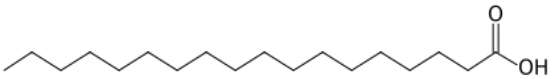
В плодах отмечено присутствие минеральных веществ. Известно, что плоды ЛР семейства Розоцветных являются источниками как макроэлементов — К, Ca, Mg, Fe, так и микроэлементов - Mn, Cu, Zn, Co, Cr, Al, Sc, Ni, Sr , Pb, B, Se [63].

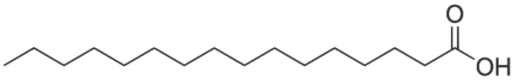
В плодах калины обыкновенной также высокое содержание макро- и микроэлементов: калия, кальция, магния, железа, меди, марганца (0,2 мг%), цинка (0,6 мг%); причем установлена способность плодов калины накапливать селен. Также в плодах содержатся никель, бром, стронций, свинец и йод.

Плоды черники обыкновенной содержат 6 мг% натрия, 51мг% калия, 16мг% кальция, 6 мг% магния, 13мг% фосфора, 7мг5 железа. 2мг% марганец [52].

Таблица 4. Химический состав плодов

Группа БАВ	Формула	Название ЛРС
Аскорбиновая кислота		Плоды шиповника, аронии, рябины обыкновенной
Лимонная кислота		Плоды шиповника, рябины, малины, черники
Яблочная кислота		Плоды шиповника, рябины, малины, черники
Янтарная кислота		Плоды малины, черники
Сорбиновая кислота		Плоды рябины обыкновенной
Щавелевая кислота		Плоды черники
Рутин		Плоды аронии

Кверцетин		Плоды арониии, шиповника, боярышника, рябины
Гиперозид		Плоды боярышника
Антоциан		Плоды черники, аронии
Салициловая кислота		Плоды малины
Хлорогеновая кислота		Плоды боярышника, калины, рябины, аронии черноплодной
Каротиноиды		Плоды шиповника, рябины обыкновенной, калины, боярышника
Жирные кислоты Линолевая Олеиновая Пальмитиновая	  	Плоды шиповника, рябины обыкновенной, калины, боярышника

Стеариновая		

1.3. Применение плодов в аллопатической медицине и гомеопатии

Широкий спектр фармакологических эффектов растительных препаратов, их эффективность, и одновременно низкая токсичность, позволяет конкурировать данным лекарственным средствам с их химическими аналогами. В связи с этим ассортимент лекарственных препаратов растительного происхождения на отечественном рынке постоянно расширяется [115, 224].

Плоды одна из морфологических групп ЛРС, которая достаточно широко используется в медицине. Плоды поступают в аптеку в фасованном виде для безрецептурного отпуска и приготовления водных и водно-спиртовых извлечений, входят в состав сборов, используются в гомеопатии. В соответствии с требованиями ГФ XI издания официально разрешено применение плодов как в высушенном, так и в свежем виде [30,31,33,46,170].

Свежие плоды аронии черноплодной в официнальной медицине применяются для получения сока как гипотензивное и капилляроукрепляющее средство при атеросклерозе и гипертонической болезни I – II степени; в качестве витаминного средства при Р - витаминной недостаточности, астении, гиповитаминозе и анемии используют таблетки из плодов черноплодной рябины, содержащие измельченный высушенный жом с примесью витамина С и витамина Р [60,114]. Также плоды черноплодной рябины входят в состав биологически активных добавок (БАД): «Арония черноплодная» (брикеты, гранулы, порошок, сырье растительное измельченное), «Гелиос плоды рябины черноплодной» (индивидуальное растительное сырье), «Сироп черноплодной рябины», «Сироп боярышника с черноплодной рябиной», «АДнорма» и «АДнорма форте» [116].

В ГНЦЛС г. Харькова были проведены доклинические исследования липофильного комплекса, выделенного из плодов черноплодной рябины. По результатам исследования было установлено, что полученный комплекс является малотоксичным и обладает выраженным иммуностимулирующим действием, за счет содержащихся в нем каротиноидов [41,54].

В современной медицине лекарственные препараты из плодов боярышника кроваво-красного (жидкий экстракт, настойка и отвар) применяются как сердечно - сосудистые средства. Их фармакологическая активность была подтверждена, и ее связывают с содержанием флавоноидных компонентов, в частности процианидинами [70,75,139,216].

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 экстракт из плодов и настойка из цветков в дозе 1 мл/кг. Экстракт плодов боярышника полностью предупреждает развитие аконитиновой аритмии у 100% животных [85,117,153].

Отмечают седативную активность препаратов боярышника. В эксперименте экстракт плодов боярышника сглаженного 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 [139].

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 [13,185,208].

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 [93].

Плоды шиповника коричного, рябины обыкновенной и калины обыкновенной являются широко известными поливитаминными средствами. За счет присутствия в химическом составе плодов калины фенолкарбоновых кислот отмечен потогонный и противовоспалительный эффект. В медицинских целях указанное растительное сырье применяется в виде отваров и входит в состав витаминных сборов. Из плодов шиповника также получают сироп и жидкий экстракт [34,71, 74,90].

За счет высокого содержания органических кислот плоды рябины обыкновенной, калины обыкновенной и низковитаминных видов шиповника усиливают секрецию и переваривающую способность желудочного сока, что наряду с желчегонным эффектом способствует улучшению пищеварения [48,104].

Масляные извлечения из плодов рябины и шиповника, содержащие значительные количества каротина и каротиноидов, оказывают ранозаживляющее, противовоспалительное действие [86,93,117,119].

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 [39,98,153].

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 [198].

На основе экстракта из плодов шиповника получен препарат Холосас, обладающий гепатопротекторными и желчегонными свойствами [65,93,113]. Кроме того, Холосас применяется как общеукрепляющее средство при астении и истощении, в том числе у детей, ослабленных после длительных и тяжелых заболеваниях. В некоторых исследованиях показано, что препарат обладает гиполипидемическим действием.

Китайскими исследователями подтверждены гиполипидемические свойства плодов шиповника, которые ученые связывают с высоким содержанием полисахаридов в указанном сырье [175,197].

Плоды калины обыкновенной содержат валериановую и изовалериановую кислоты, поэтому успокаивающе действуют на нервную систему (седативное средство), обладают спазмолитическими свойствами [49].

В официальной медицине высушенные плоды малины обыкновенной применяют в виде отвара как потогонное, противоспалительное средство, входят в потогонные сборы №1,2, витаминный сбор №7 [73,90,114]. Плоды малины входят в ряд биологически активных добавок: «Комплекс с каприловой кислотой», «Эф Си с Донг Ква», «Малина Ананас», «Сироп при простуде с малиной на фруктозе».

Из плодов малины обыкновенной получают сироп, который корригирует вкус лекарственных препаратов. В традиционной медицине данное растительное сырье используют для улучшения аппетита и деятельности кишечника; как противорвотное, гемостатическое средство при желудочных и кишечных кровотечениях, меноррагиях; при хроническом ревматизме и кори [76].

Также плоды малины обыкновенной применяются как антисклеротическое, противовоспалительное, жаропонижающее и высоковитаминное средство при гипертонической болезни, атеросклерозе и при простуде [35].

Недавние исследования показали, что эллаготаннины из плодов малины обладают профилактическим действием при желудочных воспалениях и поэтому могут быть использованы в составе лечебной диеты при язве желудка [186,208].

Официнально плоды черники обыкновенной применяются в виде отвара как вяжущее средство при острых и хронических желудочно-кишечных расстройствах; при воспалительных заболеваниях полости рта и глотки за счет присутствия в их состава дубильных веществ на основе галлокатехина [70,72,90].

Плоды черники обыкновенной используются для получения сухого экстракта, который применяется в качестве вяжущего, противовоспалительного средства. Вещества антоциановой природы и биофлавоноиды, содержащиеся в плодах, которые улучшают функциональное состояние сетчатки глаза при миопии за счет их антиоксидантной активности, позволяют использовать экстракт для профилактики и заболевании глаз. Сухой экстракт плодов черники входит в лекарственные препараты «Миртилен форте», «Стрикс» и ряд БАДов: «Черника экко плюс», «Черника с бета-каротином», «Черника с селеном», «Черника натуральная» [88,146,180].

1.4. Стандартизация плодов: характеристики подлинности и доброкачественности

Важным фактором, влияющим на эффективность и безопасность лекарственного растительного сырья, является его качество. В связи с этим вопросам стандартизации лекарственного растительного сырья, а также лекарственных средств растительного происхождения, в наше время придается большое значение [108,122].

Основным документом, регламентирующим качество ЛРС, является Государственная Фармакопея (ГФ). 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, не включенные в ГФ XI и XII изданий. В зарубежных странах требования к качеству ЛРС изложены в национальных фармакопеях данных государств.

Качество морфологической группы сырья «Плоды» регламентируется требованиями общей фармакопейной статьи (ОФС) «Плоды» и частными фармакопейными статьями на конкретное ЛРС. Подлинность и доброкачественность плодов определяется следующими разделами ОФС: «Внешние признаки», «Микроскопия», «Качественные реакции», «Гистохимические реакции», «Числовые показатели» [30].

В разделе «Внешние признаки» отмечены морфологические признаки, характеризующие подлинность плодов: форма, размеры, характер поверхности околоплодника, строение, цвет, запах и вкус. Приведены методики определения признаков [92].

Раздел «Микроскопия» представлен описанием анатомо-диагностических признаков плодов: строение околоплодника, наличие волосков, механических элементов, кристаллических включений.

В разделе «Качественные реакции» приведена техника и условия проведения реакции на группы БАВ или запасные питательные вещества.

Определение показателей качества плодов отмечено в разделе «Числовые показатели». В сырье регламентируется содержание БАВ, влажность, содержание золы общей и золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, измельченность и содержание примесей.

Как уже отмечалось ранее, плоды содержат комплекс БАВ и не всегда удается выявить доминирующую группу соединений, определяющих основной фармакологический эффект. Поэтому часто в различных нормативных документах стандартизацию ЛРС проводят по содержанию разных групп действующих веществ или стандартизация вообще не предусмотрена. Кроме того, во многих частных фармакопейных статьях отсутствуют важные разделы «Микроскопия», «Качественные реакции» с методиками и конкретизацией обнаружения группы БАВ или индивидуального соединения (табл. 5).

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 [27,31,66,124,178,187,215].

Таблица 5. Номенклатура плодов и характеристика нормативной документации

Название плодов, НД	Характеристики подлинности			Стандартизация по действующим веществам
	Внешние признаки	Микроскопия	Качественные реакции	
Плоды боярышника, ГФ XI, ФС №32	включены	включены	ТСХ (флавоноиды)	Сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид
Плоды черники, ГФ XI, ФС №35	включены	отсутствует	Реакции обнаружения: -антоцианов -дубильных веществ	отсутствует
Плоды шиповника, ГФ XI, ФС №38	включены	включены	отсутствуют	Аскорбиновая кислота
Плоды рябины обыкновенной, ГФ XI, ФС №39	включены	отсутствует	отсутствуют	отсутсвует
Плоды калины, ГФ XI, ФС №40	включены	включены	отсутствуют	отсутствует
Плоды аронии черноплодной свежие, ФС 42-66-87	включены	отсутствует	отсутсвуют	Р-витаминные вещества (флавоноиды)
Плоды малины, ГОСТ 3525-75.	включены	отсутствует	отсутсвует	отсутсвует

В РФ качество плодов шиповника коричного регламентируется статьей № 38 ГФ XI издания, в.2. 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, каротолин 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 [27,187,188,215].

Качество плодов рябины обыкновенной в России регламентируется 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%).

Единственным отечественным нормативным документом, регламентирующим качество плодов малины обыкновенной на данный момент является ГОСТ 3525-75. Указанный документ не предусматривает стандартизацию плодов малины по содержанию действующих веществ [24]. 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.

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 необходима своя база нормативных документов, поскольку химический состав, а значит и фармакологический эффект свежего сырья зачастую существенно отличается от высушенного [33,61,123,159].

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». Однако данные НД предусматривают оценку качества свежего сырья только по внешнему виду, запаху, вкусу, содержанию примесей и токсических элементов. Такая стандартизация не применима к лекарственному растительному сырью, используемому для изготовления лекарственных препаратов [26].

Постоянно повышающиеся требования к качеству растительного сырья и препаратов из него вызывают необходимость в дополнительных исследованиях с целью разработки новых, отвечающих современным требованиям нормативных документов, с включением более совершенных методов определения подлинности и доброкачественности, регламентирующих качество как свежего, так и высушенного лекарственного растительного сырья [69,84,169].

1.5. Методы анализа биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье

Для проведения качественной и количественной оценки химического состава ЛРС современная фитохимия использует современные инструментальные методы анализа [163].

Одним из наиболее простых и эффективных методов разделения и анализа биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье является хроматография. Она обладает высокой избирательностью и чувствительностью, позволяет провести идентификацию компонентного состава и определить содержание биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье и препаратах.

В фитохимическом анализе чаще всего используют тонкослойную, газожидкостную, ионообменную и высокоэффективную жидкостную хроматографию.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) применяется, в основном, для изучения качественного состава БАВ растений [19,58,165,222]. Основана на различии в скорости перемещения компонентов смеси в плоском тонком слое сорбента при их движении в потоке подвижной фазы (элюента). В качестве сорбентов используют силикагель, Al_2O_3, целлюлозу, крахмал, полиамид. Элюентами служат обычно смеси органических растворителей, водных растворов кислот, солей, а также газов. В зависимости от состава подвижной и неподвижной фаз в разделении веществ играют роль процессы адсорбции, экстракции, ионного обмена, комплексообразования или нескольких механизмов одновременно [179].

В настоящее время разработано большое количество методик ТСХ-анализа флавоноидов, органических кислот, сахаров, аминокислот, тритерпеновых производных и других природных соединений [15]. На некоторые виды ЛРС тонкослойная хроматография включена в фармакопейные статьи (раздел «качественные реакции») для подтверждения подлинности: в фармакопейную статью на плоды рябины (изменение №2 от 25.06.1997) включена методика ТСХ-идентификации тиамина, рибофлавина и аскорбиновой кислоты; на плоды боярышника (ГФ XI, ФС №32) ТСХ-методика обнаружения гиперозида.

Одним из самых перспективных на сегодняшний день хроматографических методов является, бесспорно, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Поскольку метод ВЭЖХ совмещает в себе этап разделения, и этап собственно регистрации сигнала веществ, он является важнейшим для

многокомпонентного определения соединений, часто различной природы, при совместном присутствии в сложных матрицах. Сегодня высокоэффективная жидкостная хроматография по темпам развития вышла на первое место среди инструментальных методов анализа [100,106,130,207,212].

Методик качественного и количественного ВЭЖХ-анализа БАВ в лекарственном растительном сырье великое множество. Так, например, разработан метод определения каротиноидов и хлорогеновых кислот в плодах рябины с помощью ВЭЖХ. Также существуют методики количественного ВЭЖХ определения аскорбиновой кислоты, органических кислот, фенолкарбоновых кислот и сахаров в плодах шиповника, черники качественного ВЭЖХ-анализа антоцианов в плодах малины, черники, определения индивидуальных флавоноидов – гиперозида, рутина, витексина-2-рамнозида в плодах боярышникаи рутина, кверцетина, фенолкарбоновых кислот в плодах шиповника [62,111,120,131,195].

Широкое применение в анализе лекарственного растительного сырья получил метод спектрофотометрии. Разработаны методики спектрофотометрического количественного определения дубильных веществ, флавоноидов, антоцианов, сахаров, аминокислот [95,99,112,121].

Принцип спектрофотометрического метода определения основан на способности биологически активных веществ или их окрашенных продуктов реакции поглощать монохроматический свет при определенной длине волны. Метод является достаточно точным, воспроизводимым, относительная ошибка единичного определения не превышает 2% [59,134].

Собственно количественный анализ предопределяет очистка с целью выделения нужной фракции биологически активных веществ, проводимая хроматографическими методами или получением окрашенного комплекса флавоноидов с $ALCL_3$, который сдвигает максимум поглощения в более длинноволновую область (409-430 нм), где сопутствующие вещества не мешают определению [79,143].

Количественное содержание суммы антоцианов в плодах черноплодной рябины проводят методом спектрофотометрии в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид, основываясь на оптических свойствах антоцианов и их способности поглощать в УФ- и видимой области спектра и давать пик при длине волны 534 нм. Разработаны и адаптированы спектрофотометрические методики определения содержания суммы антоцианов в плодах черники относительно цианидин-3,5-дигликозида (510-520 нм) [44,80,91,173,192].

Известные методики спектрофотометрического определения дубильных веществ основаны на измерении оптической плотности окрашенных продуктов взаимодействия катехинов с железотартратным реактивом в присутствии 0,1М фосфатного буфера с pH 8,2 или окрашенных комплексов таннинов с молибдато-вольфрамовым реактивом в присутствии натрия карбоната (реактив Фолина-Дениса).

Титриметрические методы анализа по точности и селективности существенно уступают современным инструментальным методам. В то же время они намного проще и дешевле последних. Титриметрия не требует дорогостоящего оборудования и легко воспроизводится в лабораторных условиях. По этим причинам данный метод не потерял актуальности в анализе БАВ лекарственных растений и в наше время [99,121].

Методом пермангонатометрического титрования проводят количественное определение дубильных веществ. Этот метод фармакопейный, он описан в общей статье ГФ XI «Определение дубильных веществ в лекарственном растительном сырье». Методика основана на окислительно-восстановительных свойствах определяемых соединений: первую очередь будут окисляться производные пирокатехина и пирогаллола (соединения, входящие в состав дубильных веществ). Титрование ведется перманганатом калия в присутствии индикатора – индигосульфокислоты. Параллельно ставят контрольный опыт.

Кроме дубильных веществ, титрованием определяют количественное содержание свободных органических кислот и аскорбиновой кислоты. Содержание аскорбиновой кислоты определяют согласно методике, приведенной

в ГФ XI издания вып.2. ст. 38 «Плоды шиповника». Титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия. Также возможно проводить количественное определение аскорбиновой кислоты следующими методами: йодатометрия (титрант – йодат калия, индикатор – крахмал), йодометрия (титрант – раствор йода, индикатор – крахмал, методика включена в Европейскую фармакопею, 2008), йодхлорметрия (титрант – раствор хлорида йода, индикатор – крахмал) [187,196].

В последнее время все чаще для определения содержания БАВ в лекарственном растительном сырье стали применяться электрохимические методы – кулонометрическое титрования и потенциометрию [2,78].

Описана методика потенциометрического титрования дубильных веществ. В отличии от классической перманганатометрии, указанная методика предполагает pH-метрическую фиксацию конечной точки титрования, что исключает необъективность результатов за счет человеческого фактора.

Также известна возможность потенциометрического определения суммы свободных органических кислот в ЛРС. В качестве титранта используется 0,1М раствор едкого натра. Титрование необходимо проводить с помощью микробюретки для точной регистрации pH раствора и определения точки эквивалентности. Методика валидирована и разработана для количественной оценки органических кислот в плодах шиповника и рябины обыкновенной.

Перспективность кулонометрического метода определения обусловлена простотой аппаратурного оформления, возможностью обеспечения 100% выхода по току, большим числом электрогенерируемых титрантов и, как следствие широким кругом определяемых веществ. Основными контролируемыми параметрами в данном случае являются время и сила тока. Имеющиеся в настоящее время приборы и устройства позволяют автоматически измерять эти параметры с очень высокой точностью. На одной и той же установке можно проводить как кислотно-основное, так и окислительно-восстановительное титрование, меняя лишь состав фонового электролита в кулонометрической ячейке. Во всех вариантах гальваностатической кулонометрии конечную точку

титрования можно устанавливать различными методами: визуально, биамперометрически, бипотенциометрически, pH-метрически, фотометрически.

Из данных литературы известны методики кулонометрического определения содержания свободных органических кислот, аскорбиновой кислоты, арбутина, дубильных веществ [3,5].

1.6. Способы консервации лекарственного растительного сырья

Плоды – лекарственное растительное сырье, которое в связи с большим содержанием влаги хранить затруднительно в свежем виде. Свежее растительное сырье отличается ограниченными сроками хранения (согласно инструкции по заготовке срок хранения свежего сырья составляет не более 3-х суток), так как в нем протекают физические, химические и биологические процессы. Вследствие воздействия таких процессов ЛРС невозможно использовать в медицинской и фармацевтической практике [45,50,82].

Физические процессы возникают в плодах 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 плодов [210].

Химические процессы, происходящие в лекарственном сырье, связаны с потерей или изменением биологически активных веществ, содержащихся в нем. Это неминуемо ведет к снижению, а иногда к полному исчезновению фармакологической активности данного сырья [87].

Биологические процессы могут быть вызваны развитием микроорганизмов или воздействием на плоды насекомых, грызунов. К этим процессам относится брожение, заплесневение и гниение.

Для замедления процессов разрушения БАВ и снижения фармакологической активности ЛРС прибегают к консервированию [84,97].

Целью консервирования является получение продукта, способного храниться длительное время без значительных изменений качества. Существует несколько способов консервирования, но при любом из них создаются такие условия, когда полностью прекращается или в значительной степени замедляется действие микроорганизмов.

Традиционным методом консервирования ЛРС является сушка [110]. Более 85% лекарственного растительного сырья, включенного в ГФ XI издания, после процесса заготовки подвергается высушиванию. Сушка лекарственного растительного сырья — сложный биохимический процесс, который должен обеспечить сохранность не только внешних признаков, но и биологически активных веществ в сырье. Сушку можно рассматривать как наиболее простой, экономически целесообразный метод консервирования лекарственного сырья. С точки зрения термодинамики это процесс взаимодействия влажного материала (лекарственного сырья) и теплоносителя (нагретого воздуха).

Сушка основана на уменьшении влаги в сырье, что приводит к ограничению роста микроорганизмов. Для жизнедеятельности микроорганизмов необходима влага: 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.

Для получения высушенного лекарственного растительного сырья, в котором максимально сохранены все БАВ и нативные свойства, большое значение имеет технология сушки и ее параметры. Известные способы сушки плодового сырья обладают рядом существенных недостатков: длительность и неравномерность сушки, потери биологически активных веществ, ухудшение органолептических и физико-химических показателей. В последние годы для интенсификации процесса сушки растительного сырья стали использовать токи высокой и сверхвысокой

частот, инфракрасный нагрев, ультрафиолетовые лучи, ультразвук, ионизирующее излучение и др.

Перспективна ультразвуковая «безвакуумная» сублимационная сушка в потоке инертного газа, которая позволяет ускорить процессы тепломассообмена, без существенного повышения температуры сырья, что особенно важно при сушке легкоокисляющихся, термочувствительных материалов [6].

В пищевой промышленности существуют другие способы консервации охлаждение и замораживание [35,37,68]. Сущность этих методов консервирования в том, что при низких температурах подавляется жизнедеятельность микроорганизмов, снижается активность ферментов, замедляется протекание биохимических реакций. При пониженных температурах, характерных для охлаждения, в плодах и овощах продолжают протекать, хотя и медленно, процессы дыхания, которые позволяют им сохраняться свежими в течение нескольких недель и даже месяцев Охлаждение осуществляют с помощью искусственного или естественного холода [36,89,183,203,219]. При хранении в ледниках или камерах с искусственным холодом температура продукта снижается до 0°С (с колебаниями ±2—3°С). При этой температуре не происходит замерзание клеточного сока.

Замораживание — это способ консервирования, при котором используются низкие температуры, обеспечивающие полное или частичное превращение клеточного сока в лед [157]. Чем быстрее осуществляется процесс замораживания и чем ниже достигаются при этом температуры, тем лучше качество замороженного продукта. При замораживании происходит почти полное прекращение деятельности микроорганизмов, многие из них погибают. Безусловно, полной гибели всех микроорганизмов при этом не происходит. Некоторые из них сохраняют целость, а отдельные способны образовывать споры и сохранять свою жизнеспособность. При замерзании клеточного сока внутри и вне клеток образуются кристаллы льда, которые приводят к механическим повреждениям оболочки. При повышении температуры целые микроорганизмы снова развиваются, и это может привести к порче продукта. При хранении

замороженных продуктов необходимо строго контролировать температуру хранения, обеспечивать хорошее санитарное состояние в подготовительных помещениях и камерах и использовать для замораживания только высококачественное сырье [64,67,133,184].

Подавление жизнедеятельности микроорганизмов заключается в том, что в замороженных пищевых продуктах большая часть влаги превращена в твердое состояние и микроорганизмы, которые питаются осмотическим путем, лишаются возможности использовать отвердевшие пищевые продукты. Из-за отсутствия жидкой фазы прекращается деятельность ферментов, вследствие чего приостанавливаются биохимические процессы. Общепринятый температурный уровень, до которого доводят почти все замораживаемые продукты, составляет — 18°С, тогда как для некоторых пищевых продуктов криоскопическая температура бывает — 2°С [167,168].

1.7. Перспективы использования замороженного лекарственного растительного сырья в аллопатической медицине и гомеопатии

Замораживание – способ консервации, эффективность которого подтверждается многолетним опытом использования в пищевой промышленности. Большое количество нормативных документов (ГОСТы, ТУ и т.д.), а также многочисленные научные исследования по оценке влияния замораживания на качество плодово-ягодной продукции позволяют с уверенностью утверждать о перспективности низкотемпературного метода консервации пищевого растительного сырья [14,21,154,205].

Однако сведений о применении замороженного лекарственного растительного сырья в медицинской практике и фармации очень мало и часто они весьма противоречивы.

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 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 неотапливаемых 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.

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 [158].

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 сушки и замораживания на содержание четырех основных групп биологически активных веществ (БАВ) в плодах лимонника: фенольных соединений, антоцианов, органических кислот и окисляемых веществ. Установлено, что в процессе искусственной сушки количества окисляемых веществ, антоцианов и

органических кислот снижаются от 5 до 19%, показатель суммы фенольных соединений возрастает на 12 – 14%. Замораживание также 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 веществ происходит на 11-25% относительно содержания в свежих плодах [144,145].

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 С° в течение 3-х суток [164].

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 -18ºС и ниже [178,188,219,220].

При этом большинство зарубежных исследований по разработке эффективного метода консервации растительного сырья ведутся, главным образом, в отношении лиофильной сушки, а не замораживания. Лиофильная сушка является наиболее щадящим и действенным способом сохранения качества ЛРС. Однако сложность и высокая стоимость оборудования для проведения данной процедуры вряд ли позволит конкурировать ей с более дешевыми и общедоступными методами консервации, каковыми являются сушка и замораживание.

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, позволяющие максимально сохранить его полезные свойства на продолжительный срок, могут стать эффективным решением данной проблемы [151].

Основные требования к технологии получения и показателям качества гомеопатических препаратов, а также исходного сырья для их получения регламентируются в различных странах гомеопатическими фармакопеями или отдельными монографиями, входящими в национальные фармакопеи этих государств [128,150].

Для высушенного ЛРС (плодов, трав, листьев, цветков, кор, подземных органов) требования к качеству сырья для получения гомеопатических и аллопатических лекарственных препаратов совпадают.

Качество свежего ЛРС для гомеопатических целей регламентируется статьей «Herbal drugs for homoeopathic preparations» Европейской Фармакопеи. В соответствии с данной монографией, свежее растительное сырье должно быть переработано сразу после сбора. При необходимости транспортировки или длительного хранения свежий растительный материал может быть заморожен или заспиртован в 96% этаноле. Таким образом, применение замороженного ЛРС в зарубежной гомеопатии официально разрешено.

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. Однако вопросов стандартизации и использования замороженного сырья указанный документ не касается [101].

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.*) [148].

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.

В работе Исаевой Н.В., посвященной фармакогностическому изучению лекарственного растительного сырья и матричных настоек барбариса обыкновенного, 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 [53].

1.8. Выводы к главе 1

1. Анализ литературных данных показывает, что большинство видов ЛРС морфологической группы плоды заготавливают от лекарственных растений семейства Розоцветные.

2. Плоды содержат большой комплекс биологически активных веществ, что объясняет широкий спектр фармакологического действия данного растительного сырья.

3. Существует необходимость в совершенствовании нормативной документации, регламентирующей качеств плодов, а также ее гармонизации с ведущими мировыми фармакопеями.

4. Изучение влияния сушки и замораживания на химический состав БАВ плодов требует теоретического и экспериментального обоснования, позволяющего научно обосновывать применение наиболее перспективного метода консервации.

5. Актуален вопрос разработки и стандартизации лекарственных препаратов из свежих и замороженных плодов.

6.Проведенные информационно-аналитические исследования показывают перспективность замораживания как метода консервации свежего ЛРС. Системные исследования о влиянии низких температур на состав метаболома ЛРС не проводились.

Глава 2. Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили:

- образцы свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall), рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.), аронии черноплодной (Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott), малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.), шиповника коричного (*Rosa cinnamomea* L.), калины обыкновенной (*Viburnum opulus* L.) и черники обыкновенной (Vaccinium myrtillus L.), собранные в 2010 – 2013 гг. на территории Ботанического сада Первого МГМУ им. И. М. Сеченова и Московской области (Истринский, Щелковский, Дмитровский районы).

Сушку исследуемых образцов проводили в сушильном шкафу при температуре 60 – 80 ºС согласно инструкции по заготовке и сушке ЛРС. 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.

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

- отвары из плодов изучаемых объектов, изготовленные согласно общей фармакопейной статье ГФ XI изд., в.2 «Настои и отвары».
- жидкие экстракты из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной и калины обыкновенной, полученные в соответствии с требованиями общей статьи ГФ XI, в.2, стр.160-161 «Экстракты». Жидкие экстракты изготавливали методом перерколяции в соотношении сырье –

экстрагент 1:1 с концентрацией этилового спирта 70% (для плодов боярышника) и 30% (для плодов рябины и калины).

- настойки гомеопатические матричные из свежих и замороженных плодов боярышника кроваво-красного, изготовленные по методу 2 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные» с использованием в качестве экстрагента 90% (об.) этилового спирта;
- настойка гомеопатическая матричная из высушенных плодов боярышника кроваво-краского, полученная методом 4 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные», в качестве экстрагента использовали 70% (об.) этиловый спирт.
- настойки гомеопатические матричные из свежих и замороженных плодов рябины обыкновенной, изготовленные по методу 2а ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные» с использованием в качестве экстрагента 70% (об.) этилового спирта;
- настойка гомеопатическая матричная из высушенных плодов рябины обыкновенной, полученная методом 4 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные» с использованием в качестве экстрагента 70% (об.) этиловый спирт.

Морфолого-анатомическое изучение проводили по методикам, изложенным в общих статьях ГФ XI изд. Макроскопический анализ проводили в соответствии с разделом «Методы анализа лекарственного растительного сырья», статья «Плоды» (ГФ XI, вып.1, с.258). Микроскопический анализ проводили в соответствии со статьей «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья» (ГФ XI, вып.1, с.277). Применялся микроскоп марки МБИ-6 с окуляром х7 и объективами х10; х20; х40. Фотосъемку производили на цифровую камеру Panasonic DMC-LS75.

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».

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.

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

Изучение состава органических кислот и фенольных соединений в образцах сырья, а также в матричных настойках из плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной проводили методом тонкослойной хроматографии. В качестве неподвижной фазы использовали пластинки с силикагелем «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» 10х15 (Россия). 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), вода - муравьиная кислота безводная - этилацетат (5:10:85), толуол – метиловый спирт – кислота уксусная ледяная (90 : 16 : 4), н-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода (9:1:0,5).

В качестве стандартных образцов в работе были использованы коммерчески доступные индивидуальные вещества: аскорбиновая кислота («Fluca»), лимонная кислота («Fluca»), яблочная кислота («Fuco Chemical Co., Ltd.»), щавелевая кислота («Sigma – Aldrich»), сорбиновая кислота («Sigma – Aldrich»), янтарная кислота («Merck»), салициловая кислота («Sigma – Aldrich»), галловая кислота («Acros»), кофейная кислота («Sigma – Aldrich»), хлорогеновая кислота («Sigma – Aldrich»), рутин («Fluca»), кверцетин («Sigma – Aldrich»), гиперозид («Fluca»).

Для подтверждения данных ТСХ проводили идентификацию соединений методом ВЭЖХ. В работе использовали жидкостной хроматограф фирмы «Gilston» (Франция) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «Мультихром» для «Windows». В качестве неподвижной фазы были использованы металлическая колонка размером

6,5 х300мм «Altech OA-1000 Organic Acids» (для органических кислот) и металлическая колонка 4,6 х250мм «Platinum EPS C-18 100A» (для флавоноидов и фенолкарбоновых кислот). Подвижная фаза: 0,01н раствор серной кислоты для органических кислот и система метанол-вода-фосфорная кислота (конц.) в соотношении – 40:60:0,5 для флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. Анализ проводили при комнатной температуре, скорость подачи элюента -1мл\мин. Детектирование проводили с помощью УФ-детектора при длине волн 190 и 254 нм соответственно.

Определение содержания аскорбиновой кислоты и суммы органических кислот проводили титтриметрическим методом по методикам ГФ XI изд., а также использовали метод гальваностатической кулонометрии на кулонометре «Эксперт-006» («Эконикс-Эксперт», Россия) при силе тока 5 мА. Содержание свободных органических кислот определяли титрованием электрогенерированными гидроксид-ионами с pH-метрической фиксацией конечной точки титрования. Количественную оценку аскорбиновой кислоты проводили титрованием электрогенерированным йодом. Конечную точку титрования определяли биамперометрически.

Определение содержания суммы флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии по методикам, изложенным: в изменении №3 к статье 32 ГФ XI изд., в.2, стр.283 «Плоды боярышника» для плодов и препаратов боярышника и рябины обыкновенной; ФС 42-66-87 «Арония черноплодная» для плодов аронии черноплодной; в статье 52 ГФ XI изд., в.2 «Трава зверобоя» для плодов шиповника. УФ-спектры регистрировали с помощью спектрофотометра Cary Varian 4000 ("Agilent Technologies, США).

Сумму антоцианов в плодах и препаратах малины определяли в соответствии со статьей 6 ГФ XI изд., в.2 «Цветки василька синего» и монографией Европейской фармакопеи (т.6, 2008) для плодов черники и аронии. Суммарную концентрацию антоцианов определяли относительно цианидин-3,5-дигликозида, спектр которого близок к спектральным характеристикам водно-спиртового извлечения из малины (510-520 нм) и относительно цианидин–3–О–гликозида,

максимум поглощения которого составляет 534нм для плодов аронии и черники. При проведении спектрального анализа исследуемых соединений использовали UV-Vis спектрофотометр Agilent 8453 (США) с диапазоном длин волн от 190 до 700 нм.

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, с помощью программы Microsoft Excel, объем выборки составлял 5 образцов.

$$X = \frac{\sum_i^n x_i}{n}$$

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

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$x \pm x\Delta = x + \frac{f(t,p) \cdot S}{\sqrt{n}}$$

$$E = \frac{x\Delta}{x} \cdot 100$$

где n – объем выборки,

F – число степеней свободы.

p - 95% - доверительная вероятность

t – критерий Стьюдента,

x ± xΔ - граничные значения доверительного интервала.

E – относительная ошибка определения.

Глава 3. Изучение влияния способов консервации на качественный состав биологически активных веществ в плодах

Проведенные информационные исследования выявили, что значительную часть БАВ плодов составляют дубильные вещества, органические кислоты, фенольные соединения, полисахариды, аскорбиновая кислота, определяющие фармакологическую эффективность лекарственного растительного сырья и его применение в медицине.

3.1. Изучение аскорбиновой кислоты в свежих, замороженных и высушенных плодах

Качественное обнаружение кислоты аскорбиновой проводили методами тонкослойной (ТСХ) и высокоэффективно-жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Для проведения анализа готовили водные извлечения из плодов : 1,0г измельченного сырья (гомогенизированная взвесь из замороженных и свежих плодов) заливали экстрагентом (вода) в соотношении 1:10 и настаивали при комнатной температуре в течение 1-2 часов. Полученные извлечения фильтровали и подвергали анализу.

В ходе ТСХ-анализа была проведена работа по выбору оптимальных условий хроматографирования, позволяющих разделить и идентифицировать БАВ в свежих, замороженных и высушенных плодах. Хроматографическое разделение проводили на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» размером 10х15 см. Насыщение хроматографической камеры парами растворителя проводили в течение 1 часа.

Для обнаружения аскорбиновой кислоты использовали систему растворителей этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20). Детектирование проводили раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия. Аскорбиновая кислота проявлялась в виде белых пятен на розовом фоне с Rf около 0,62 на уровне пятна

свидетеля аскорбиновой кислоты. Зоны адсорбции аскорбиновой кислоты присутствовали в извлечениях всех объектов исследования, однако в свежих и замороженных плодах шиповника и рябины они были более интенсивными (Рис. 1, 2).

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

Органические кислоты являются одной из наиболее распространенных групп БАВ в растительном сырье. В плодах, согласно данным литературы, органические кислоты являются одной из доминирующих групп БАВ.

Качественный анализ органических кислот в исследуемых образцах сырья проводили методом тонкослойной хроматографии [15].

В качестве неподвижной фазы использовали пластинки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» размером 10х15 см, 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 изучаемых объектов. В качестве стандартных образцов (свидетелей) использовали водные растворы яблочной, лимонной, щавелевой, янтарной 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 определялось 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 105ºС в течение 5 минут. Зоны адсорбции проявлялись в виде желтых и голубых пятен на синем фоне (Рис.3, 4).

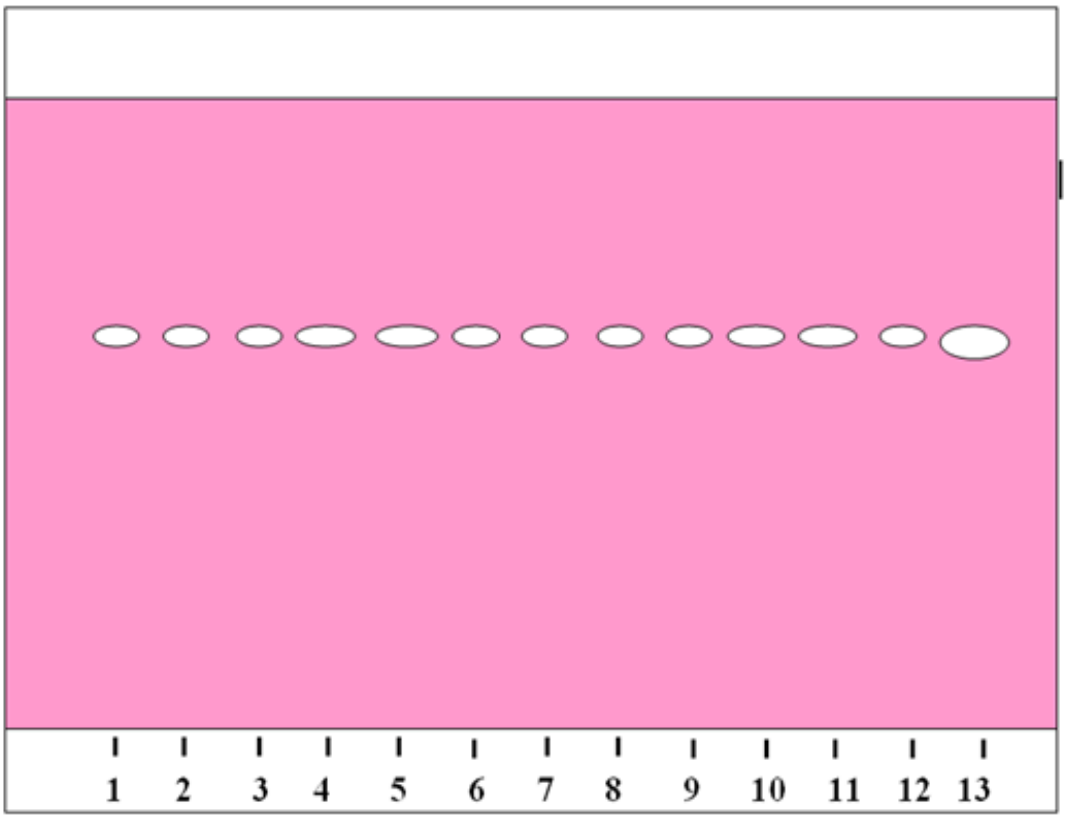
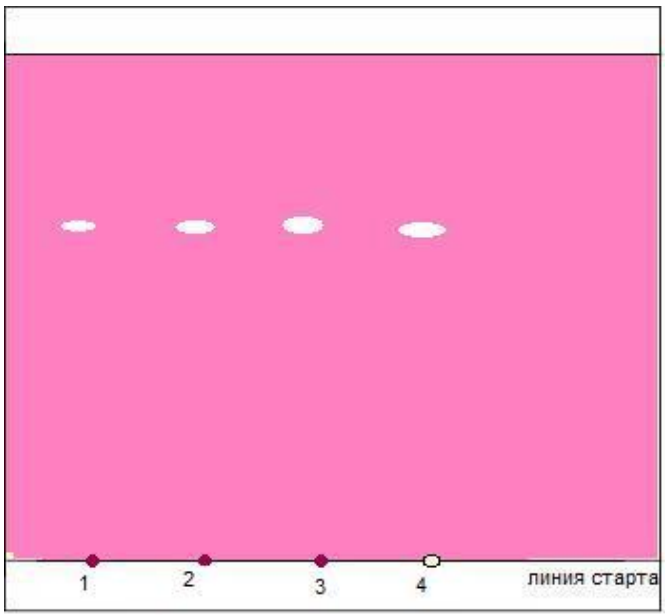


Рис.1. Схема хроматограммы аскорбиновой кислоты: 1-свежие плоды малины, 2 –высушенные плоды малины;3 –замороженные плоды малины; 4-свежие плоды шиповника; 5- высушенные плоды шиповника; 6-замороженные плоды шиповника; 7-свежие плоды рябины; 8-высушенные плоды рябины; 9- замороженные плоды рябины; 10-замороженные плоды калины; 11-высушенные плоды калины; 12-замороженные плоды боярышника;13-РСО аскорбиновой кислоты (R_f около 0,62).



1 – свежие плоды аронии

2 – замороженные плоды аронии

3 – высушенные плоды аронии

4 – РСО аскорбиновой кислоты (R_f около 0,62)

Рис. 2. Схема хроматограммы аскорбиновой кислоты плодов аронии черноплодной

Во всех изучаемых объектах присутствовали зоны с Rf около 0,10 (лимонная кислота) и 0,30 (яблочная кислота). Причем зоны с Rf около 0,30 были наиболее интенсивными.

Извлечения из плодов малины обыкновенной дополнительно характеризовались зоной с Rf около 0,39 (янтарная кислота), извлечения из плодов черники обыкновенной зоной с Rf около 0,05 (щавелевая кислота), а на хроматограммах плодов шиповника коричного проявлялась зона адсорбции с Rf около 0,83 (аскорбиновая кислота). В плодах рябины обыкновенной было выявлено наличие сорбиновой кислоты (Rf около 0,50) (табл. 6).

Зоны с Rf 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.

С целью установления природы соединений, проявлявшихся в виде голубых зон адсорбции с Rf 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 об их принадлежности к веществам аминокислотного характера.

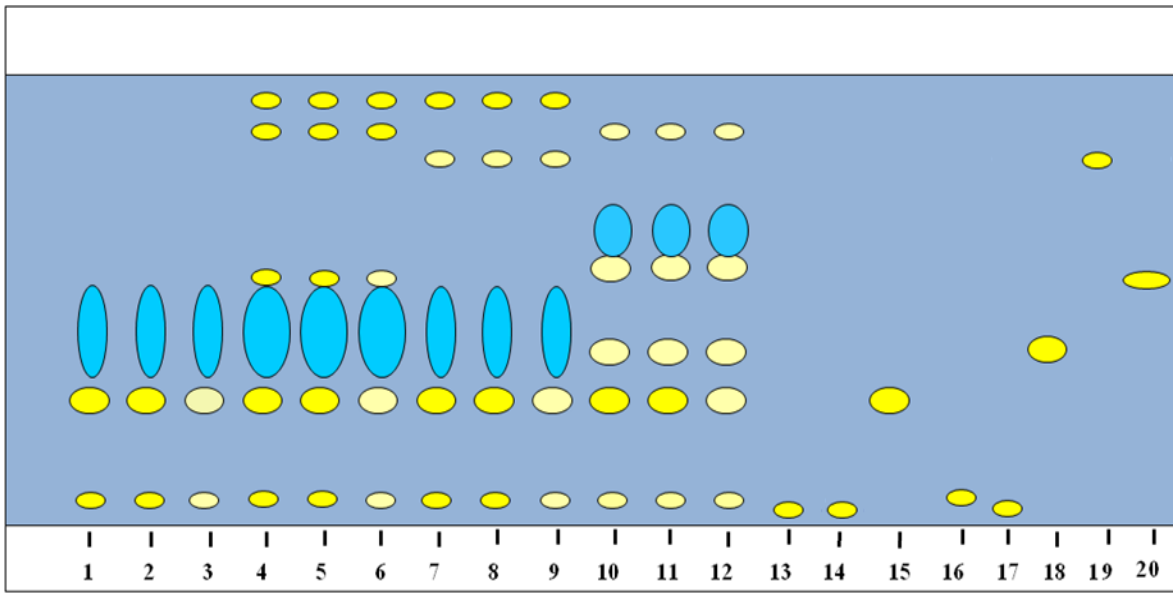
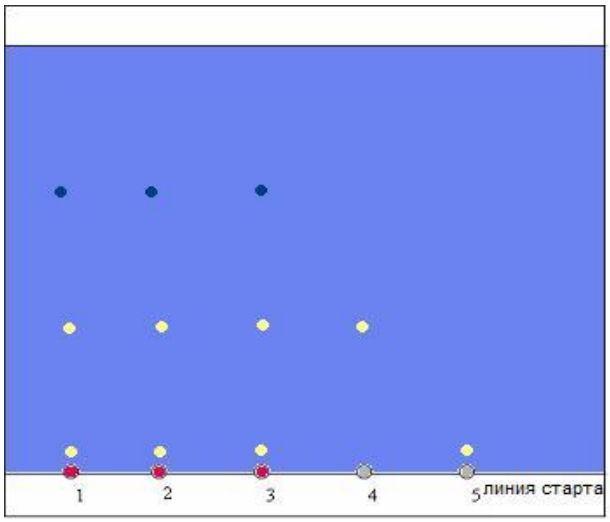


Рис.3. Схема хроматограммы органических кислот в исследуемых образцах сырья.

1 – свежие плоды боярышника; 2 – замороженные плоды боярышника;3 – высушенные плоды боярышника; 4 – свежие плоды рябины; 5 – замороженные плоды рябины; 6 – высушенные плоды рябины; 7 – свежие плоды шиповника; 8 – замороженные плоды шиповника; 9 – высушенные плоды шиповника; 10 – свежие плоды малины; 11 – замороженные плоды малины; 12 – высушенные плоды малины; 13 – высушенные плоды черники;14 – замороженные плоды черники; 15 – СО яблочной кислоты (Rf около 0,30); 16 – СО лимонной кислоты (Rf около 0,10); 17 – СО щавелевой кислоты (Rf около 0,05); 18 – СО янтарной кислоты (Rf около 0,39); 19 – СО аскорбиновой кислоты (Rf около 0,83); 20 – СО сорбиновой кислоты (Rf около 0,50).



1 – свежие плоды аронии

2 – замороженные плоды аронии

3 – высушенные плоды аронии

4 – РСО яблочной кислоты (Rf около 0,30)

5 – РСО лимонной кислоты (Rf около 0,10)

Рис. 4. Схема хроматограммы органических кислот в плодах аронии черноплодной

Таблица 6. Результаты хроматографического анализа органических кислот

Обнаруженные соединения	Значения Rf	Виды ЛРС
Лимонная кислота	0,10	плоды боярышника, плоды рябины, плоды шиповника, плоды малины, плоды калины, плоды черники, плоды аронии
Яблочная кислота	0,30	плоды боярышника, плоды рябины, плоды шиповника, плоды малины, плоды калины, плоды черники, плоды аронии
Щавелевая кислота	0,05	плоды черники
Сорбиновая кислота	0,50	плоды рябины
Янтарная кислота	0,39	плоды малины
Аскорбиновая кислота	0.62	плоды боярышника, плоды рябины, плоды шиповника, плоды малины, плоды калины, плоды черники, плоды аронии

Изучение состава органических кислот методом ВЭЖХ

Для подтверждения результатов ТСХ-анализа проводили идентификацию соединений методом ВЭЖХ. В работе использовали жидкостной хроматограф фирмы «Gilston» (Франция) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «Мультихром» для «Windows». В качестве стандартов использовали рабочие стандартные образцы (РСО) органических кислот (лимонной, яблочной, сорбиновой, аскорбиновой, янтарной, щавелевой).

В основу исследований положена методика, описанная в «Руководстве по методам анализа контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище, Р.4.1. 1672-03» [118].

Полученные хроматограммы представлены на рисунках 5-9.

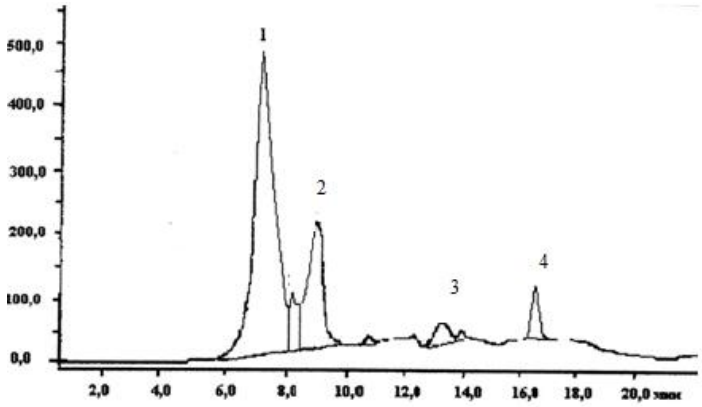


Рис.5. ВЭЖХ органических кислот замороженных плодов рябины обыкновенной:

1 – аскорбиновая кислота; 2 – сорбиновая кислота; 3 – лимонная кислота; 4 – яблочная кислота

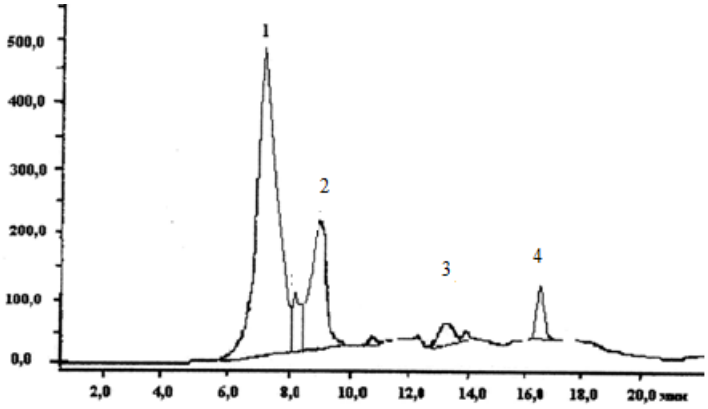


Рис.6. ВЭЖХ органических кислот высушенных плодов рябины обыкновенной:

1 – аскорбиновая кислота; 2 – сорбиновая кислота; 3 – лимонная кислота; 4 – яблочная кислота

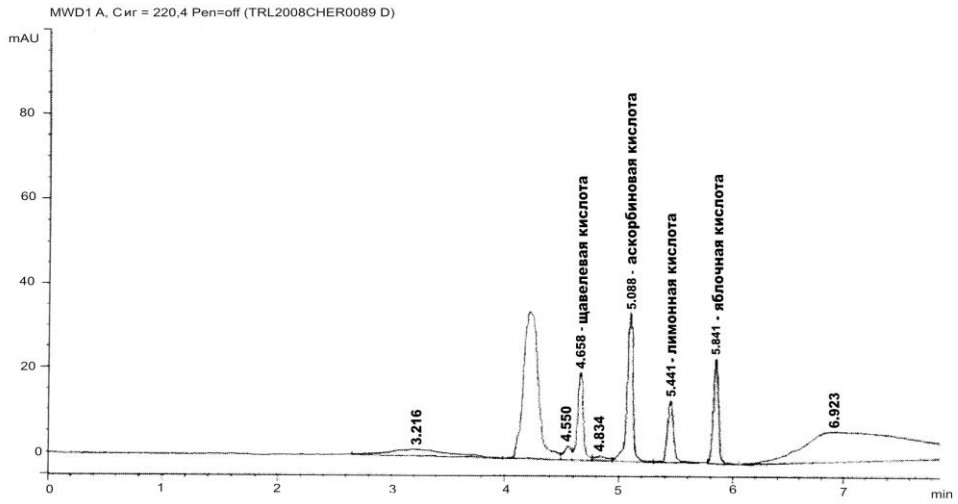


Рис. 7. ВЭЖХ органических кислот свежих плодов черники обыкновенной

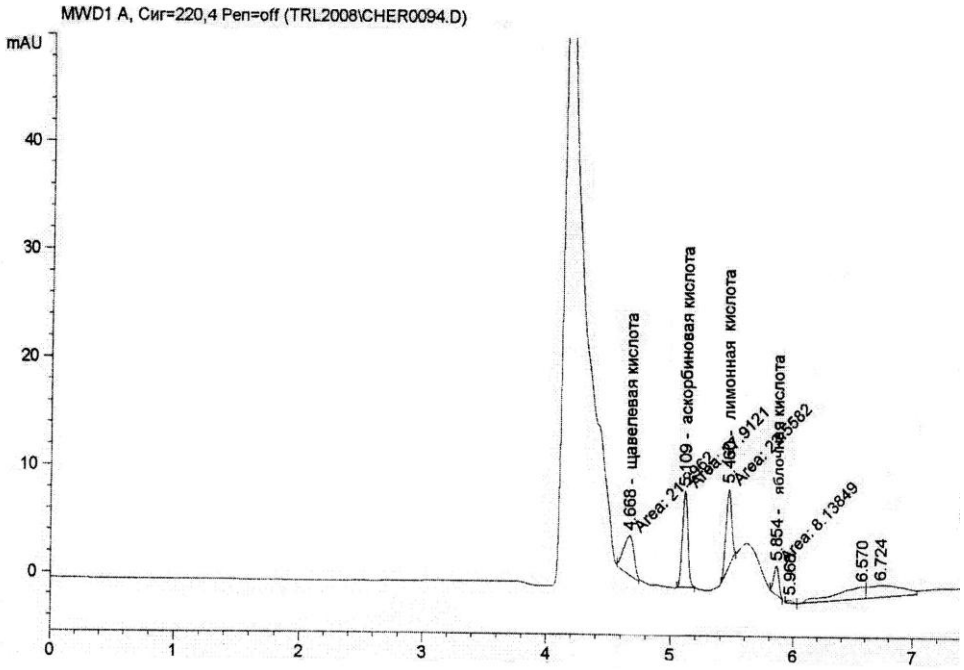


Рис. 8. ВЭЖХ органических кислот замороженных плодов черники обыкновенной

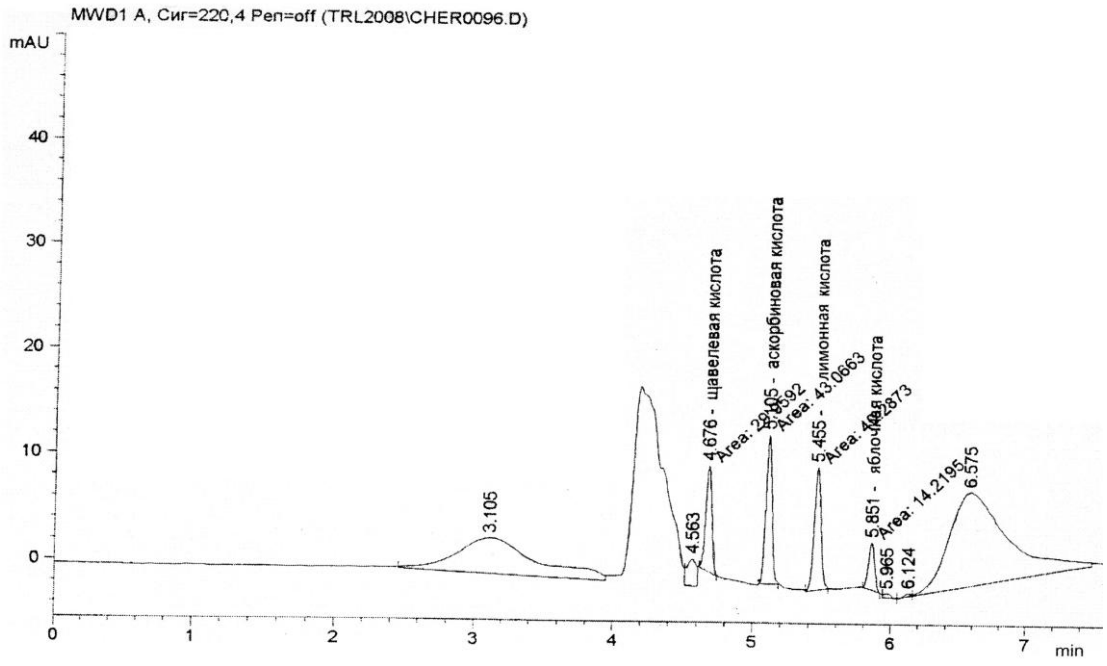


Рис. 9. ВЭЖХ органических кислот высушенных плодов черники обыкновенной

Методика. Около 10,0 г (точная навеска) измельченных высушенных, свежих и замороженных (гомогенизированная взвесь) плодов черники и рябины обыкновенной помещали в круглодонную колбу вместимостью 150мл, прибавляли 100мл воды и нагревали на водяной бане в течение 1 часа при температуре не выше 60°С. (настаивали извлечения 30мин для обнаружения аскорбиновой кислоты). Полученные извлечения фильтровали в мерную колбу вместимостью 100мл и доводили объем тем же растворителем до метки.

По 20мкл полученных извлечений и растворов СО органических кислот вводили в жидкостной хроматограф и хроматографировали в следующих условиях: колонка размером 6,5 х300мм «Altech OA-1000 Organic Acids», подвижная фаза: 0,01н. раствор серной кислоты,скорость подачи элюента - 1мл\мин. Детектирование проводили с помощью УФ-детектора при длине волн 220 нм.

Приготовление растворов РСО. Около 0,05 г (точная навеска) каждого соединения помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 20 мл

воды и после растворения доводили объем растворов тем же растворителем до метки. Срок годности -3 дня.

В результате проведенных исследований методом ВЭЖХ в плодах рябины обыкновенной и черники обыкновенной различных способов консервации обнаружены: яблочная, лимонная, аскорбиновая, щавелевая (черника), сорбиновая (рябина) кислоты.

3.3. Изучение фенольных соединений в свежих, замороженных и высушенных плодах

Фенольные соединения являются вторичными метаболитами, образование которых свойственно любой растительной клетке. На долю ароматических соединений приходится от 25 до 60% сухой биомассы растений Земли. Фенольные соединения локализуются в различных органах растений. Плоды являются богатым источником указанных БАВ, особенно таких групп, как флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества.

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

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

Для ТСХ-анализа были получены спиртовые извлечения из свежих, замороженных и высушенных изучаемых плодов: 1,0г измельченного сырья (гомогенизированная взвесь из замороженных и свежих плодов) заливали спиртом этиловым (70%) в соотношении 1:10 и нагревали в течение 30мин. Полученные извлечения фильтровали и подвергали анализу.

В качестве неподвижной фазы использовали пластинки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» размером 10х15 см. 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. По 10 мкл извлечений из анализируемых образцов и по 3 мкл растворов стандартных образцов рутина, кверцетина, гиперозида, лютеолина, хлорогеновой и кофейной кислот в концентрации 20 мг/мл с помощью микрошприца наносили на линию старта хроматографической пластинки. 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.10-11.

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

На хроматограммах плодов рябины обыкновенной различных способов консервации также было установлено наличие зон адсорбции рутина, кверцетина и хлорогеновой кислоты; в плодах калинаы обыкновенной различных способов консервации выявлены зоны рутина и хлорогеновой кислоты без видимых отличий в интенсивности цвета.

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

Не идентифицированные зоны адсорбции с Rf 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.

В свежих, замороженных и высушенных плодах аронии черноплодной наблюдали зону адсорбции, соответствующую рутину (Rf около 0,56) и зону малинового цвета с Rf около 0,37, идентифицированную как цианидин – 3 – О – глюкозид. Не было выявлено различий в характере и окраске пятен на хроматограммах свежих, замороженных и высушенных образцов.

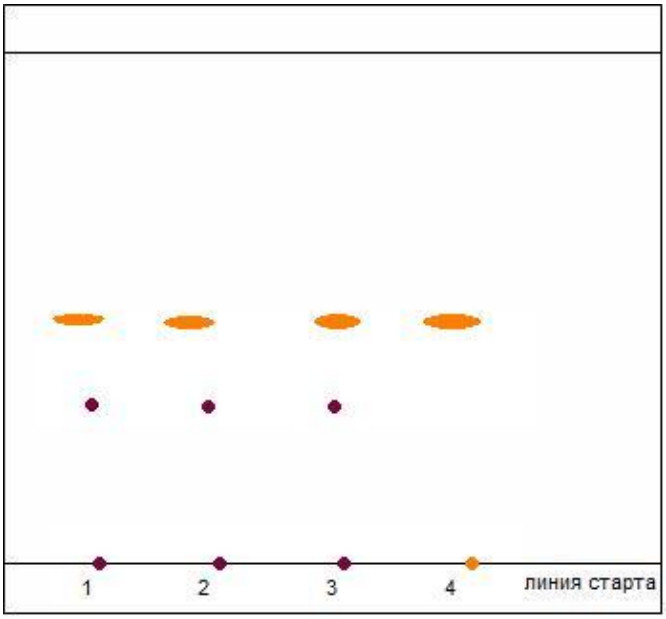


Рис. 10 . Схема хроматограммы флавоноидов (рутина и цианидин-3-О-глюкозида) в плодах аронии черноплодной

1 – свежие плоды аронии
2 – замороженные плоды аронии
3 – высушенные плоды аронии
4 – РСО рутина (R_f около 0,56)

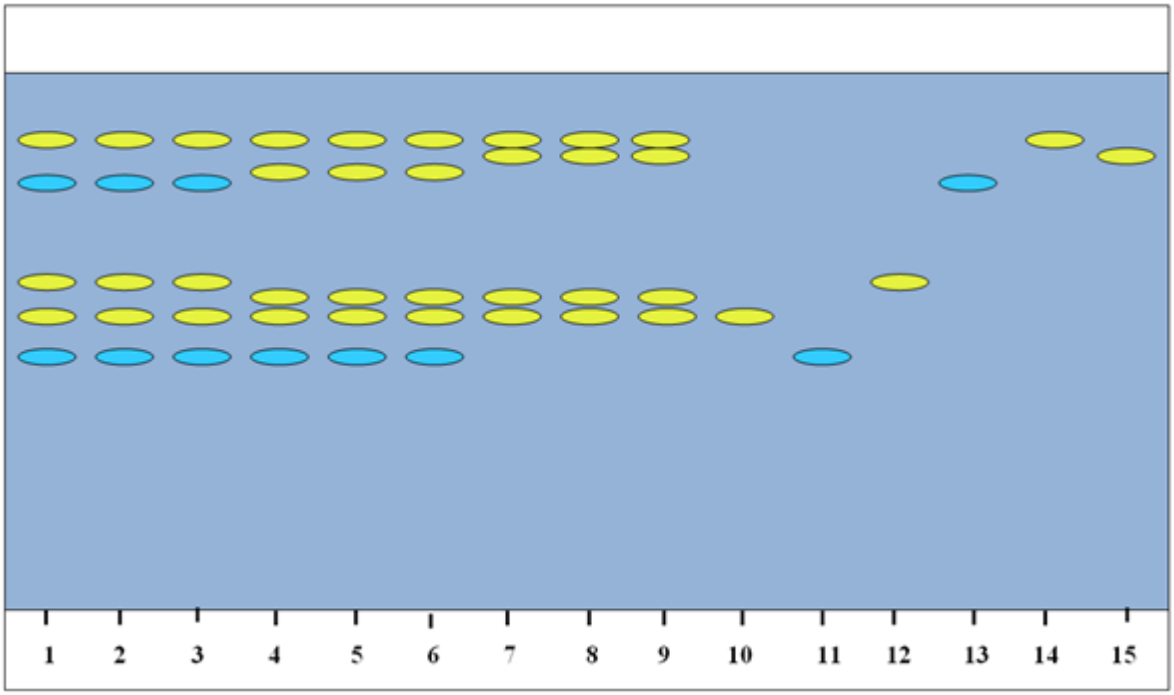


Рис.11. Схема хроматограммы флавоноидов и фенолкарбоновых кислот

1 – свежие плоды боярышника; 2 – замороженные плоды боярышника; 3 – высушенные плоды боярышника; 4 – свежие плоды рябины; 5 – замороженные плоды рябины; 6 – высушенные плоды рябины;7 – свежие плоды шиповника; 8 – замороженные плоды шиповника; 9 – высушенные плоды шиповника; 10 – РСО рутина (Rf около 0,56); 11 – РСО хлорогеновой кислоты (Rf около 0,47); 12 – РСО гиперозида (Rf около 0,62); 13 – РСО кофейной кислоты (Rfоколо 0,80); 14 – РСО кверцетина (Rf около 0,88); 15 – РСО лютеолина (Rf около 0,86).

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

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

Методика. Около 10,0 г (точная навеска) измельченных высушенных плодов малины (гомогенизированная взвесь из замороженных и свежих плодов) помещали в плоскодонную колбу со шлифом вместимостью 300 мл, приливали 150 мл спирта этилового 70% и нагревали с обратным холодильником на водяной

бане в течение 1 ч. Полученное извлечение охлаждали и фильтровали через двойной слой марли с подложенным тампоном ваты в колбу вместимостью 500 мл. К фильтрату приливали 150 мл 2 М раствора гидроксида натрия и выдерживали при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем содержимое колбы переносили в делительную воронку вместимостью 500 мл, приливали 150 мл этилацетата и встряхивали в течение 15 мин. После полного расслоения желтый этилацетатный слой собирали в колбу вместимостью 300 мл. Обработку этилацетатом повторяли дважды. Полученное этилацетатное извлечение упаривают под вакуумом на ротационном испарителе до объема 30 мл.

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

Полученные результаты представлены на рис.12.

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

На хроматограмме извлечения из высушенных плодов малины присутствовала дополнительная зона адсорбции с Rf около 0,73 - соединение, которое, возможно, могло образоваться в результате высушивания сырья.

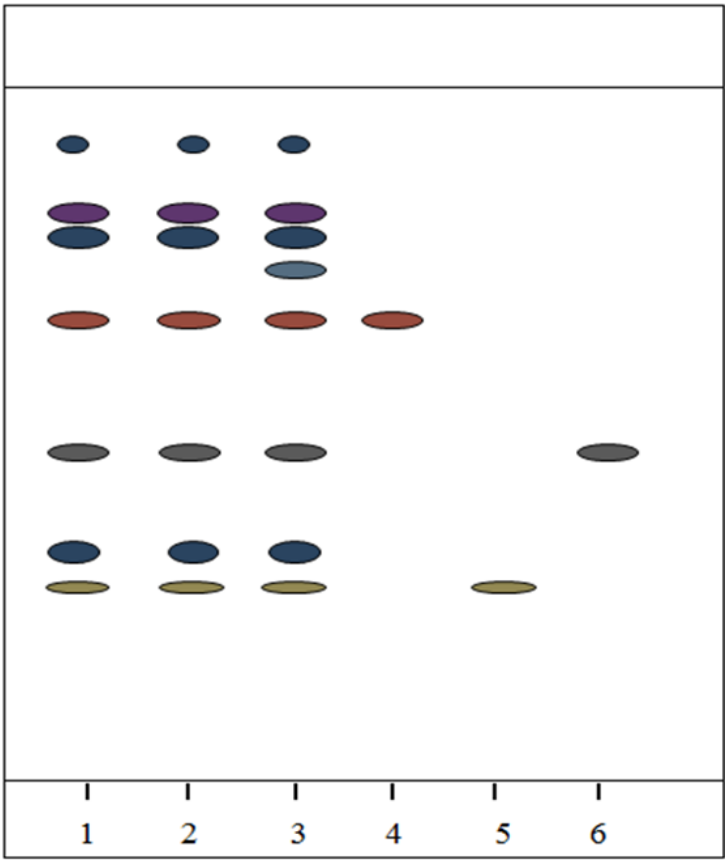


Рис.12. Схема хроматограммы фенолкарбоновых кислот

1 – свежие плоды малины

2 – замороженные плоды малины

3 – высушенные плоды малины

4 – РСО салициловой кислоты (Rf около 0,68)

5 – РСО галловой кислоты (Rf около 0,33)

6 – РСО кофейной кислоты (Rf около 0,48)

Обнаружение фенольных соединений методом ВЭЖХ

Результаты ТСХ-анализа подтвердили присутствие в изучаемых плодах флавоноидов и фенолкарбоновых кислот. Применение метода ВЭЖХ для анализа фенольных соединений является наиболее оптимальным, так как метод позволяет проводить идентификацию одновременно всех изучаемых соединений.

Анализ проводили на образцах свежих, замороженных и высушенных плодов шиповника коричного. В работе использовали жидкостной хроматограф фирмы «Gilston» (Франция) с последующей компьютерной обработкой результатов исследования с помощью программы «Мультихром» для «Windows». В качестве

стандартов использовали рабочие стандартные образцы (РСО) рутина, кверцетина, лютеолина и смеси фенолкарбоновых кислот: галловая, хлорогеновая, кофейная и бензойная.

При хроматографировании в ниже указанных условиях время удерживания стандартных образцов составило (в мин): галловая кислота-1,9; хлорогеновая-2,1; кофейная-5,9; лютеолин-6,8; рутин-14,6; кверцетин-19,0.

В основу исследований положена методика, описанная в «Руководстве по методам анализа контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище, Р.4.1.1672-03» [118].

Полученные хроматограммы представлены на рисунках 13-16.

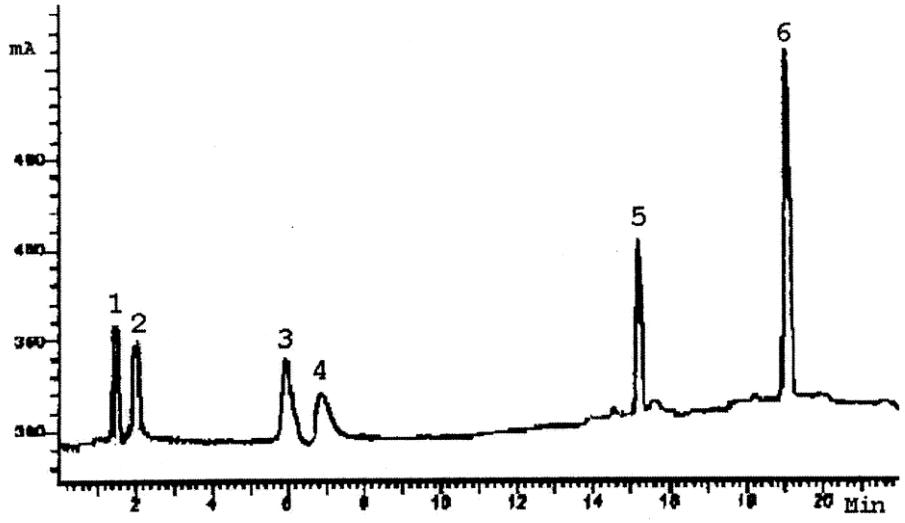


Рис.13. ВЭЖХ РСО: 1 - галловая кислота; 2 - хлорогеновая кислота; 3 - кофейная кислота; 4 - лютеолин; 5 - рутин; 6- кверцетин.

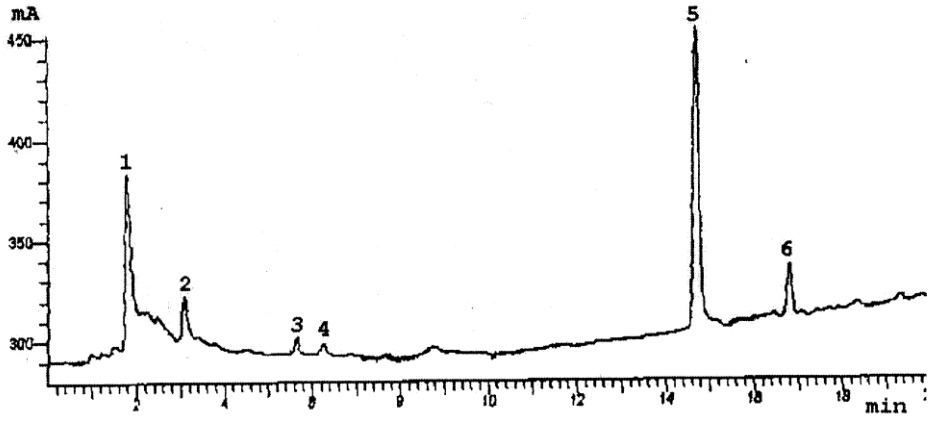


Рис.14. ВЭЖХ фенольных соединений свежих плодов шиповника коричного:

1 - галловая кислота; 2 - хлорогеновая кислота; 3 - кофейная кислота; 4 - лютеолин; 5 - рутин; 6- кверцетин

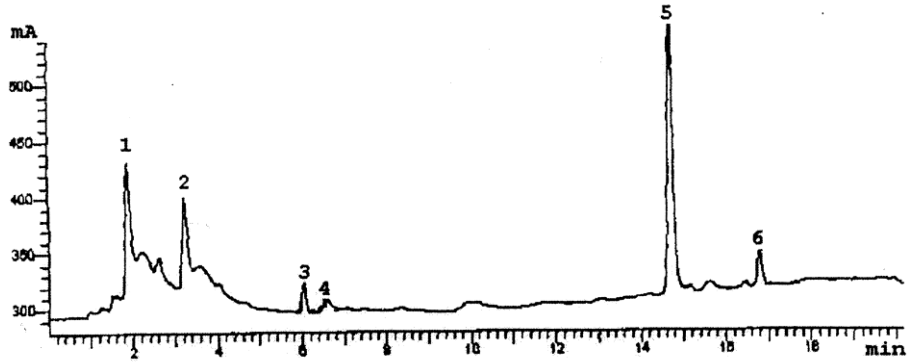


Рис. 15. ВЭЖХ фенольных соединений высушенных плодов шиповника коричного:

1 - галловая кислота; 2 - хлорогеновая кислота; 3 - кофейная кислота; 4 - лютеолин; 5 - рутин; 6- кверцетин

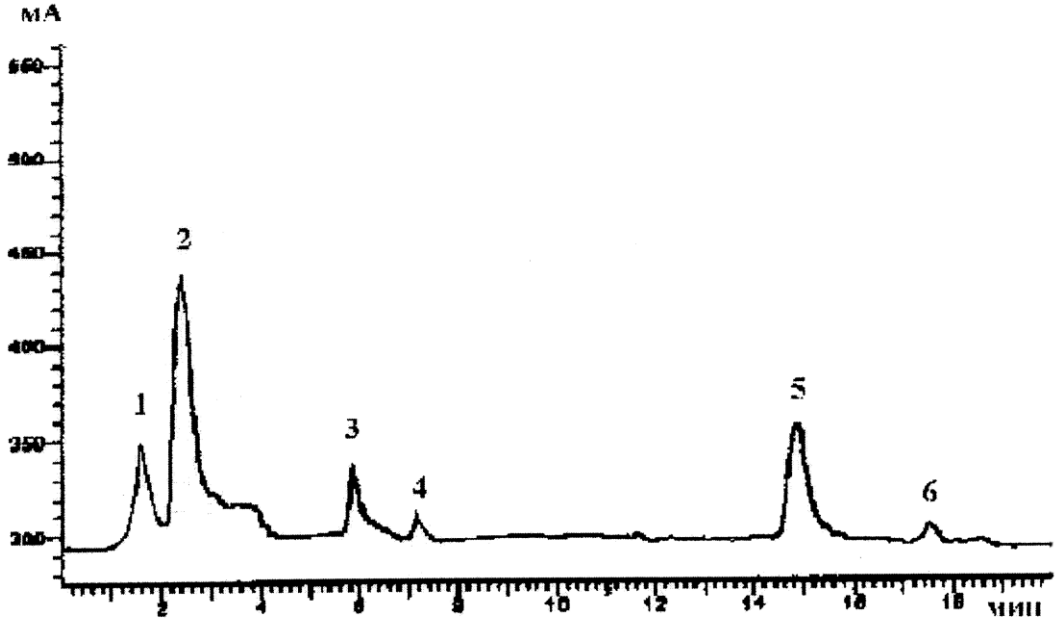


Рис. 16. ВЭЖХ фенольных соединений замороженных плодов шиповника коричного:

1 - галловая кислота; 2 - хлорогеновая кислота; 3 - кофейная кислота; 4 - лютеолин; 5 - рутин; 6- кверцетин

Методика. Около 1,0 г сырья (точная навеска) измельченных высушенных, свежих и замороженных (гомогенизированная взвесь) плодов шиповника помещали в круглодонную колбу вместимостью 100мл, прибавляли 30мл спирта этилового 50%, присоединяли колбу к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 30 мин. Горячее извлечение фильтровали через бумажный фильтр в колбу вместимостью 100 мл. В колбу для экстрагирования прибавляли еще 30 мл спирта этилового 50% и экстрагировали на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Экстракцию повторяли еще дважды в выше описанных условиях, фильтруя извлечения в ту же мерную колбу. После охлаждения объем суммарного извлечения доводили спиртом этиловым 50% до метки и перемешивали. 25,0 мл свежеприготовленных спиртовых извлечений вносили в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл спирта этилового 50% и доводили до метки.

По 20 мкл анализируемых растворов и растворов рабочих стандартных образцов хроматографировали на жидкостном хроматографе в условиях: колонка

4,6 х250мм «Platinum EPS C-18 100A», подвижная фаза: метанол-вода-фосфорная кислота (конц.) в соотношении – 40:60:0,5, скорость подачи элюента -1мл\мин. Детектирование проводили с помощью УФ-детектора при длине волн 254 нм.

Приготовление растворов рабочих стандартных образцов (РСО) рутина, лютеолина и кверцетина. Около 0,05 г (точная навеска) кверцетина (ФС 42-1325-94) и рутина (ГФ XI вып1, стр 587), предварительно высушенных при температуре 130-135°С в течение 2 часов, растворяли в спирте этиловом 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл на водяной бане (при температуре не выше 60°С). затем охлаждали, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Приготовление растворов РСО фенолкарбоновых кислот. Около 0,05 г (точная навеска) галловой, хлорогеновой, кофейной (стандарт фирмы Fluka) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 30 мл метанола, доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Согласно результатам исследования в анализируемых образцах идентифицировано 6 фенольных соединений: рутин, кверцетин, лютеолин, кофейная, галловая, хлорогеновая кислоты

3.3.2. Качественный анализ дубильных веществ в плодах различных способов консервации

Дубильные вещества относят к растительным полифенолам, в структуру которых входят галловая, эллаговая кислоты, катехины, лейкоантоцианидины. Химический состав плодов лекарственных растений семейств Розоцветные, Жимолостные представлен группой гидролизуемых, Вересковые – конденсированных веществ.

При изучении состава дубильных веществ исследуемых плодов использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Хроматографическое разделение проводили на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» размером 10х15 см.

Насыщение хроматографической камеры парами растворителя проводили в течение 1 часа.

Для проведения анализа готовили водные извлечения из плодов: 1,0г измельченного высушенных плодов, проходящих через сито с диаметром отверстий 1 мм, (гомогенизированная взвесь из замороженных и свежих плодов) заливали экстрагентом (вода) в соотношении 1:10 и нагревали на водяной бане в течение 30мин. Полученные извлечения фильтровали и подвергали анализу.

На линию старта пластинки с помощью микрошприца наносили по 10 мкл водных извлечений из свежих, замороженных и высушенных плодов изучаемых объектов. В качестве стандартных образцов (свидетелей) использовали водный раствор галловой кислоты в концентрации 2 мг/мл. Пластинки с нанесенными пробами высушивали на воздухе в течение 10 мин, помещали в камеру со смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом. Время хроматографирования определялось прохождением системой растворителей фронта – 12 см.

В системе вода - муравьиная кислота - этилацетат (5:10:85) после обработки хроматограммы раствором хлорида железа (III) обнаруживались зоны синего цвета. В плодах шиповника коричного, рябины обыкновенной, калины обыкновенной, черники обыкновенной, аронии черноплодной и боярышника кроваво-красного идентифицирована со стандартным образцом галловая кислота с Rf около 0,92. Зоны галловой кислоты в свежих и замороженных плодах имели более выраженную окраску. Других различий в характере и окраске пятен на хроматограммах свежих, замороженных и высушенных плодов не наблюдалось (рис. 17).

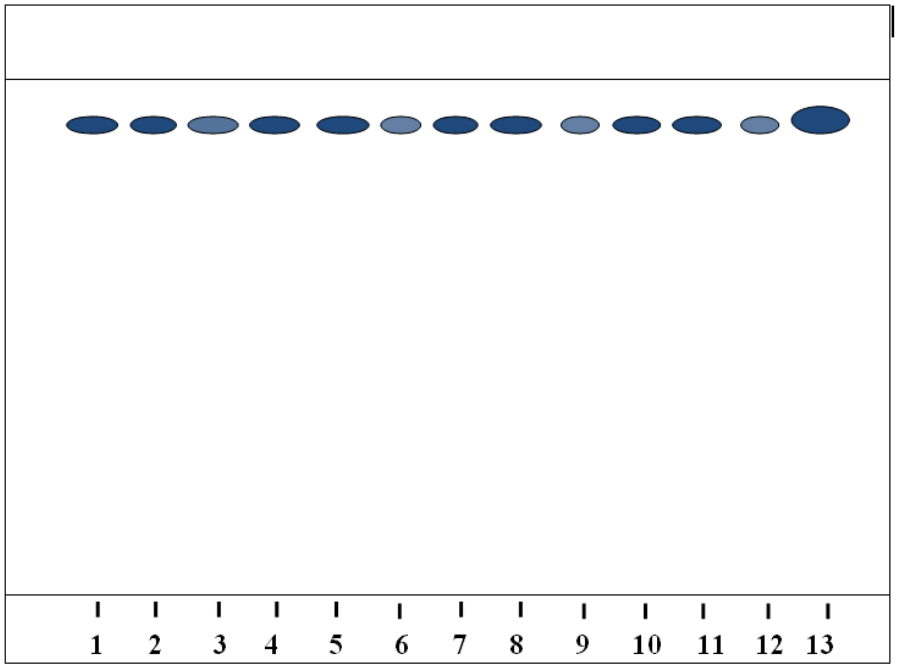


Рис.17. Схема хроматограммы дубильных веществ

1 – замороженные плоды боярышника; 2 – высушенные плоды боярышника;3 – высушенные плоды рябины; 4 – замороженные плоды рябины; 5 - замороженные плоды калины; 6 – высушенные плоды калины; 7 – замороженные плоды шиповника;8 – замороженные плоды черники; 9 – высушенные плоды аронии;10 – замороженные плоды аронии;11 – высушенные плоды черники;12 – высушенные плоды шиповника; 13 – РСО галловой кислоты (Rf около 0,92).

3.3.3. Качественный анализ антоцианов в плодах различных способов консервации

Антоцианы являются преобладающими компонентами химического состава плодов черники обыкновенной, аронии черноплодной, малины обыкновенной. Обладая биологической активностью, они вносят вклад в фармакологическое действие лекарственного растительного сырья.

При изучении состава антоцианов плодов малины, аронии, черники различных способов консервации использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Хроматографическое разделение проводили на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-

УФ» размером 10х15 см. Насыщение хроматографической камеры парами растворителя проводили в течение 1 часа.

Для проведения анализа готовили спиртовые извлечения из плодов: 2,0г измельченных высушенных плодов (гомогенизированная взвесь из замороженных и свежих плодов) помещали в коническую колбу со шлифом, добавляли 10 мл 95% спирта этилового, содержащего 1% хлороводородной кислоты, закрывали пробкой и перемешивали в течение 30 мин. Извлечения фильтровали через бумажный фильтр и анализировали.

На линию старта пластинки с помощью микрошприца наносили по 20 мкл спиртовых извлечений из свежих, замороженных и высушенных плодов изучаемых объектов и стандартных образцов свидетелей. Пластинки с нанесенными пробами высушивали на воздухе в течение 10 мин, помещали в камеру со смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом.

Для хроматографического разделения антоцианов более приемлемой является система с уксусной кислотой, в которой происходит видимое разделение окрашенных в характерные для антоцианов цвета пятен. Идентификацию антоцианов проводили в системе н-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода (9:1:0,5) по величине значения Rf. После нагревания пластинки в сушильном шкафу проявились пятна малинового цвета на белом фоне с Rf около 0,37 на уровне пятна стандартного образца цианидин-3,5-дигликозида и зона малинового цвета, идентифицированная как цианидин – 3 – О – глюкозид (R_f около 0,36) (рис.18).

Общим для извлечений из свежих, замороженных и высушенных плодов аронии черноплодной и черники обыкновенной можно считать наличие зон адсорбции цианидин-3-О-глюкозида; в антоциановом профиле плодов малины обыкновенной присутствуют цианидин-3,5-дигликозид и цианидин-3-О-глюкозид.

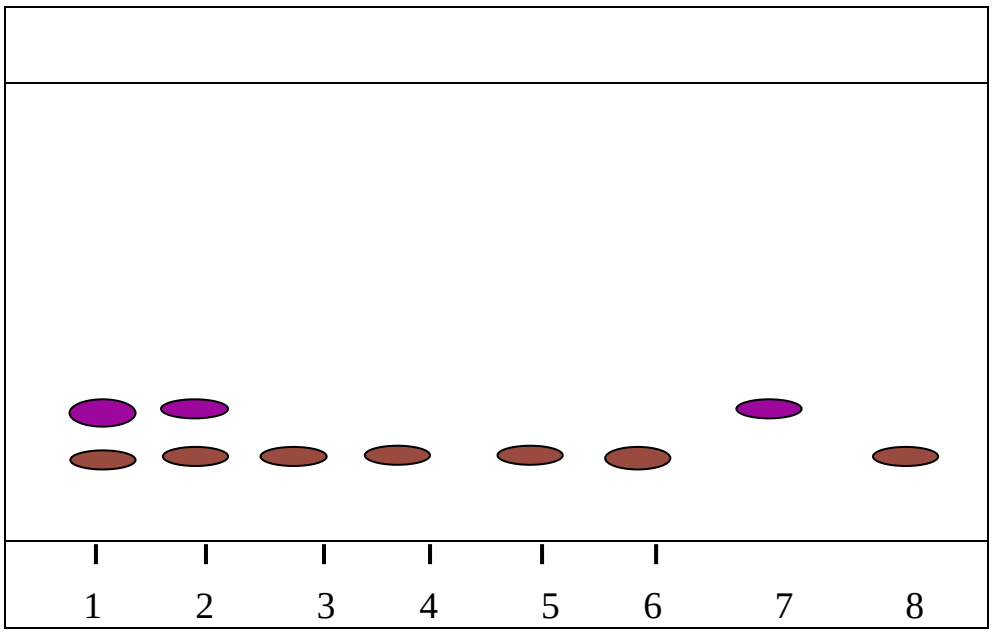


Рис.18. Схема хроматограммы антоцианов

1 – замороженные плоды малины; 2 – высушенные плоды малины;3– замороженные плоды черники; 4 – высушенные плоды черники; 5 – замороженные плоды аронии;6 – высушенные плоды аронии; 7 – СО цианидин-3,5-дигликозид (Rf около 0,37); 8 – СО цианидин -3-О глюкозид (Rf около 0,36).

Проведенный сравнительный качественный анализ свежих, замороженных и высушенных плодов показал, что способ консервации не изменяет химический состав плодов. В замороженном и высушенном сырье сохраняются все группы БАВ, содержащиеся в нативном состоянии в свежем сырье. В тоже время, выявлены отличия в интенсивности и количестве зон изучаемых БАВ (табл 7). Зоны яблочной, лимонной и галловой кислот свежих и замороженных плодов на хроматограммах были более интенсивными. Зона аскорбиновой кислоты обнаруживалась на всех хроматограммах, однако в свежих и замороженных плодах шиповника и рябины являлась самой выраженной. Качественный состав флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, антоцианов плодов различных способов консервации не изменялся, в тоже время количество зон адсорбции фенольных соединений варьировалось в зависимости от химического состава.

Таблица 7. Химический состав БАВ плодов

Наименование ЛРС	Фенольные соединения	Органические кислоты
Плоды шиповника	Рутин, кверцетин, лютеолин, кофейная, хлорогенова, галловая кислоты	Аскорбиновая, лимонная, яблочная кислоты
Плоды рябины обыкновенной	Рутин, кверцетин, хлорогеновая, галловая кислоты	Аскорбиновая, лимонная, яблочная, сорбиновая кислоты
Плоды боярышника	Рутин, кверцетин, гиперозид, кофейная, хлорогенова, галловая кислоты	Аскорбиновая, лимонная, яблочная кислоты
Плоды аронии	Рутин, цианидин-3-О-глюкозид, хлорогеновая, галловая кислоты	Аскорбиновая, лимонная, яблочная кислоты
Плоды малины	Цианидин-3,5-дигликозид, цианидин-3-О-глюкозид, салициловая, кофейная, галловая кислоты	Аскорбиновая, лимонная, яблочная, янтарная кислоты
Плоды черники	цианидин-3-О-глюкозид, галловая кислота	Аскорбиновая, лимонная, яблочная, щавелевая кислоты
Плоды калины	Хлорогеновая, галловая кислоты	Аскорбиновая, лимонная, яблочная кислоты

3.4. Выводы к главе 3

1. Проведено сравнительное изучение состава биологически активных веществ плодов черники обыкновенной, калины обыкновенной, аронии черноплодной, боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной, малины обыкновенной и шиповника майского различных способов консервации.

2. Хроматографическими методами (ТСХ, ВЭЖХ) в исследуемых объектах со стандартными образцами идентифицированы органические кислоты (яблочная, лимонная, щавелевая, сорбиновая, янтарная, аскорбиновая), фенолкарбоновые кислоты (галловая, хлорогеновая, кофейная, салициловая), флавоноиды (рутин, кверцетин, лютеолин, гиперозид, цианидин-3,5-дигликозид, цианидин-3О-глюкозид).

3. Установлено, что способ консервации не изменяет состав БАВ исследуемых объектов.

Глава 4. Изучение влияния способов консервации на содержание биологически активных веществ в плодах

4.1. Количественная оценка содержания свободных органических кислот в плодах различных способов консервации

Государственная Фармакопея XI издания рекомендует проводить определение содержания органических кислот в лекарственном растительном сырье методом кислотно-основного титрования (алкалиметрией) в присутствии двух индикаторов. Недостатком этого метода является неточность результатов, вследствие визуального определения конечной точки титрования по появлению лилово-красного окрашивания в пене. В виду наличия собственной окраски извлечений из плодов не всегда удается точно зафиксировать конец титрования, а значит, получить точные результаты титрования. Возможно влияние других водорастворимых биологически активных веществ, обладающих кислотно-основными свойствами и как следствие увеличение ошибки титрования.

В связи с этим для количественной оценки содержания свободных органических кислот в изучаемых плодах нами был выбран метод гальваностатической кулонометрии при постоянной силе тока [4]. Для проведения исследований использовали прибор кулонометр «Эксперт-006» при силе тока 5 мА с встроенным pH-метром. Электрогенерацию гидроксид-ионов осуществляли из насыщенного водного раствора K_2SO_4, конечную точку титрования определяли pH-метром с помощью лабораторного комбинированного «полумикро»−pH-электрода ЭСК-10614. Реакция проводилась при помощи магнитной мешалки и при постоянной температуре.

Методика. Аналитическую пробу массой 20 г (точная навеска) измельченных свежих или замороженных плодов (или 5 г высушенных плодов) помещали в колбу вместимостью 200 мл, приливали 150 мл воды очищенной и выдерживали в течение 2 часов на кипящей водяной бане. Полученное извлечение охлаждали и

фильтровали через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 200 мл. Доводили объем извлечения до метки водой очищенной и перемешивали.

0,5 мл полученного извлечения вносили в кулонометрическую ячейку, заполненную фоновым электролитом – водным раствором сульфата калия и проводили измерение с помощью кулонометрического титратора. Титрование проводилось гидроксид-ионами, сгенерированными прибором; получали результат, который показывал содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту, содержащейся в аликвоте извлечения, в микрограммах.

Содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в сырье в процентах (X) рассчитывали по 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 8 и на рисунке 19.

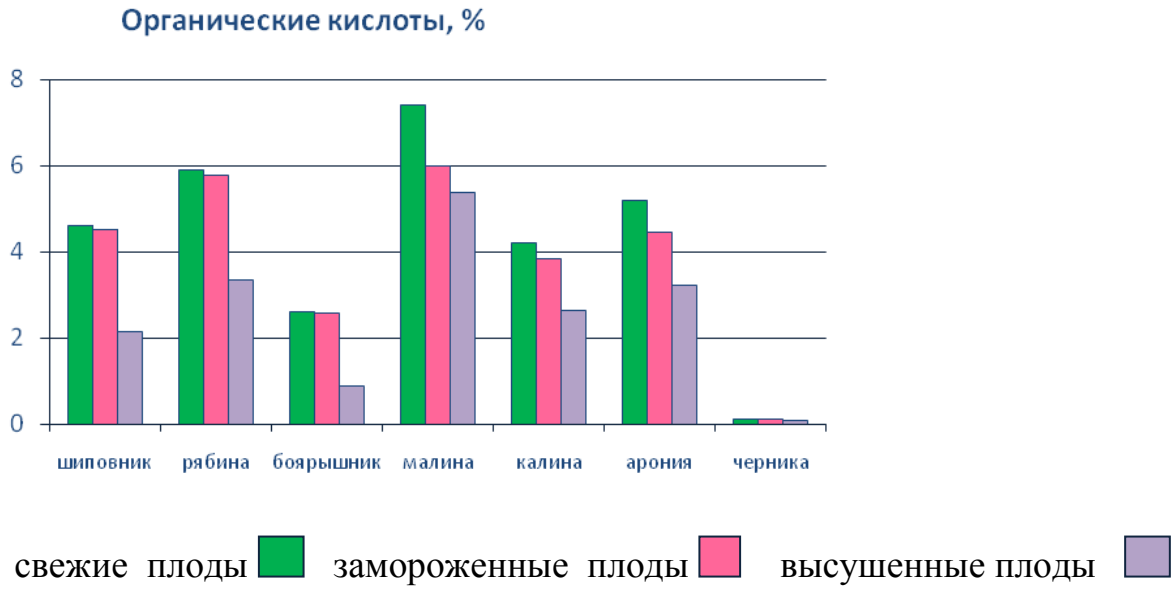


Рис. 19. Содержание свободных органических кислот в свежих, замороженных и высушенных плодах.

Таблица 8. Определение содержания суммы свободных органических кислот в исследуемых образцах сырья

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	$_{\Delta}X$	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	1,51
	Замороженные	5,78	95	2,45	0,0420	0,0159	0,04	1,69
	Высушенные	3,35	95	2,45	0,0280	0,0106	0,03	1,90
Плоды малины	Свежие	7,40	95	2,45	0,0452	0,0171	0,04	1,54
	Замороженные	6,53	95	2,45	0,0413	0,0156	0,04	2,67
	Высушенные	5,38	95	2,45	0,0886	0,0335	0,08	1,49
Плоды шиповника	Свежие	4,72	95	2,45	0,0442	0,0167	0,04	1,87
	Замороженные	4,67	95	2,45	0,0616	0,0233	0,06	1,26
	высушенные	2,15	95	2,45	0,0347	0,0131	0,03	2,40
Плоды аронии	Свежие	5,19	95	2,45	0,0351	0,0133	0,04	1,53
	Замороженные	4,92	95	2,45	0,0272	0,0103	0,01	1,49
	высушенные	3,24	95	2,45	0,0361	0,0138	0,02	1,12
Плоды калины	Свежие	4,23	95	2,45	0,0194	0,0142	0,06	1,78
	Замороженные	3,86	95	2,45	0,0254	0,0120	0,08	1,64
	высушенные	2,64	95	2,45	0,0388	0,0094	0,09	1,52
Плоды черники	Свежие	0,13	95	2,45	0,0235	0,0116	0,05	1,92
	Замороженные	0,12	95	2,45	0,0277	0,0130	0,03	1,50
	высушенные	0,08	95	2,45	0,0382	0,0146	0,05	2,28

Полученные результаты показали, что замораживание практически не влияет на содержание данной группы БАВ в растительном сырье или приводит к

незначительному снижению. При этом в процессе сушки содержание органических кислот уменьшается в среднем на 27 – 65%.

При изучении содержания органических кислот выявлена связь между способом консервации и морфологическим строением плодов: при замораживании плодов с толстым экзокарпием (боярышник, шиповник, рябина обыкновенная, арония) потери составили 1,5-5%, у плодов с тонким околоплодником - калины, черники, малины 9-12%. Обратная тенденция отмечена в высушенном сырье: у плодов боярышника, шиповника, рябины обыкновенной потери органических кислот варьировались от 43 до 65%, у других плодов 28-38%, так как сок защищает молекулу от разрушения.

4.2. Количественная оценка содержания аскорбиновой кислоты в плодах различных способов консервации

Согласно ГФ XI издания определение содержания аскорбиновой кислоты проводят титрованием 2,6 – дихлорфенолиндофенолятом натрия согласно методике статьи №38 «Плоды шиповника». Недостатками метода являются неточность результатов, трудность в установлении конечной точки титрования из-за выраженной собственной окраски извлечений плодов, возможное влияние других БАВ, обладающих окислительно-восстановительными свойствами. Поэтому для получения более достоверных результатов определение содержания аскорбиновой кислоты также проводили методом кулонометрического титрования. Преимущества метода кулонометрии состоят в простоте проведения эксперимента, отсутствии субъективного визуального определения конечной точки титрования. Для проведения исследований использовали прибор кулонометр «Эксперт-006»при силе тока 5 мА со встроенным pH-метром. Йод генерировали из хлороводородного буферного раствора (pH 1,2). Проверку эффективности кулонометрического титрования проводили по стандарт-титру «Натрий серноватистокислый 5-водный ($Na_2S_2O_3*5H_2O$)=0,1 моль/дм3 (0,1н)».

Количество электричества, затраченное на титрование экспериментально на кулонометре «Эксперт-006», рассчитывается по формуле:

$$Q_{эксп} = \frac{m*10^{-6}*1*96485,3}{248,2} \text{ (Кл)},$$

где m – масса тиосульфата натрия в пробе, найденная кулонометрически, мкг (должно находиться 124,1 мкг). Аскорбиновая кислота взаимодействует с электрогенерированным йодом быстро и в стехиометрических количествах в соотношении 1:1.

Методика. Из грубоизмельченной аналитической пробы свежих, замороженных плодов брали навеску массой 20 г (или 5 г высушенных плодов) (точная навеска), помещали в фарфоровую ступку, где тщательно растирали со стеклянным порошком (около 5 г), приливали 150 мл воды очищенной и настаивали в течение 10 мин. Полученное извлечение перемешивали и фильтровали через бумажный складчатый фильтр.

По 0,5 мл извлечения из плодов и стандартного раствора вносили в кулонометрическую ячейку, заполненную электролитом – 0,1 М раствором KI в хлороводородном буферном растворе (pH = 1,2) и проводили измерение с помощью кулонометрического титратора. Титрование проводили электрогенерированным йодом.

Содержание аскорбиновой кислоты в сырье в процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье (X) рассчитывали по 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, %.

Методика приготовления фонового электролита: 0,75 г калия хлорида растворяли в цилиндре в небольшом количестве воды, добавляли 129 мл 0,1 М раствора соляной кислоты и доводили водой до 400 мл (pH 1,2). В 200 мл приготовленного раствора растворяли 3,3 г калия йодида.

Методика приготовления стандартного раствора: 1 мл 0,1 М стандартного раствора, приготовленного из стандарт-титра «Натрий серноватистокислый 5-водный», переносили в мерную колбу объемом 100 мл и доводили водой до метки.

На основании полученных результатов (таблица 9, рисунок 20) можно сделать вывод, что замораживание обеспечивает сохранение до 90% аскорбиновой кислоты от ее исходного содержания в свежем сырье. При этом сушка приводит к окислению указанного биологически активного вещества и значительно снижает количество аскорбиновой кислоты в исследуемых плодах. Потери аскорбиновой кислоты при замораживании сырья колебались от 5 до 15%, при высушивании – резко возрастали и составляли от 46 до 75%. Особенно много аскорбиновой кислоты разрушается при высушивании плодов малины. Полученные данные свидетельствуют, что замораживание, как способ консервации, является более предпочтительным для сохранения аскорбиновой кислоты в ЛР.

Таблица 9. Результаты количественного анализа аскорбиновой кислоты в плодах

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	ΔX	E, %
Плоды боярышника	Свежие	0,090	95	2,45	0,0021	0,0008	0,002	2,30
	Замороженные	0,076	95	2,45	0,0019	0,0007	0,002	2,78
	Высушенные	0,030	95	2,45	0,0011	0,0004	0,001	1,70
Плоды рябины	Свежие	0,31	95	2,45	0,0017	0,0006	0,07	2,64
	Замороженные	0,28	95	2,45	0,0063	0,0024	0,07	4,05
	Высушенные	0,12	95	2,45	0,0034	0,0013	0,03	2,48
Плоды малины	Свежие	0,18	95	2,45	0,0058	0,0022	0,01	2,81
	Замороженные	0,171	95	2,45	0,0029	0,0011	0,009	1,82
	Высушенные	0,02	95	2,45	0,0013	0,0005	0,01	2,67

Плоды шиповника	Свежие	1,31	95	2,45	0,0130	0,0049	0,03	2,92
	Замороженные	1,17	95	2,45	0,0087	0,0033	0,06	269
	высушенные	0,32	95	2,45	0,0069	0,0026	0,02	2,88
Плоды аронии	Свежие	0,19	95	2,45	0,0098	0,0035	0,07	2,23
	Замороженные	0,17	95	2,45	0,0073	0,0026	0,08	3,10
	высушенные	0,08	95	2,45	0,0019	0,0009	0,02	2,43
Плоды калины	Свежие	0,170	95	2,45	0,0031	0,0011	0,007	2,86
	Замороженные	0,160	95	2,45	0,0048	0,0018	0,006	1,74
	высушенные	0,060	95	2,45	0,0018	0,0006	0,002	2,96
Плоды черники	Свежие	0,72	95	2,45	0,0034	0,0012	0,08	4,86
	Замороженные	0,64	95	2,45	0,0053	0,0020	0,07	2,88
	высушенные	0,39	95	2,45	0,0064	0,0023	0,05	3,12

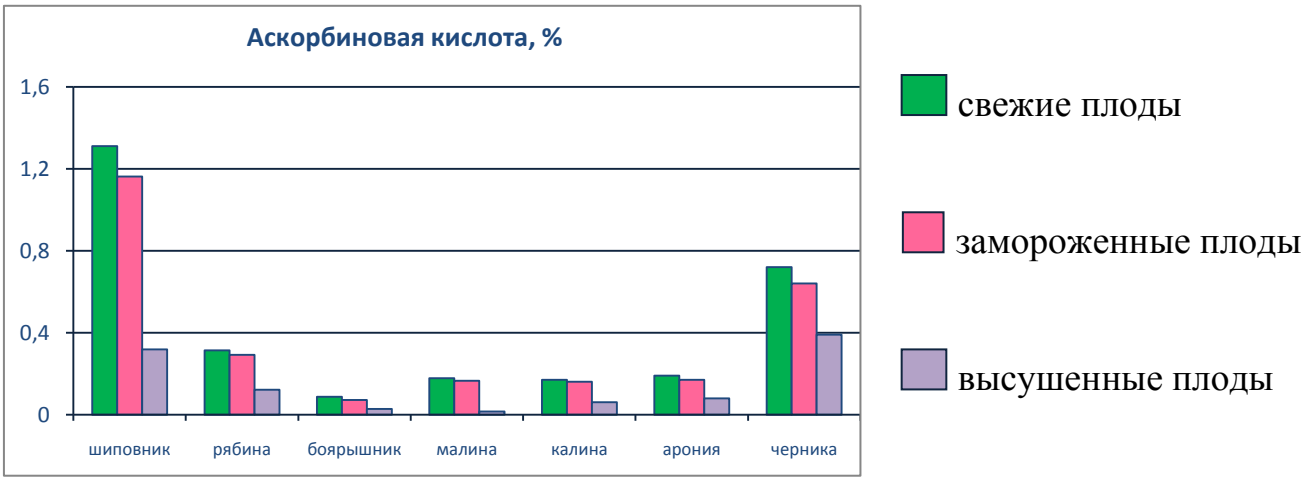
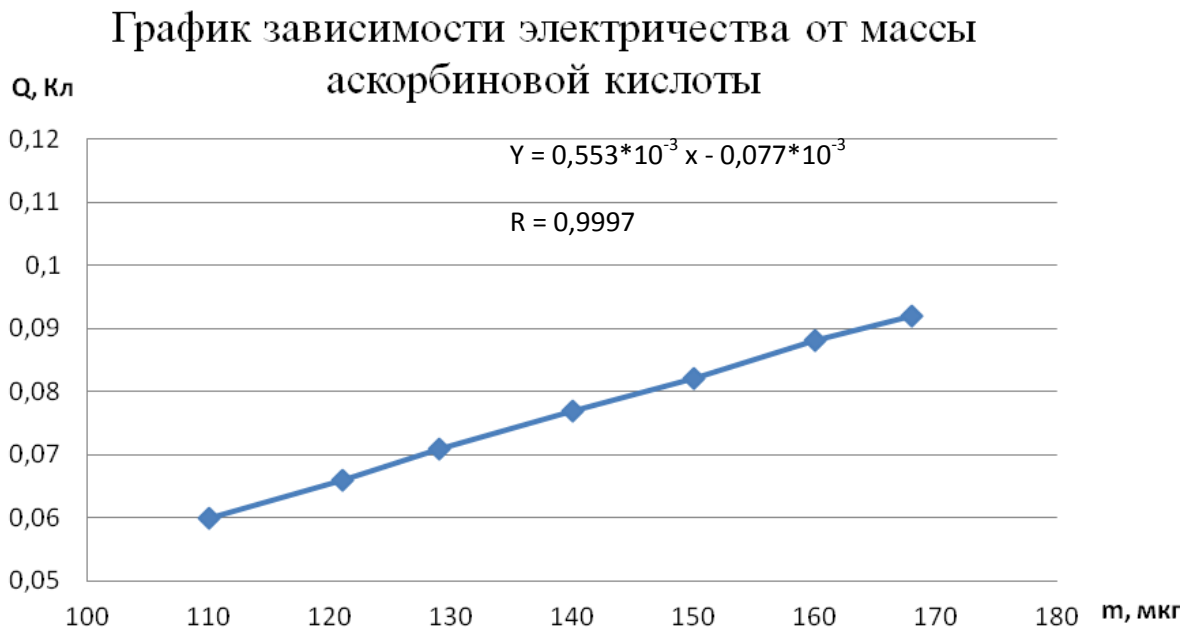


Рис. 20. Содержание аскорбиновой кислоты в свежих, замороженных и высушенных плодах.

Валидацию методики проводили по следующим характеристикам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность.

Линейность и аналитическую область методики подтверждали анализом 7 проб на 7 уровнях концентрации в диапазоне от 80 до 120% от уровня концентрации, принятой за 100%. Изучение зависимости электричества от вводимой массы аскорбиновой кислоты показало, что она имеет линейный характер, коэффициент корреляции составил 0,9997.



Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное.

При титровании правильность не доказывается путем сравнения с известной методикой, так как титриметрия является так называемым абсолютным методом. Правильность доказывается либо методом с плацебо, либо методом добавок. Нами был использован метод добавок. Проводили 9 испытаний на 3 уровнях концентрации в выбранном диапазоне применения методики (добавку проводили на уровнях от 80% до 120% от номинального значения определяемой величины). Оценка проводилась путем расчета процента определения известного добавленного количества действующего вещества, стандартного отклонения,

коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения (P=0,95).

Метод добавок не только применим для доказательства правильности методики, но и показывает ее специфичность в отношении определяемого компонента. В нашем случае отклик определялся путем добавления действующего вещества – аскорбиновой кислоты к исследуемому образцу (извлечению) с известной концентрацией аскорбиновой кислоты, принятой за 70%. Так как отклик был пропорционален добавленному количеству кислоты, то это однозначно доказывает, что определяется именно аскорбиновая кислота, а не какие-либо другие компоненты. Также было показано, что используемый при пробоподготовке растворитель (вода очищенная) не искажает полученные данные. Результаты исследования приведены в таблицах 10-12.

Таблица 10. Результаты количественного определения аскорбиновой кислоты методом кулонометрического титрования.

Определено аскорбиновой кислоты в воде очищеной, мкг	**Добавлено аскорбиновой кислоты, мкг**	**Найдено аскорбиновой кислоты, мкг**	**Рассчитано аскорбиновой кислоты, мкг**	**Отклик, %**
0	60	63	60	105,00
0	120	125	120	104,17
0	250	253	250	101,20

При проверке прецизионности разработанной методики была установлена сходимость результатов на 6 подготовленных пробах извлечений из плодов шиповника. Результаты исследования представлены в таблице 13.

Таблица 11. Правильность методики кулонометрического определения аскорбиновой кислоты в плодах шиповника.

Процент содержания аскорбиновой кислоты %	**Добавлено аскорбиновой кислоты, мкг**	**Определенно содержание аскорбиновой кислоты, %**	**Заданное содержание аскорбиновой кислоты, %**	**Отклик, %**
80	40	3,265	3,274	99,72
80	40	3,288	3,274	100,43
80	40	3,282	3,274	100,24
100	120	3,849	3,872	99,40
100	120	3,877	3,872	100,13
100	120	3,863	3,872	99,77
120	200	4,877	4,868	100,18
120	200	4,884	4,868	100,33
120	200	4,851	4,868	99,65

Таблица 12. Метрологические характеристики методики кулонометрического определения аскорбиновой кислоты в плодах шиповника.

Метрологические характеристики	**Результаты**
Среднее значение	99,98
Стандартное отклонение	0,36
Коэффициент вариации	0,36
Нижняя граница доверительного интервала (P=95%)	99,71
Верхняя граница доверительного интервала (P=95%)	100,25

Таблица 13. Результаты оценки сходимости методики кулонометрического определения аскорбиновой кислоты в плодах шиповника.

№ пробы	Навеска плодов шиповника, г	Содержание аскорбиновой кислоты, %
1	20,0031	3,142
2	20,0041	3,146
3	19,9834	3,135
4	20,0058	3,143
5	20,0017	3,138
6	19,9928	3,133

Оценка и расчет результатов проводились путем вычисления среднего значения, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала (табл. 14).

Таблица 14. Метрологические характеристики при оценке сходимости методики кулонометрического определения аскорбиновой кислоты в плодах шиповника.

Статистические характеристики	Результаты
Наименьшее значение, %	3,133
Наибольшее значение, %	3,146
Среднее значение, %	3,140

Стандартное отклонение среднего	0,002
Коэффициент вариации (КВ), %	0,16
Доверительный интервал (р=95%), %	3,133 - 3, 147

Проведенные исследования показали, что анализируемая методика валидна по проверенным показателям.

4.3. Определение содержания фенольных соединений в плодах различных способов консервации

4.3.1. Определение содержания флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных плодах

Количественное содержание флавоноидов в плодах боярышника кроваво-красного, шиповника коричного, рябины обыкновенной и аронии черноплодной 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 рутин по методике, приведенной в изменении №3 к статье 32 ГФ XI издания «Плоды боярышника».

Методика. Около 10 г (точная навеска) свежего или замороженного сырья (гомогенизированная взвесь) и около 5 г высушенного сырья помещали в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 60 мл спирта 70%, и, присоединив к обратному холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане в течение 45 минут. После охлаждения до комнатной температуры

содержимое колбы профильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. В круглодонную колбу со шротом прибавили 40 мл спирта 70%, и как ранее нагревали с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 минут. После охлаждения раствор фильтровали через тот же фильтр в ту же колбу. Объем раствора в колбе довели до метки. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 6 мл раствора алюминия хлорида, и на 3 минуты помещали в кипящую водяную баню. После чего колбу быстро охлаждали, прибавляли 2 мл буферного раствора с pH 4,0 и доводили спиртом 70% до метки.

Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 2 мл буферного раствора с pH 4,0, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом 70% до метки. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл РСО рутина (5 мл раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 6 мл раствора алюминия хлорида, и на 3 минуты помещали в кипящую водяную баню, после чего колбу быстро охлаждали, прибавляли 2 мл буферного раствора с pH 4,0 и доводили спиртом 70% до метки), используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 1 мл РСО рутина и 2 мл буферного раствора с pH 4,0, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом 70% до метки.

Содержание суммы флавоноидов (X) в пересчете на рутин и в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах, рассчитывали 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;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО рутина;

m_0 – масса навески рутина, в граммах;

а – масса навески сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании, %.

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

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

Приготовление буферного раствора с pH 4,0: 10 мл 1М раствора натрия едкого помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 57 мл раствора уксусной кислоты, доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали.

Результаты определения суммы флавоноидов в плодах боярышникакроваво-красного представлены в таблице 15.

Как видно из таблицы содержание флавоноидов в свежих плодах составило 0,19 ± 0,01 %, в замороженных плодах – 0,16 ± 0,02% и в высушенных плодах – 0,15 ± 0,01%.

Таблица 15. Количественное содержание флавоноидов в плодах боярышника различных способов консервации

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	$_{\Delta}X$	E, %
Свежие плоды	0,19	95	2,45	0,0087	0,0033	0,01	3,17
Замороженные плоды	0,16	95	2,45	0,0063	0,0024	0,02	2,66
Высушенные плоды	0,15	95	2,45	0,0069	0,0026	0,01	1,94

Фармакопейной методики для определения содержания флавоноидов в плодах рябины обыкновенной 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 обыкновенной 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 низковолновую 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.21 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.

Результаты определения суммы флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных плодах рябины представлены в таблице 16.

Таблица 16. Количественное содержание флавоноидов в плодах рябины различных способов консервации

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	ΔX	E, %
Свежие плоды	0,24	95	2,45	0,0063	0,0024	0,01	2,48
Замороженные плоды	0,22	95	2,45	0,0097	0,0037	0,03	4,05
Высушенные плоды	0,19	95	2,45	0,0047	0,0018	0,02	1,07

В плодах рябины обыкновенной определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, которое составило: 0,24±0,01% для свежего сырья, 0,22±0,03% для замороженного сырья и 0,19±0.02% для высушенных плодов.

Определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в плодах шиповника коричного различных способов консервации проводили по методике, изложенной в статье 52 ГФ XI изд., в.2 «Трава зверобоя».

Методика. Около 5 г свежих или замороженных (или около 2 г высушенных) измельченных плодов помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляли 30 мл 50% спирта этилового. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Вату помещали в колбу для экстрагирования и прибавляли 30 мл 50% спирта этилового. Экстракцию повторяли еще дважды в описанных выше условиях, фильтруя извлечения в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводили 50% спиртом этиловым до метки и перемешивали (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора А, 1 мл раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом и доводили объем раствора 95% спиртом этиловым до метки. Через 40 мин измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя

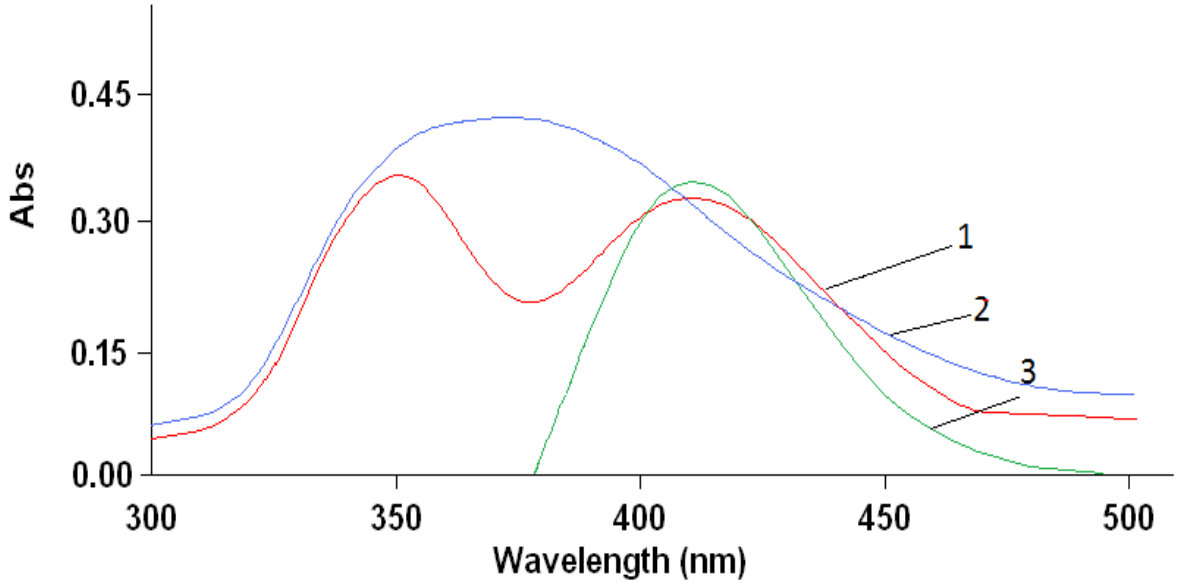


Рис.21. УФ-спектры комплексов флавоноидов и фенолкарбоновых кислот плодов рябины обыкновенной с алюминия хлоридом

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

10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 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 измеряли оптическую плотность рабочего стандартного образца рутина, приготовленного аналогично испытуемому раствору.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляли 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 17.

Как видно из представленных данных, замораживание и высушивание приводит к изменениям количественного содержания флавоноидов в плодах шиповника коричного: происходит снижение содержании данной группы БАВ на 3% и 14% соответственно.

Таблица 17. Количественное содержание флавоноидов в плодах шиповника различных способов консервации

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	$_{\Delta}X$	E, %
Свежие плоды	0,210	95	2,45	0,0045	0,0017	0,010	1,93
Замороженные плоды	0,203	95	2,45	0,0058	0,0022	0,009	2,56
Высушенные плоды	0,180	95	2,45	0,0077	0,0029	0,007	2,85

Определение содержания флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье в плодах аронии черноплодной проводили согласно ФС 42-66-87 «Арония черноплодная» методом спектрофотометрии, основанным на способности флавоноидов поглощать поляризованный свет в видимой области спектра (рис. 22, 23).

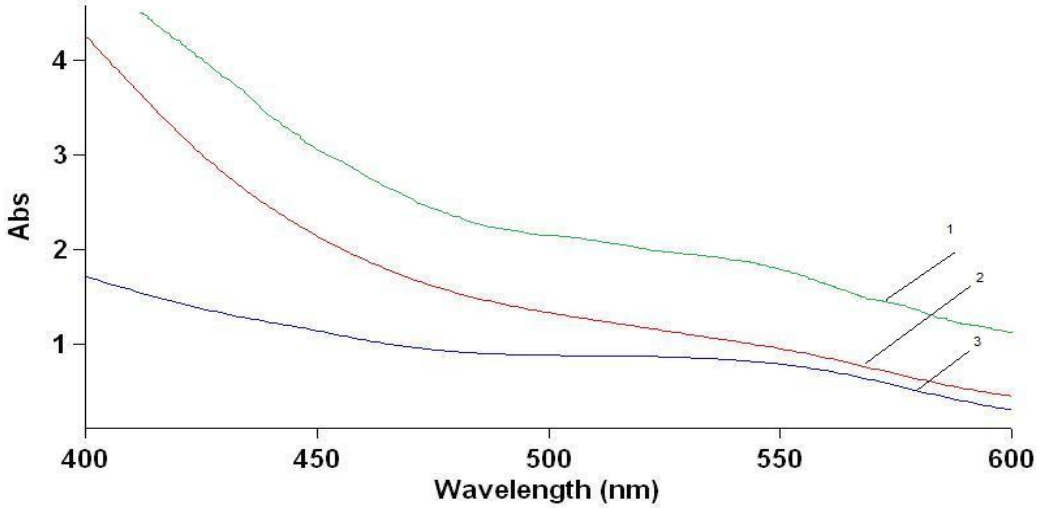


Рис. 22. Спектры поглощения флавоноидов плодов черноплодной рябины

1 – извлечения свежих плодов;2 – извлечения замороженных плодов

3 –извлечения высушенных плодов

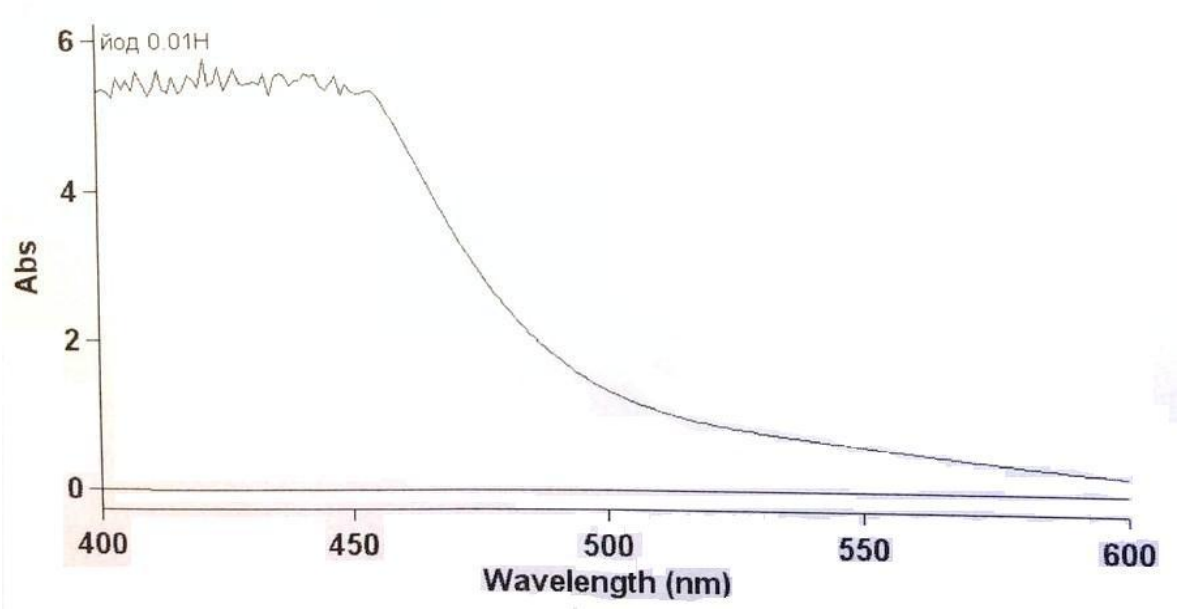


Рис. 23. Спектр поглощения стандартного образца (0,01 н I_2)

Методика: Около 5 г свежих или замороженных (или около 1 г высушенных) измельченных плодов помещали в ступку, добавляли 0,2 – 0,3 г стеклянного порошка или кварцевого песка, приливали 5 мл 2 % раствора гидроксида калия и тщательно растирали до получения однородной массы. Полученную массу количественно переносили в колбу вместимостью 100 мл с помощью 40 мл 2% раствора гидроксида калия и нагревали с обратным холодильником на кипящей

водяной бане 15 минут. Затем содержимое колбы быстро охлаждали струей холодной воды до комнатной температуры и количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл с помощью 2 % раствора гидроксида калия, доводили объем раствора тем же раствором щелочи до метки, перемешивали и фильтровали. 4 мл фильтрата помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора водой до метки, перемешивали и оставляли на 10 минут. Измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 535 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали воду. В качестве раствора стандартного образца использовали свежеприготовленный 0,01 н раствор йода.

Содержание Р - витаминных веществ (флавоноидов) в плодах аронии в % (Х) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X=\frac{D_1 \times 0{,}012 \times 5 \times 100 \times 100}{D_2 \times m \times (100 - W)}$$, где

D_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_2 – оптическая плотность раствора стандартного образца;

m – масса сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Результаты исследований представлены в таблице 18.

Таблица 18. Результаты определения содержание флавоноидов в плодах аронии черноплодной различных способов консервации

Вид сырья	X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	ΔX	E, %
Свежие плоды	3,04	95	2,45	0,0046	0,0013	0,06	4,33
Замороженные плоды	2,58	95	2,45	0,0038	0,0014	0,04	2,26
Высушенные плоды	2,07	95	2,45	0,0070	0,0028	0,04	1,95

При изучении влияния способов консервации на содержание флавоноидов связи между способом консервации и морфологической структурой плодов выявить не удалось. Установлено, что при замораживании содержание

флавоноидов уменьшается в среднем на 10-20%; в высушенных плодах количество флавоноидов снижалось в 1,5-2 раза по сравнению с замороженным сырьем.

4.3.2. Количественная оценка содержания антоцианов в плодах различных способов консервации

Флавоноидные соединения в плодах малины обыкновенной, черники обыкновенной и аронии черноплодной представлены антоцианами. В связи с этим в свежих, замороженных и высушенных плодах проводили количественную оценку содержания антоцианов.

Сумму антоцианов в плодах малины определяли в соответствии со статьей 6 ГФ XI изд., в.2 «Цветки василька синего» методом прямой спектрофотометриии. Пересчет вели на цианидин-3,5-диглюкозид поскольку, максимум спектра поглощения извлечений из плодов малины (510-520 нм) совпал с максимумом спектра поглощения стандартного образца - цианидин-3,5-диглюкозида (рис.24).

Методика. Около 5 г (точная навеска) свежих или замороженных (или около 2 г высушенных) измельченных плодов помещали в колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 100 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты, колбу выдерживали на водяной бане при температуре 40-45 °С в течение 15 мин. Извлечение фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл. Вату с сырьем снова помещали в колбу, прибавляли 100 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты, предварительно смывая частицы сырья с воронки в колбу, и повторяли экстрагирование указанным выше способом. Затем содержимое колбы фильтровали через вату в ту же мерную колбу. Сырье на фильтре промывали 40 мл 1% раствора хлористоводородной кислоты. После охлаждения фильтрата доводили объем извлечения 1% раствором хлористоворoдной кислоты до метки. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр в колбу вместимостью 250 мл, отбрасывая первые 10 мл

фильтрата, и измеряли оптическую плотность фильтрата на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения использовали 1% раствор хлористоводородной кислоты.

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3,5-диглюкозид в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляли 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.

Количественную оценку суммарного содержания антоцианов в плодах черники обыкновенной и аронии черноплодной различных способов консервации проводили также методом прямой спектрофотометрии по методике Европейской фармакопеи (т.6, 2008) «Плоды черники свежие». Суммарную концентрацию антоцианов определяли относительно цианидин–3–О–глюкозида, максимум поглощения которого составляет 534 нм (рис.25,26). При проведении спектрального анализа исследуемых соединений использовали UV-Vis спектрофотометр Agilent 8453 (США) с диапазоном длин волн от 190 до 700 нм.

Методика. Около 5 г (точная навеска) свежих или замороженных (или около 2 г высушенных) измельченных плодов помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл 60 % этилового спирта, содержащего 1% хлористоводородной кислоты. Колбу закрывали притертой пробкой.

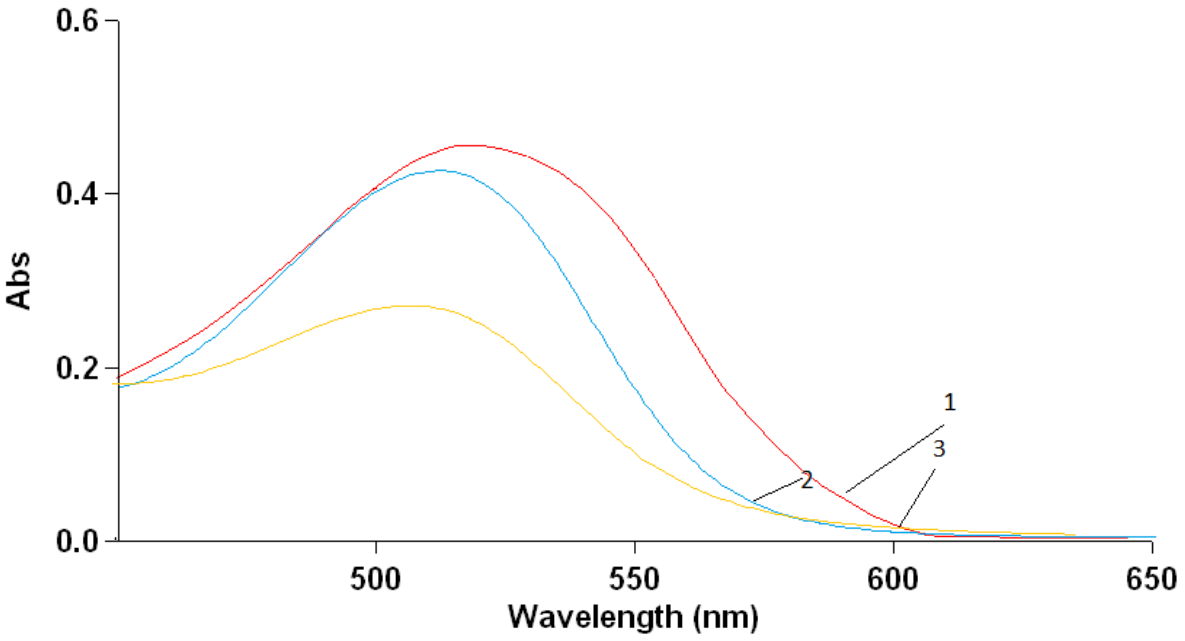


Рис.24. УФ-спектры поглощения антоцианов плодов малины обыкновенной.

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

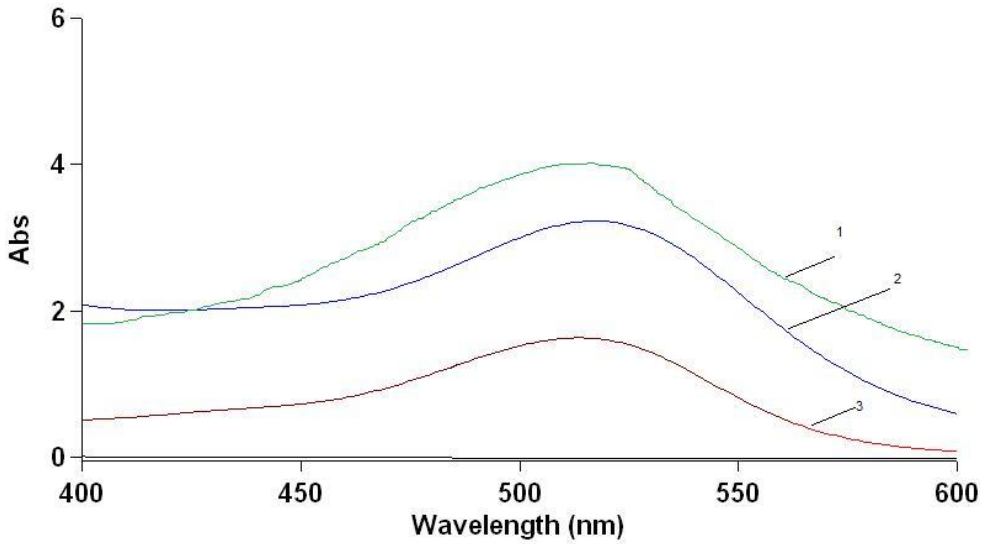


Рис. 25. Спектры поглощения антоцианов плодов аронии черноплодной

1 – извлечение из свежих плодов; 2 – извлечение из замороженных плодов

3 – извлечение из высушенных плодов.

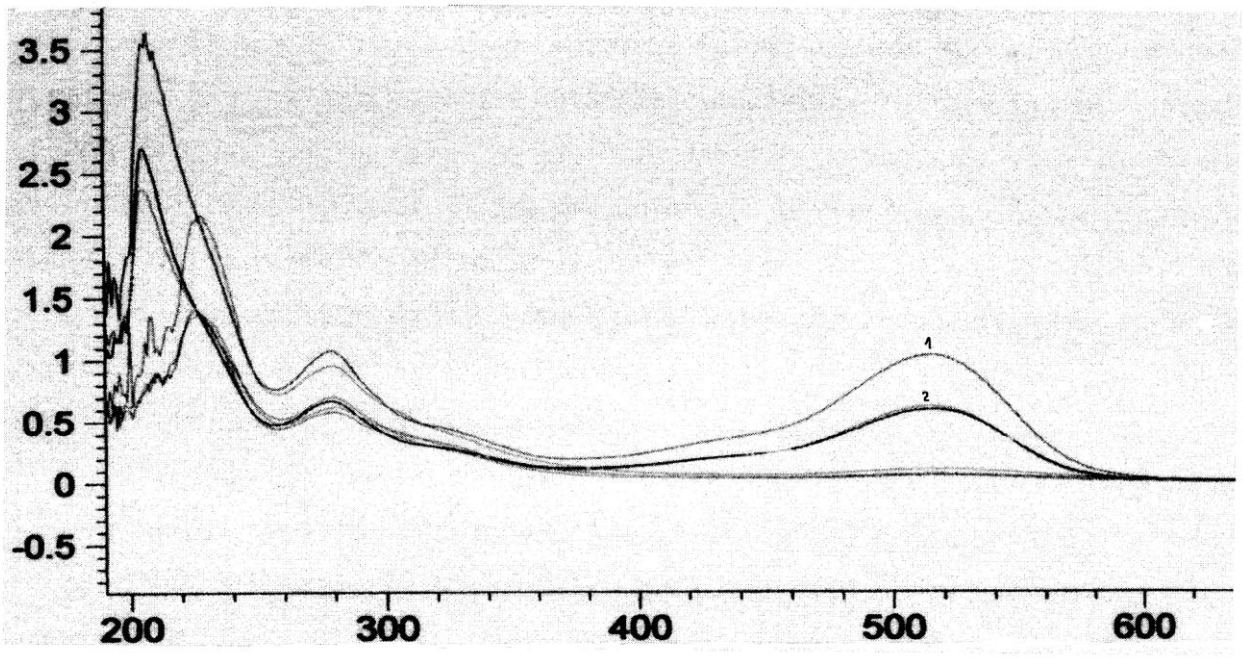


Рис. 26. Спектры поглощения цианидин-3-О-глюкозида (1), антоцианов в извлечении свежих плодов черники (2).

Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 90 минут. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр. 1 мл полученного извлечения помещали в мерную колбу на 25 мл и доводили до метки 1% раствором хлористоводородной кислоты в 95% этиловом спирте. Оптическую плотность измеряли в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 534 нм. В качестве раствора сравнения использовали 95 % этиловый спирт.

Содержание суммы антоцианов в плодах в процентах (X) в пересчете на абсолютно-сухое сырье и цианидин-3-О-глюкозид вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times 50 \times 100}{100 \times m \times (100 - W)}$$, где

D – оптическая плотность испытуемого раствора,

100 – удельный показатель поглощения цианидин-3 – О – гликозида,

m - масса сырья, г;

W – влажность сырья в процентах

Приготовление 60 % этилового спирта, содержащего 1% хлористоводородной кислоты. К 126 мл 95 % этилового спирта добавляют 5,5 мл

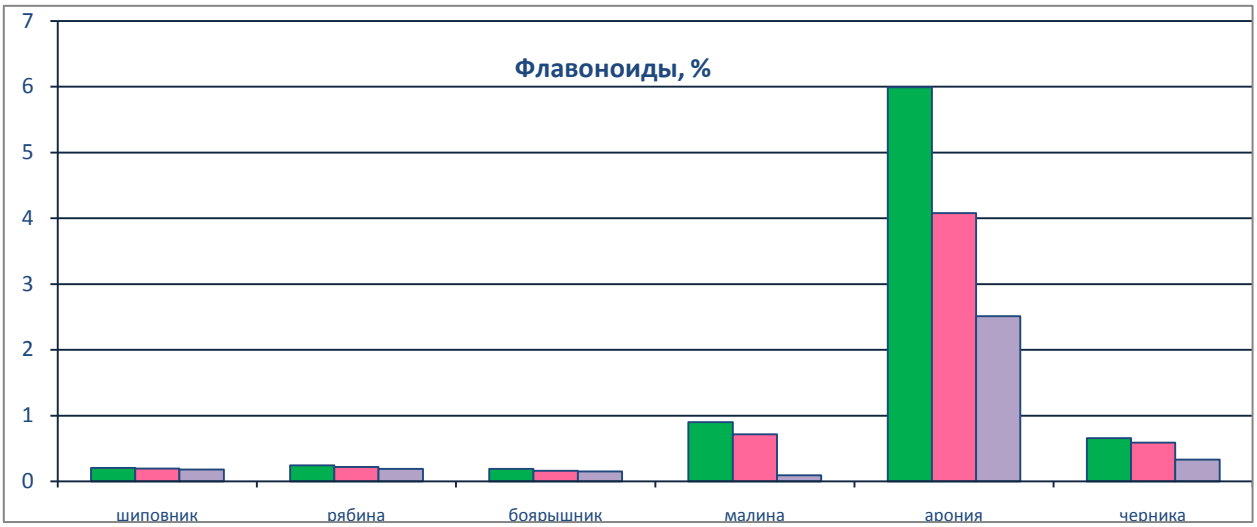
кислоты хлористоводородной концентрированной, доводили водой до объема 200,0 мл.

Результаты исследований представлены в таблице 19 и на рисунке 27.

Сравнительный анализ содержания антоцианов показал, что в свежих плодах черники, малины и рябины черноплодной подвергнутых замораживанию, наблюдается снижение их количества на 20-30%. Воздействие высоких температур на сырье приводит к значительным потерям антоцианов: их содержание в высушенных плодах малины снижается практически в 10 раз по сравнению со свежим сырьем, а в плодах черники и аронии более чем в два раза. Полученные данные свидетельствуют о том, что замораживание является более предпочтительным методом консервации для сохранения указанной группы БАВ в плодах.

Таблица 19.Определение содержания антоцианов в плодах черники обыкновенной, малины обыкновенной и аронии черноплодной

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	ΔX	E, %
Плоды черники	Свежие	1,66	95	2,45	0,0023	0,0011	0,05	4,30
	Замороженные	1,59	95	2,45	0,0016	0,0005	0,08	1,78
	Высушенные	1,33	95	2,45	0,0036	0,0018	0,04	2,70
Плоды аронии	Свежие	5,99	95	2,45	0,0017	0,0006	0,07	2,35
	Замороженные	4,08	95	2,45	0,0063	0,0024	0,06	3,02
	Высушенные	2,51	95	2,45	0,0034	0,0013	0,05	2,60
Плоды малины	Свежие	0,90	95	2,45	0,0119	0,0045	0,01	1,22
	Замороженные	0,71	95	2,45	0,0085	0,0032	0,02	1,12
	Высушенные	0,09	95	2,45	0,0048	0,0018	0,01	4,26



*для плодов малины, черники и аронии представлены результаты количественного содержания антоцианов

свежие плоды замороженные плоды высушенные плоды

Рис. 27. Содержание флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных плодах.

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

Определение содержания дубильных веществ в пересчете на танин в плодах различных способов консервации проводили методом перманганатометрического титрования согласно методике общей статьи ГФ XI издания в.1, стр. 286 «Определение содержания окисляемых веществ в лекарственном растительном сырье». Условия титрования (двадцатикратное разведение извлечения) позволяют использовать данный фармакопейный метод в анализе плодов, несмотря на выраженную собственную окраску извлечений плодов и возможное влияние других БАВ, обладающих окислительно-восстановительными свойствами.

Методика. Около 5 г (точная навеска) свежих или замороженных (или около 2 г высушенных) измельченных плодов, помещали в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливали 250 мл нагретой до кипения воды очищенной и кипятили с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 минут при периодическом перемешивании. Жидкость

охлаждали до комнатной температуры и процеживали около 100 мл в колбу вместимостью 200 – 250 мл через вату так, чтобы частицы сырья не попали в колбу.

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

Параллельно ставили контрольный опыт: к 25 мл раствора индигосульфокислоты прибавляли 500 мл воды очищенной и титровали перманганатом калия.

Определение содержания дубильных веществ (X) в процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье рассчитывали 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;

V_1 – 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 растворяли в 25 мл концентрированной серной кислоты, затем прибавляли еще 25 мл концентрированной серной кислоты и разбавляли водой очищенной до 1 л, осторожно вливая раствор в воду.

Полученные данные количественного содержания дубильных веществ в исследуемых образцах представлены в таблице 20 и на рисунке 28.

Согласно полученным результатам исследований воздействие на плоды низких температур позволяет сохранить большее количество дубильных веществ в сырье, по сравнению с высушиванием. Потери дубильных веществ при замораживании сырья могут быть связаны с гистологической структурой околоплодника с разрушением клеточных органелл из-за образующихся кристаллов льда, высвобождением белков и их взаимодействием с дубильными веществами с образованием нерастворимых комплексов: при замораживании плодов с толстым экзокарпием (боярышник, рябина, шиповник, арония) потери дубильных веществ составляли 10-15%, тогда как у плодов малины, калины, черники (с тонкой кожурой) до 20%. При высушивании сырья связи между способом консервации и морфологическим строением плодов выявить не удалось, дубильные вещества разрушаются значительно, их потери составляют 36-55%. По-видимому, при сушке происходит окисление полифенолов, а также образование нерастворимых флобафенов.

Таблица 20. Результаты определения содержания дубильных веществ в плодах

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	$_{\Delta}X$	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

Плоды аронии	Свежие	9,41	95	2,45	0,1374	0,0520	0,14	3,41
	Замороженные	8,50	95	2,45	0,1268	0,0398	0,09	2,56
	Высушенные	4,43	95	2,45	0,0852	0,0314	0,07	1,98
Плоды калины	Свежие	4,83	95	2,45	0,1812	0,0613	0,24	2,44
	Замороженные	3,81	95	2,45	0,0914	0,0385	0,19	2,08
	высушенные	3,19	95	2,45	0,1226	0,0451	0,15	4,56
Плоды черники	Свежие	9,80	95	2,45	0,1421	0,0564	0,08	4,73
	Замороженные	7,60	95	2,45	0,0756	0,0283	0,10	2,09
	высушенные	6,30	95	2,45	0,0867	0,0305	0,20	3,17

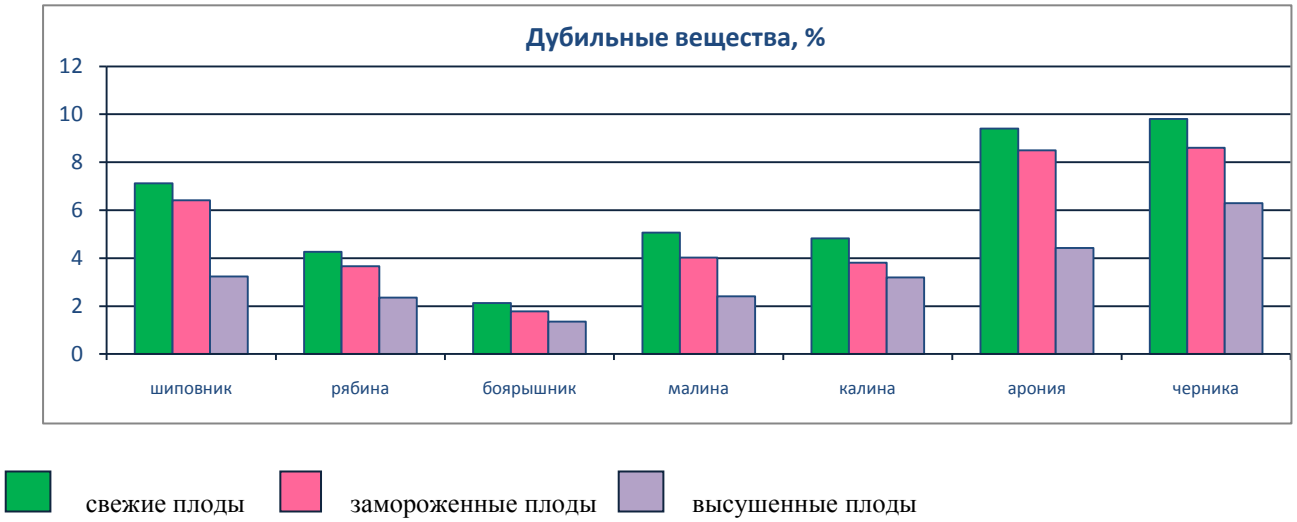


Рис. 28. Содержание дубильных веществ в свежих, замороженных и высушенных плодах.

4.4. Количественный анализ полисахаридов в плодах различных способов консервации

Согласно литературным данным полисахариды обладают широким спектром фармакологического действия, оказывая влияние на различные органы и ткани, а также участвуя в обменных процессах. Изучаемые плоды лекарственных растений характеризуются высоким содержанием сахаров. Состав и структура

полисахаридов различна. Поэтому изучение количественного содержания этой группы БАВ в плодах различных способов консервации представляется интересным.

Определение содержания суммы полисахаридов проводили фармакопейным методом - гравиметрии в соответствии с методикой, приведенной в статье 20 ГФ XI издания, в.2, стр.264 «Листья подорожника большого». Для количественной оценки сахаров метод гравиметрии является наиболее доступным и простым в исполнении.

Методика. Аналитическую пробу массой 10 г (точная навеска) измельченных свежих, замороженных и высушенных плодов помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 200 мл воды очищенной и кипятили с обратным холодильником на электрической плитке в течение 30 минут. Экстракцию повторяли еще 2 раза, используя в первом случае 200 мл, а во втором – 100 мл воды. Затем полученные растворы объединяли, центрифугировали с частотой вращения 5000 об/мин в течение 10 минут и декантировали в мерную колбу вместимостью 500 мл через 5 слоев марли, вложенную в стеклянную воронку диаметром 55 мм и предварительно промытую водой. Фильтр промывали водой и доводили объем раствора до метки.

25 мл раствора помещали в центрифужную пробирку, прибавляли 75 мл 95% спирта, перемешивали, выдерживали на водяной бане в течение 5 минут. Через час содержимое центрифугировали с частотой вращения 5000 об/мин в течении 30 минут.

Надосадочную жидкость фильтровали 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 переносили на фильтр и последовательно промывали 15 мл раствора 95% спирта в воде (3:1), 10 мл ацетона, 10 мл этилацетата. Фильтр с осадком высушивали сначала на воздухе, затем при температуре 100-105 °С до постоянной массы.

Содержания суммы полисахаридов (X) в процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье определяли 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 плодах представлены в таблице 21 и на рисунке 29.

Таблица 21. Результаты определения содержания полисахаридов в изучаемых видах растительного сырья.

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	$_{\Delta}X$	E, %
Плоды боярышника	Свежие	5,69	95	2,78	0,0997	0,0446	0,12	2,11
	Замороженные	5,07	95	2,78	0,0644	0,0288	0,08	1,97
	Высушенные	4,53	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	4,32	95	2,78	0,0805	0,0360	0,10	2,33
	Высушенные	4,30	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	5,35	95	2,78	0,0709	0,0317	0,09	1,48
	Высушенные	5,30	95	2,78	0,1127	0,0504	0,14	2,36
Плоды шиповника	Свежие	4,32	95	2,78	0,1183	0,0529	0,12	1,61
	Замороженные	4,22	95	2,78	0,1295	0,0579	0,06	1,73
	высушенные	4,17	95	2,78	0,1447	0,0647	0,08	1,95
Плоды калины	Свежие	3,94	95	2,78	0,0924	0,0388	0,06	2,96
	Замороженные	3,76	95	2,78	0,0834	0,0392	0,04	1,33
	Высушенные	3,42	95	2,78	0,0542	0,0306	0,08	1,85

Плоды черники	Свежие	5,13	95	2,78	0,1057	0,0512	0.08	2,05
	Замороженные	5,07	95	2,78	0,0763	0,0329	0,09	2,78
	высушенные	4.90	95	2,78	0,1130	0,0525	0,06	2,14
Плоды аронии	Свежие	5,22	95	2,78	0,1134	0,0507	0,08	1,66
	Замороженные	4,88	95	2,78	0,0976	0,0424	0,12	2,74
	высушенные	4,20	95	2,78	0,1431	0,0675	0,09	2, 12

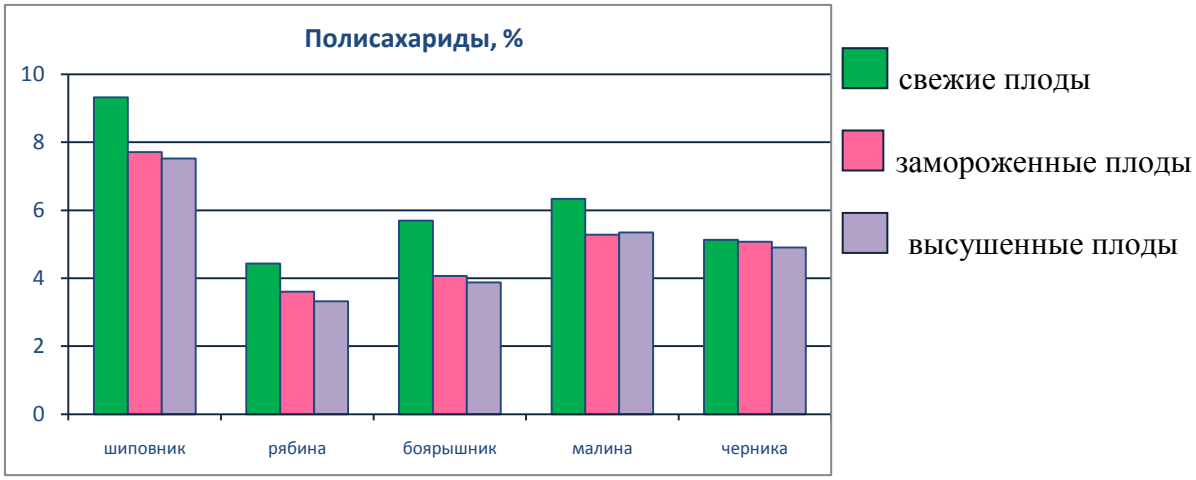


Рис. 29. Содержание полисахаридов в свежих, замороженных и высушенных плодах.

Результаты изучения влияния способов консервации на содержание полисахаридов в плодах показали, что полисахариды оказались наиболее стабильной группой БАВ из всех изученных. Их содержание как в замороженных (снижение на 2-8%), так и в высушенных (снижение на 10-18%) плодах незначительно отличалось от количества в свежем сырье, хотя тенденция к снижению содержания полисахаридов наблюдалась, как при воздействии на плоды высоких, так и низких температур. Это возможно объяснить гидролитическими процессами, протекающими в растительном сырье при замораживании и высушивании, а также инверсией сахарозы.

Таким образом, в ходе проведенных исследований были получены данные о влиянии замораживания и высушивания плодов на содержание таких групп БАВ,

как флавоноиды, антоцианы, полисахариды, аскорбиновая кислота, дубильные вещества и органические кислоты. Сравнительный анализ показал, что после замораживания образцов сырья количественное содержание в них БАВ существенно не менялось (полисахариды) или наблюдалось незначительное снижение: содержание флавоноидов, дубильных веществ уменьшается в среднем на 10-20%. органические кислоты сохраняются до 90% от их исходного содержания в свежем сырье, содержание антоцианов падает на 30%.

Под воздействием высоких температур происходит снижение количества органических кислот на 45-60%; дубильные вещества, аскорбиновая кислота и антоцианы разрушаются в большей степени, их содержание не превышает 40, 50 20% соответственно. Высушивание снижает содержание полисахаридов и флавоноидов (на 15-20%) в сырье**.** Полученные данные по содержанию БАВ говорят, что замораживание как способ консервации является предпочтительным для сохранения качества лекарственного растительного сырья.

4.5. Выводы к главе 4

1. Выявлены закономерности влияния способов консервации на содержание БАВ лекарственного растительного сырья на примере плодов ЛР семейств Розоцветные, Жимолостные, Вересковые.

2.Оптимизированы методики (подобраны оптимальные условия пробоподготовки) определения содержания органических кислот, флавоноидов, антоцианов, полисахаридов, дубильных веществ для использования их при изучении свежих, замороженных и высушенных плодов.

3. Определено содержание аскорбиновой кислоты в свежих, замороженных и высушенных плодах соответственно – 0,090±0,002%, 0,076±0,004%, 0,030±0,002% (боярышник); 1,31±0,03%, 1,17±0,06%, 0,32±0,02% (шиповник); 0,31±0,07%, 0,28±0,07%, 0,12±0,03% (рябина обыкновенная); 0,170±0,007%, 0,160±0,006%, 0,060±0,002% (калина); 0,18 ± 0,01%, 0,17± 0,01%, 0,02 ± 0,01% (малина); 0,19 ± 0,07%, 0,17 ± 0,08%; 0,08 ± 0,02% (арония); 0,72 ± 0,08%, 0,64 ± 0,07%, 0,39 ± 0,06% (черника).

4. Определено содержание органических кислот в свежих, замороженных и высушенных плодах соответственно – 2,61±0,02%, 2,57±0,03%, 0,90±0,02% (боярышник); 4,72±0,01%, 4,67±0,06%, 2,15±0,04% (шиповник); 5,90±0,03%, 5,78±0,02%, 3,35±0,02% (рябина обыкновенная); 4,23±0,06%, 3,86±0,08%, 2,64±0,09% (калина); 7,40 ± 0,02%, 6,53 ± 0,04%, 5,38 ± 0,08% (малина); 5,19 ± 0,04%, 4,92 ± 0,01%; 3,24 ± 0,02% (арония); 0,13±0,05%, 0,12±0,03%, 0,08±0,05% (черника).

5. Изучено содержание суммы флавоноидов в свежих, замороженных и высушенных образцах сырья соответственно - 0,19±0,01%, 0,16±0,02%, 0,15±0.01% (боярышник); 0,21±0,01%, 0,20±0,01%, 0,18±0,01% (шиповник); 0,24±0,01%, 0,22±0,03%, 0,19±0.02% (рябина обыкновенная); 3,04 ± 0,06%, 2,58 ± 0,04%; 2,07 ± 0,04% (арония).

6. Проведено определение содержания суммы антоцианов в свежих, замороженных и высушенных плодах малины, аронии и черники, которое составило соответственно: 0,90 ± 0,01%, 0,71 ± 0,02%, 0,09± 0,02%; 5,99 ± 0,07%, 4,08 ± 0,06%, 2,51 ± 0,05%; 1,66 ± 0,05%, 1,59 ± 0,08%, 1,33 ± 0,04%.

7.Определено содержание суммы дубильных веществ в свежих, замороженных и высушенных плодах соответственно – 2,13±0,08%, 1,78±0,09%, 1,36±0,06% (боярышник); 7,12±0,11%, 6,41±0,07%, 3,24±0,08% (шиповник); 4,27±0,02%, 3,66±0,04%, 2,35±0,07% (рябина обыкновенная); 4,83±0,19%, 3,81±0,15%, 3,19±0,08% (калина); 5,06 ± 0,14%, 4,03 ± 0,09%, 2,41± 0,12% (малина); 9,41 ± 0,14%, 8,50 ± 0,09%; 4,43 ± 0,07% (арония); 9,8 ± 0,08%, 7,6 ± 0,1%, 6,3 ± 0,2% (черника).

8. Изучено содержание суммы полисахаридов в свежих, замороженных и высушенных плодах, которое составило –5,69±0.12%; 5,07 ± 0,08%; 4,53±0.05% (боярышник); 4,43 ± 0,07%; 4,32±0,06%; 4,30±0.08% (рябина); 4.32±0.12%; 4,22±0.06%; 4,17±0.08% (шиповник); 3,94±0,04%, 3,76±0,08%, 3,42±0,08% (калина); 6,33± 0,13%, 5,85± 0,09%, 5,28± 0,01% (малина); 5,22± 0,08%, 4,88± 0,12%; 4,20 ± 0,09% (арония); 5,13±0.08%, 5,07± 0,09%, 4.90± 0,06% (черника).

9.На основании сравнительного изучения установлено, что при замораживании количество полисахаридов и аскорбиновой кислоты почти не изменяется (снижается на 5-7%), содержание органических кислот, флавоноидов и дубильных веществ изменяется незначительно (падает на 10-20%), а содержание антоцианов снижается на 30%. -При высушивании наиболее заметно сокращается количество аскорбиновой кислоты и антоцианов (не превышает 15-20% от содержания в свежем сырье), содержание дубильных веществ и органических кислот падает почти в два раза, тогда как содержание полисахаридов и флавоноидов существенно не изменяется (происходит их снижение в среднем на 6-15%).

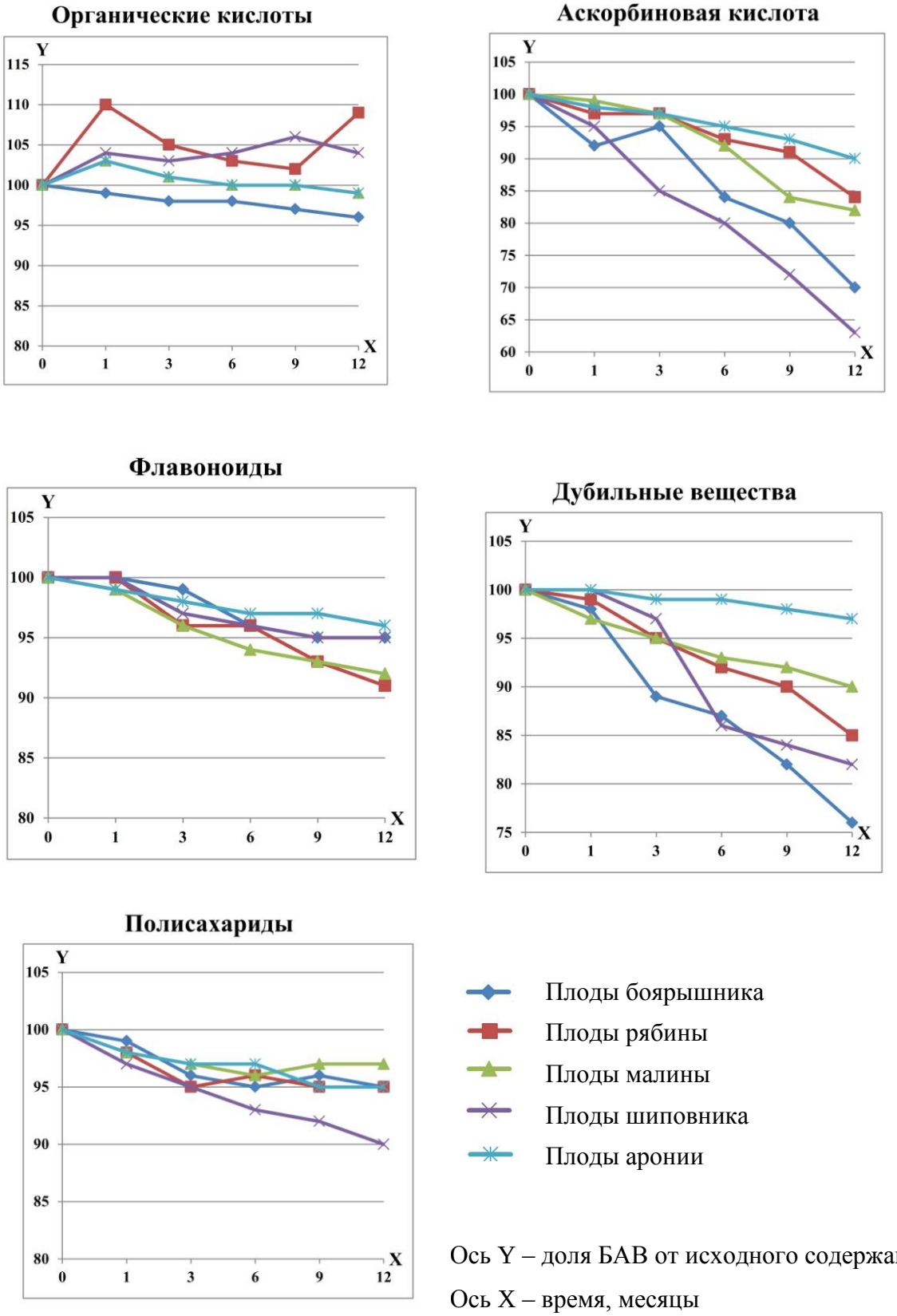
Глава 5. Изучение стабильности биологически активных веществ в замороженных и высушенных плодах при хранении

Важным аспектом при исследовании влияния различных способов консервации плодов на содержание БАВ является изучение их стабильности при хранении сырья [102,132]. Изучение стабильности БАВ в замороженных и высушенных плодах боярышника, рябины, малины, шиповника и аронии проводили в течение 1 года. В качестве контрольных точек были взяты исходные данные, а также интервалы в 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев.

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.
Анализ проводили всех изучаемых групп БАВ вышеуказанными методами.

Результаты исследования представлены в таблицах 22 и 23.

Как видно из полученных данных в процессе хранения плодов в замороженном виде флавоноиды, полисахариды и органические кислоты являются относительно стабильными группами БАВ; содержание флавоноидов и полисахаридов в течение 12 месяцев не изменяется, а содержание органических кислот даже незначительно возрастает. Тенденция к постоянному снижению количества наблюдается у аскорбиновой кислоты и дубильных веществ: в первые 6 месяцев в среднем на 15% и 12% соответственно, за период от 9 до 12 месяцев потери аскорбиновой кислоты составили 28 %, дубильных веществ 24% (рис.30).



Ось Y – доля БАВ от исходного содержания,%

Ось X – время, месяцы

* для плодов малины и аронии представлены результаты определения антоцианов

Рис.30. Динамика содержания БАВ при хранении замороженных плодов.

Таблица 22. Результаты содержания БАВ в замороженных плодах при хранении

Вид сырья	Срок хранения	Влажность, %	Сумма органических кислот, %	Аскорбиновая кислота, %	Сумма флавоноидов, % (*)	Дубильные вещества, %	Полисахариды, %
Плоды боярышника	0 мес.	70,60	2,57	0,076	0,164	1,78	5,07
	1 мес.	70,24	2,55	0,070	0,164	1,74	5,02
	3 мес.	69,45	2,52	0,072	0,162	1,58	4,86
	6 мес.	67,89	2,52	0,064	0,158	1,55	4,83
	9 мес.	65,32	2,50	0,061	0,155	1,46	4,85
	12 мес.	64,06	2,48	0,054	0,155	1,35	4,82
Плоды рябины	0 мес.	72,90	5,78	0,282	0,222	3,66	4,32
	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	6,53	0,175	0,717	4,03	5,85
	1 мес.	76,73	6,73	0,173	0,709	3,91	5,72
	3 мес.	75,82	6,62	0,170	0,685	3,82	5,65
	6 мес.	72,37	6,57	0,161	0,673	3,74	5,61
	9 мес.	71,09	6,53	0,147	0,664	3,67	5,63
	12 мес.	68,35	6,45	0,143	0,658	3,61	5,65
Плоды шиповника	0 мес.	67,32	4,67	1,172	0,201	6,41	4,22
	1 мес.	67,03	4,85	1,164	0,199	6,38	4,09
	3 мес.	65,14	4,83	1,146	0,195	6,25	4,02
	6 мес.	63,64	4,84	1,138	0,193	5,48	3,94
	9 мес.	61,32	4,88	1,123	0,190	5,41	3,86
	12 мес.	60,94	4,85	0,108	0,190	5,27	3,60

Плоды аронии	0 мес.	73,45	4,92	0,170	4,08	8,50	4,88
	1 мес.	73,05	5,01	0,166	4,02	8,46	4.79
	3 мес.	72,00	4,99	0,164	3,98	8,41	4.72
	6 мес.	70,62	4,96	0,160	3,95	8.38	4.70
	9 мес.	69,36	4,90	0,158	3,95	8.32	4,65
	12 мес.	68,12	4,88	0,154	3,93	8,24	4,64

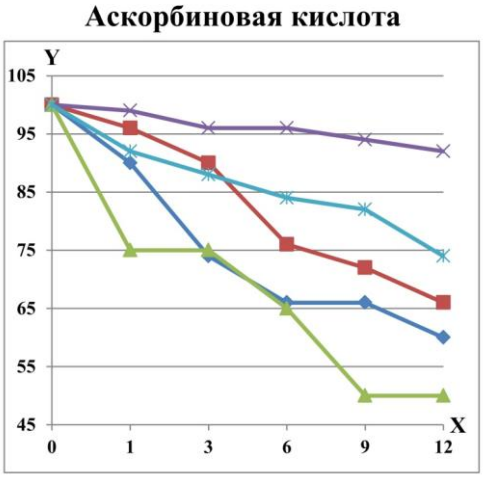
* для плодов малины и аронии представлены результаты определения антоцианов

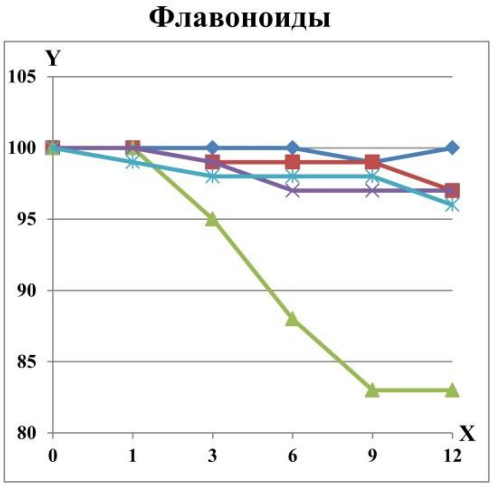
Таблица 23. Результаты содержания БАВ в высушенных плодах при хранении.

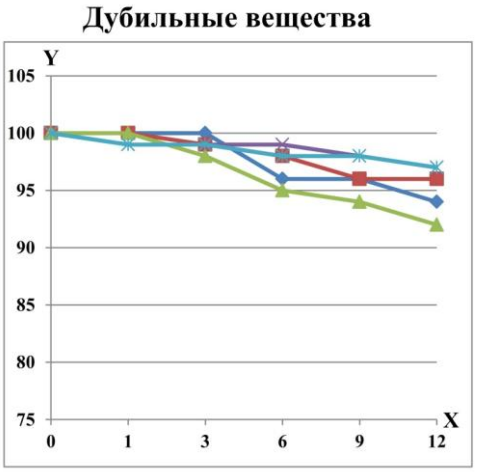
Вид сырья	Срок хранения	Влажность, %	Сумма органических кислот, %	Аскорбиновая кислота, %	Сумма флавоноидов, % (*)	Дубильные вещества, %	Полисахариды, %
Плоды боярышника	0 мес.	4,60	0,90	0,030	0,152	1,36	4,53
	1 мес.	4,62	0,92	0,027	0,152	1,36	4,55
	3 мес.	4,54	0,89	0,022	0,152	1,35	4,52
	6 мес.	4,55	0,86	0,020	0,151	1,30	4,50
	9 мес.	4,53	0,81	0,020	0,150	1,30	4,50
	12 мес.	4,51	0,81	0,018	0,151	1,27	4,45
Плоды рябины	0 мес.	4,60	3,35	0,121	0,193	2,35	4,30
	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	0,020	0,094	2,41	5,28
	1 мес.	5,01	5,31	0,015	0,092	2,39	5,23

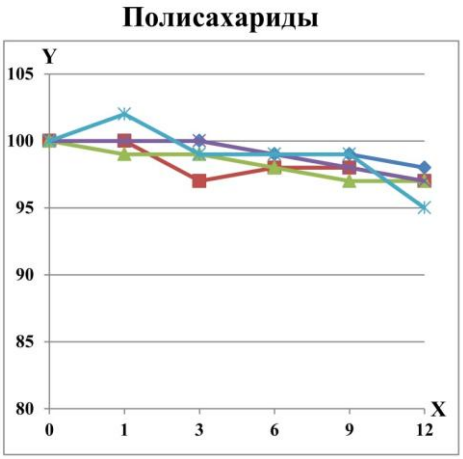
	3 мес.	5,05	5,24	0,014	0,089	2,36	5,22
	6 мес.	5,09	5,26	0,013	0,083	2,28	5,20
	9 мес.	5,12	5,22	0,010	0,078	2,26	5,19
	12 мес.	5,17	5,21	0,010	0,078	2,21	5,18
Плоды шиповника	0 мес.	5,33	2,15	0,320	0,182	3,24	4,17
	1 мес.	5,33	2,08	0,317	0,180	3,20	4,15
	3 мес.	5,37	2,11	0,309	0,179	3,21	4,13
	6 мес.	5,36	2,12	0,305	0,176	3,20	4,11
	9 мес.	5,39	2,09	0,300	0,177	3,17	4,06
	12 мес.	5,42	2,10	0,296	0,176	3,15	4,04
Плоды аронии	0 мес.	7,40	3,24	0,083	2,510	4,43	4,20
	1 мес.	6,75	3,21	0,076	2,493	4,39	4,22
	3 мес.	4,15	3.20	0,073	2,486	4,38	4,18
	6 мес.	4,08	3,17	0,069	2,480	4,36	4,16
	9 мес.	4,06	3.15	0,064	2,481	4,32	4,15
	12 мес.	4,10	3,14	0,061	2,478	4,28	4,12

* для плодов малины и аронии представлены результаты определения антоцианов









Плоды боярышника

Плоды рябины

Плоды малины

Плоды шиповника

Плоды аронии

Ось Y – доля БАВ от исходного содержания,%

Ось X – время, месяцы

* для плодов малины и аронии представлены результаты определения антоцианов

Рис. 31. Динамика содержания БАВ при хранении высушенных плодов.

В процессе хранения от 1 до 12 месяцев высушенных плодов шиповника, боярышника, рябины обыкновенной, аронии черноплодной и малины содержание органических кислот, полисахаридов, флавоноидов и дубильных веществ практически не изменяется. Сопоставление количественного содержания аскорбиновой кислоты показывает, что наблюдается снижение ее количества после 12 месяцев хранения высушенных плодов от исходного содержания на 40-50% (рис.31). Также к концу хранения в высушенных плодах малины обыкновенной было снижено количество антоцианов на 17%.

На основании полученных экспериментальных результатов можно рекомендовать сроки хранения замороженных плодов -12 месяцев.

Выводы к главе 5

1. Проведено исследование по изучению стабильности БАВ в замороженном и высушенном сырье при хранении в течение 12 месяцев.
2. Определено, что при хранении высушенных плодов заметно снижается содержание аскорбиновой кислоты (на 40-50%); в процессе хранения замороженных плодов наиболее значительно снижается содержание аскорбиновой кислоты (на 25-28%) и дубильных веществ (на 22-24%).
3. На основании изучения содержания БАВ в процессе хранения плодов рекомендованы сроки годности для замороженного сырья – 12 месяцев.

Глава 6. Сравнительный анализ экстракционных препаратов из свежего, замороженного и высушенного сырья

Фармакологическое действие препаратов, полученных из растительного сырья определяется не одним конкретным соединением, а целым комплексом биологически активных веществ.

Получение фитоэкстракционных препаратов из растительного сырья, а именно, настоев, отваров, сухих, густых и жидких экстрактов выгодно с точки зрения экономичности и рациональности, поскольку в этом случае обеспечивается максимальный выход биологически активных веществ, повышается фармакотерапевтический эффект, облегчается проблема дозировки препарата. Методы стандартизации экстракционных препаратов несовершенны. Вопросам оценки их качества в настоящее время уделяется большое внимание [138,140,152].

Чаще всего из плодов получают суммарные экстракционные препараты: водные и водно-спиртовые извлечения, которые находят широкое медицинское применение, поэтому целесообразно изучение их характеристик подлинности и доброкачественности.

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

Получение водных извлечений из высушенных плодов регламентируется общей фармакопейной статьей ГФ XI изд., в.2 «Настои и отвары», а также инструкциями по применению ЛРС [141]. Нормативная документация, регламентирующая технологию получения водных извлечений 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: размер частиц сырья, соотношение сырья и экстрагента, условия настаивания (время,

температура). Для оценки влияния измельченности ЛРС на степень извлечения БАВ из свежих и замороженных плодов получали настои согласно инструкциям по применению в соотношении сырье - экстрагент 1 : 20. Плоды измельчали до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 2 мм. Критерием качества водных извлечений было выбрано значение сухого остатка, который характеризует содержание гидрофильной фракции биологически активных веществ в водных извлечениях (таблица 24).

Как видно из полученных результатов значение сухого остатка увеличивается для настоев, полученных из измельченного ЛРС.

Таблица 24. Влияние измельченности ЛРС на качество водных извлечений (n=5, P=95%)

ПЛОДЫ	Сухой остаток, %	
	Цельные плоды	Измельченные плоды
Настои из свежих плодов		
боярышник	0,59 ± 0,04	1,03 ± 0,06
рябина	0,38 ± 0,03	0,76 ± 0,04
арония	0,52± 0,03	0,87± 0,04
калина	0,55 ± 0,03	0,72 ± 0,05
шиповник	0,44 ± 0,04	1,12 ± 0,07
Настои из замороженных плодов		
боярышник	0,75 ± 0,05	0,87 ± 0,05
рябина	0,51 ± 0,04	0,70 ± 0,03
арония	0,66 ± 0,04	0,84 ± 0,03
калина	0,57 ± 0,04	0,64 ± 0,03
шиповник	0,65 ± 0,05	0,92 ± 0,04

Для выбора оптимальной концентрации водных извлечений из свежих и замороженных плодов были получены водные извлечения из измельченного ЛРС в соотношении сырье - экстрагент 1: 10 (согласно фармакопейной методике) и 1:20 (в соответствии с инструкцией по применению). 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

Vизв – объем извлечения, мл

m – навеска сырья, г

W – влажность сырья, %.

Результаты исследования представлены в таблице 25.

Таблица 25. Содержание сухого остатка в водных извлечениях из свежих и замороженных плодов в зависимости от соотношения сырье – экстрагент (n=5, P=95%)

Соотношение сырье : экстрагент	Сухой остаток, %			
	Плоды боярышника	Плоды рябины	Плоды калины	Плоды аронии
Водные извлечения 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
Водные извлечения 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 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. Для получения водных извлечений использовали режимы экстрагирования по методике ГФ XI (30мин на кипящей водяной бане –технология получения отваров) и по инструкции по применению (15 мин на кипящей водяной бане – технология получения настоев). Степень извлечения БАВ определяли по значению «сухого остатка» (табл.26).

Таблица 26. Содержание сухого остатка в отварах и настоях из свежего и замороженного растительного сырья (n=5, P=95%)

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	1,40 ± 0,05	2,15 ± 0,06
Отвар	3,32 ± 0,11	2,55 ± 0,08	2,32 ± 0,08	3,01 ± 0,12
Извлечения из замороженных плодов				
Настой	2,04 ± 0,09	1,46 ± 0,05	1,37 ± 0,07	1,95 ± 0,08
Отвар	3,18 ± 0,10	2,42 ± 0,10	1,93 ± 0,05	2,87 ± 0,09

Установлено, что значение сухого остатка в отварах из свежих и замороженных плодов более чем в 1,5 раза превышает таковой в настоях, что свидетельствует о предпочтении фармакопейной методики получения водных извлечений из замороженного и свежего сырья для более полного извлечения комплекса БАВ. Анализ полученных данных выявил общую тенденцию: увеличение перехода БАВ (увеличение значения сухого остатка) в водные извлечения из свежих и замороженных плодов с уменьшением размера частиц сырья и соотношения сырья: экстрагента и увеличением времени экстрагирования.

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

6.2. Характеристика водных извлечений из плодов различных способов консервации

Государственная фармакопея определяет настои и отвары как жидкую лекарственную форму, представляющую собой водные извлечения из ЛРС, а также водные растворы сухих или жидких экстрактов (концентратов). Эта лекарственная форма является официальной, поэтому необходимо определение характеристик подлинности водных извлечений из плодов различных способов консервации [129,142].

6.2.1. Определение коэффициента водопоглощения

В процессе изготовления водных извлечений из 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.

Согласно приказу №308 МЗ РФ от 21.02.97 г. «Об утверждении инструкции по изготовлению в аптеках жидких лекарственных форм» определение коэффициента водопоглощения проводят в инфундирном аппарате с перфорированным дном.

Методика: Около 5,0 г (точная навеска) плодов, проходящих через сито с диаметром отверстий 2 мм, заливали 50 мл воды очищенной комнатной температуры, настаивали в инфундирном аппарате на кипящей водяной бане при частом перемешивании в течение 30 минут, затем при комнатной температуре 10 минут. Фильтровали через двойной слой марли с подложенным тампоном ваты, промытым водой (отжимая растительное сырье). Объем полученного извлечения измеряли, находили разницу от первоначального объема воды очищенной. Коэффициент водопоглощения рассчитывали по формуле:

$$K_{в} = \frac{V_1 - V_2}{m}$$

где V_1 – первоначальный объем воды очищенной, в миллилитрах; V_2 – объем полученного извлечения, в миллилитрах; m – масса измельченного растительного сырья, в граммах.

Экспериментально установленные коэффициенты водопоглощения для образцов сырья представлены в таблице 27.

Таблица 27. Коэффициенты водопоглощения плодов (n=5, P=95%)

Исследуемые плоды	Коэффициент водопоглощения, мл/г						
	шиповника	рябины	аронии	боярышника	малины	черники	калины
свежие	0,68 ± 0,01	0,91± 0,02	1,25± 0,02	1,50± 0,02	1,02 ±0,01	2,20± 0,01	0,87± 0,03
замороженные	0,56 ± 0,01	0,75± 0,01	1,23± 0,02	1,18± 0,02	1,00 ±0,02	1,96± 0,01	0,72± 0,05
высушенные	1,12 ± 0,02	1,23 ±0,01	1,71± 0,05	2,63 ± 0,02	1,69 ±0,04	3,08 ±0,02	1,44± 0,03

Полученные данные показали, что коэффициенты водопоглощения свежих плодов и замороженных плодов отличаются незначительно и имеют более низкие значения, чем коэффициент водопоглощения высушенных плодов. Это можно объяснить высоким тургором клеток свежего и замороженного сырья по сравнению с содержанием влаги в клетках высушенного сырья.

6.2.2. Определение органолептических характеристик

Определение характеристик подлинности проводили в отварах из свежих, замороженных и высушенных плодов ЛР семейств Жимолостные, Розоцветные и Вересковые.

Отвары готовили согласно фармакопейной методике в соотношении сырье - экстрагент 1 : 10 из измельченного сырья по режиму экстрагирования: 30 мин

экстракция, 10 мин настаивание (ГФ XI, в.2, стр.147) с учетом коэффициента водопоглощения.

Методика: около 5,0 г (точная навеска) измельченных высушенных плодов заливали водой комнатной температуры, взятой с учетом коэффициента водопоглощения, настаивали в инфундирном аппарате на кипящей водяной бане при частом помешивании в течение 30 мин, затем охлаждали при комнатной температуре 10 мин, процеживали, отжимая растительное сырье и прибавляли воды очищенной до требуемого объема извлечения.

Методика получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов: около 5,0 г (точная навеска) измельченных свежих плодов (в случае использования замороженных плодов необходимо провести предварительное размораживание при комнатной температуре в течении 2 – 3 ч) заливали заранее рассчитанным (с учетом влажности сырья) объемом воды очищенной, взятой с учетом коэффициента водопоглощения. Настаивали в инфундирном аппарате на кипящей водяной бане при частом перемешивании в течение 30 минут, затем при комнатной температуре охлаждали 10 минут. Полученное извлечение фильтровали (отжимая растительное сырье) и доводили водой до требуемого объема извлечения.

В полученных отварах определяли органолептические характеристики: цвет, прозрачность, запах, вкус, pH. Анализу подвергались свежеприготовленные водные извлечения. Запах и вкус определяли органолептически, цвет – визуально, реакцию среды с помощью потенциометра «Аквилон pH-410».

Большинство изготовленных отваров представляло собой прозрачные жидкости; опалесцировали извлечения свежих и замороженных плодов рябины обыкновенной, шиповника, калины и черники. Все извлечения имели специфический запах, вкус водных извлечений, в основном, кислый, кисло-сладкий, горьковато-кислый, у отваров из плодов боярышника – сладковатый, цвет оранжевый, красный и розовый, у отваров плодов, содержащих в химическом составе антоцианы (черника, малина, арония) с более интенсивным оттенком (табл. 28).

Установлено, что отвары имели кислую реакцию среды (pH от 3,12 до 5,06). Наиболее кислыми были отвары плодов аронии, малины, рябины обыкновенной и шиповника (pH 3,12-3,79). Причем, реакция среды у водных извлечений из высушенных плодов имеет более высокое значение, чем из замороженного и свежего сырья, из-за разрушения части свободных органических и аскорбиновой кислот при высушивании сырья.

6.2.3. Определение сухого остатка

Показатель «сухой остаток» в водных извлечениях представляет собой сумму веществ, извлекаемых из ЛРС водой и может характеризовать содержание гидрофильной фракции биологически активных веществ в отварах.

Определение сухого остатка проводили по методике, изложенной в ОФС ГФ XI издания «Настойки».

Методика: 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:

$$X = \frac{(m_{б2} - m_б) \cdot 100}{m_{б1} - m_б}$$

где $m_б$ – масса пустого бюкса, в граммах;

$m_{б1}$ – масса бюкса с навеской до прокаливания, в граммах;

$m_{б2}$ – масса бюкса с навеской после прокаливания, в граммах

Таблица 28. 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	Позрачный	Специфический	Сладковатый	4,22
Отвары из плодов рябины	Свежее	Оранжевый	Со слабой опалесценцией	Специфический	Горьковато-кислый	3,48
	Замороженное	Оранжевый	Прозрачный	Специфический	Горьковатый	3,50
	Высушенное	Ярко-оранжевый	Прозрачный	Специфический	Горьковатый	3,54
Отвары 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	3,55
	высушенное	Красный	Прозрачный	Специфический	Кисло-сладкий	3,79

Отвары из плодов аронии	Свежее	Темно-малиновый	Прозрачный	Специфический	Кисло-сладкий	3,12
	Замороженное	Темно-малиновый	Прозрачный	Специфический	Кисло-сладкий	3,19
	Высушенное	Коричнево-розовый	Прозрачный	Специфический	Сладковатый	3,43
Отвары из плодов калины	Свежее	Розовый	Со слабой опалесценцией	Специфический	Горьковато-кислый	3,63
	Замороженное	Розовый	Прозрачный	Специфический	Кислый	3,71
	Высушенное	Темно-коричневый	Со слабой опалесценцией	Специфический	Кислый	3,92
Отвары из плодов черники	Свежее	Темно-красный	Со слабой опалесценцией	Специфический	Горьковато-кислый	3,42
	Замороженное	Темно-красный	Со слабой опалесценцией	Специфический	Кислый	3,78
	Высушенное	Красный	Прозрачный	Специфический	Кислый	5,06

Показатель «сухой остаток» связан с содержанием в плодах БАВ, хорошо растворимых в воде (полисахариды, органические кислоты, дубильные вещества), чем больше в плодах доля гидрофильных соединений, тем больше величина сухого остатка (плоды шиповника, рябины обыкновенной, калины, боярышника). Все водные извлечения, полученные из свежего сырья, характеризовались наибольшим значением сухого остатка (3,55-1,90%), по сравнению с отварами из плодов, подвергнутых консервации (табл. 29). В отварах из замороженного сырья значение данного показателя было снижено в среднем на 7 %, а в извлечениях из высушенного сырья – на 16%.

Таблица 29. Результаты определения сухого остатка водных извлечений (n=5, P=95%)

Водные извлечения из плодов	Сухой остаток,%						
	шиповника	рябины	аронии	боярышника	малины	черники	калины
свежие	3,32 ± 0,12	3,55 ±0,08	2,30 ± 0,06	3,11 ± 0,08	1,90 ±0,05	2,16 ±0,09	2,81±0,04
замороженные	3,18 ± 0,09	3,42 ±0,10	2,16 ± 0,12	2,87 ± 0,10	1,77 ±0,07	1,95 ±0,6	2,58±0,03
высушенные	2,80 ± 0,11	3,24 ±0,08	1,93 ±0,04	2,71 ± 0,07	1,60 ±0,05	1,65 ±0,06	2,21±0,05

6.3. Определение содержания биологически активных веществ в водных извлечениях из плодов, подвергнутых консервации

В нормативной документации, регламентирующей изготовление настоев и отваров, отсутствуют требования к стандартизации водных извлечений. Однако, показатели качества важны для установления доброкачественности экстракционных препаратов, поскольку именно сумма БАВ, перешедшая в извлечение из лекарственного растительного сырья, определяет основное фармакологическое действие указанной лекарственной формы.

Принимая во внимание принцип системного анализа в изучении ЛРС, изученные группы БАВ определяли и в водных извлечениях, полученных из плодов.

6.3.1. Количественная оценка аскорбиновой кислоты в водных извлечениях

Количественное определение аскорбиновой кислоты в водных извлечениях проводили по модифицированной методике определения вещества в ЛРС - методом кулонометрического титрования.

Методика: 5,0 мл извлечения вносили в кулонометрическую ячейку, заполненную электролитом – 0,1 М раствором KI в хлороводородном буферном растворе (pH = 1,2) и проводили измерение с помощью кулонометрического титратора.

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

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

где V – объем полученного извлечения, мл

Va – объем извлечения, вводимого в кулонометрическую ячейку, мл

m – количество аскорбиновой кислоты, полученное при измерении, мкг.

Полученные экспериментальные данные по содержанию аскорбиновой кислоты в отварах представлены в таблице 30 и на рисунке 32.

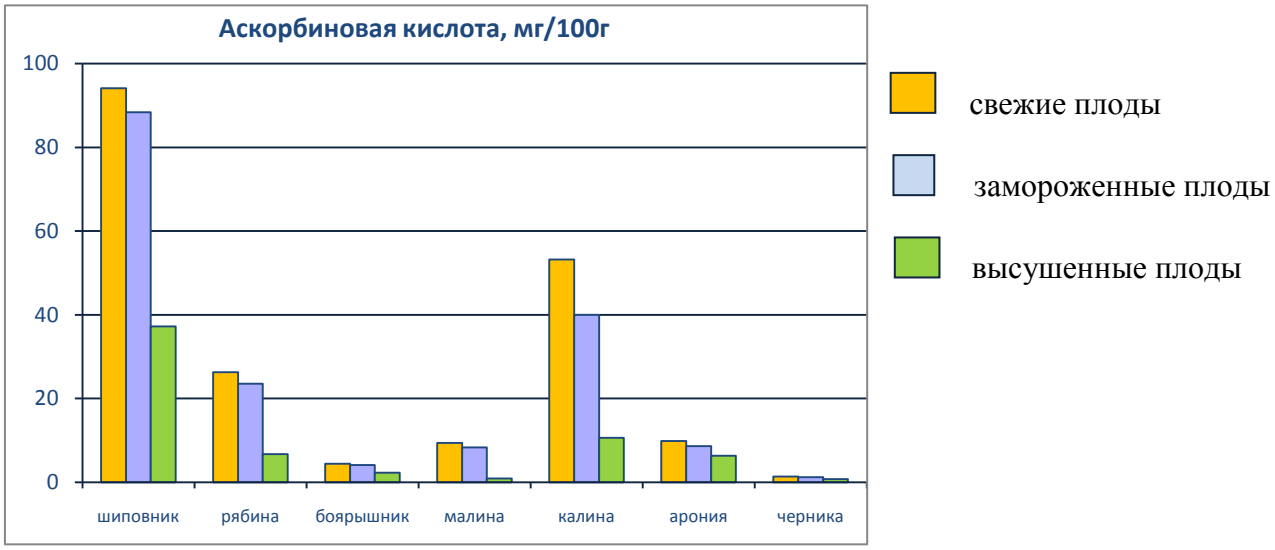


Рис. 32. Содержание аскорбиновой кислоты в водных извлечениях

Таблица 30. Результаты определения содержания аскорбиновой кислоты в водных извлечениях

Вид сырья		X, мг/100 г	P, %	t (P, f)	S	S_x	$_{\Delta}X$	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	4,43	95	2,47	0,0757	0,0286	0,07	1,58
	Замороженное	4,10	95	2,47	0,0973	0,0367	0,10	2,44
	Высушенное	2,31	95	2,47	0,0487	0,0183	0,05	2,16
Отвары из плодов рябины	Свежее	26,30	95	2,47	0,0844	0,0318	0,08	0,30
	Замороженное	23,52	95	2,47	0,0498	0,0188	0,05	0,21
	Высушенное	6,72	95	2,47	0,0736	0,0278	0,07	1,04
Отвары из плодов малины	Свежее	9,42	95	2,47	0,0260	0,0098	0,02	2,12
	Замороженное	8,35	95	2,47	0,0454	0,0171	0,04	0,48
	Высушенное	0,91	95	2,47	0,0822	0,0310	0,08	3,79
Отвары из плодов шиповника	Свежее	94,14	95	2,47	0,030	0,0114	0,30	0,32
	Замороженное	88,37	95	2,47	0,1298	0,0490	0,12	0,14
	высушенное	37,19	95	2,47	0,1590	0,0600	0,15	0,40

Отвары из плодов аронии	Свежее	9,84	95	2,47	0,0923	0,0355	0,03	1,36
	Замороженное	8,60	95	2,47	0,0476	0,0183	0,09	2,24
	высушенное	6,30	95	2,47	0,0622	0,0161	0,07	2,34
Отвары из плодов ккалины	Свежее	53.20	95	2,47	0,0242	0,0093	0,02	2,56
	Замороженное	40,00	95	2,47	0,0393	0,0151	0,09	1,48
	высушенное	10,60	95	2,47	0,0479	0,0184	0,09	3,19
Отвары из плодов черники	Свежее	1,40	95	2,47	0,114	0,0438	0,03	2,32
	Замороженное	1,20	95	2,47	0,1257	0,0481	0,05	1,08
	высушенное	0,75	95	2,47	0,1335	0,0513	0,09	1,12

Как видно из полученных данных, содержание аскорбиновой кислоты незначительно изменяется при изготовлении отваров из свежего и замороженного сырья. При изготовлении водных извлечений из высушенного сырья оно ниже в два-три раза. Способ консервации исходного сырья влияет на стабильность аскорбиновой кислоты в водных извлечениях.

6.3.2. Определение содержания органических кислот в водных извлечениях

Количественное определение органических кислот в водных извлечениях проводили по модифицированной методике определения биологически активных соединений в ЛРС - методом кулонометрического титрования.

Методика: 0,5 мл извлечения вносили 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:

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

где V – объем полученного водного извлечения, мл

Va – объем извлечения, вводимого в кулонометрическую ячейку, мл

m – количество органических кислот, полученное при измерении, мкг.

Проведенные исследования показали, что по содержанию органических кислот (таблица 31, рисунок 33) водные извлечения из свежего сырья и плодов, подвергнутых замораживанию, различались незначительно. В сравнение с отваром из свежего сырья, в водные извлечения из высушенных плодов экстрагируется 75-80% органических кислот.

Таблица 31. 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	0,211	95	2,47	0,0032	0,0012	0,003	1,45
	Замороженное	0,183	95	2,47	0,0005	0,0002	0,004	2,17
	Высушенное	0,081	95	2,47	0,0019	0,0007	0,002	2,74
Отвары из плодов рябины	Свежее	0,442	95	2,47	0,0051	0,0019	0,005	1,15
	Замороженное	0,420	95	2,47	0,0032	0,0012	0,003	0,71
	Высушенное	0,280	95	2,47	0,0027	0,0010	0,003	1,36
Настои из плодов малины	Свежее	0,553	95	2,47	0,0017	0,0007	0,002	3,49
	Замороженное	0,452	95	2,47	0,0015	0,0006	0,001	0,22
	Высушенное	0,421	95	2,47	0,0029	0,0011	0,003	0,72
Отвары из плодов шиповника	Свежее	0,194	95	2,47	0,0029	0,0011	0,003	1,61
	Замороженное	0,195	95	2,47	0,0016	0,0006	0,002	1,00
	высушенное	0,130	95	2,47	0,0025	0,0009	0,002	1,47
Отвары из плодов аронии	Свежее	0,451	95	2,47	0,0036	0,0013	0,002	1,07
	Замороженное	0,365	95	2,47	0,0028	0,0010	0,001	0,82
	высушенное	0,182	95	2,47	0,0025	0,0010	0,003	1,16

Отвары из плодов калины	Свежее	0,290	95	2,47	0,0037	0,0012	0,004	2,44
	Замороженное	0,193	95	2,47	0,0025	0,0011	0,001	1,22
	высушенное	0,160	95	2,47	0,0015	0,0005	0,003	0,96
Отвары из плодов черники	Свежее	0,063	95	2,47	0,0021	0,0007	0,005	1,54
	Замороженное	0,052	95	2,47	0,0012	0,0004	0,003	1,08
	высушенное	0,034	95	2,47	0,0027	0,0010	0,002	1,27

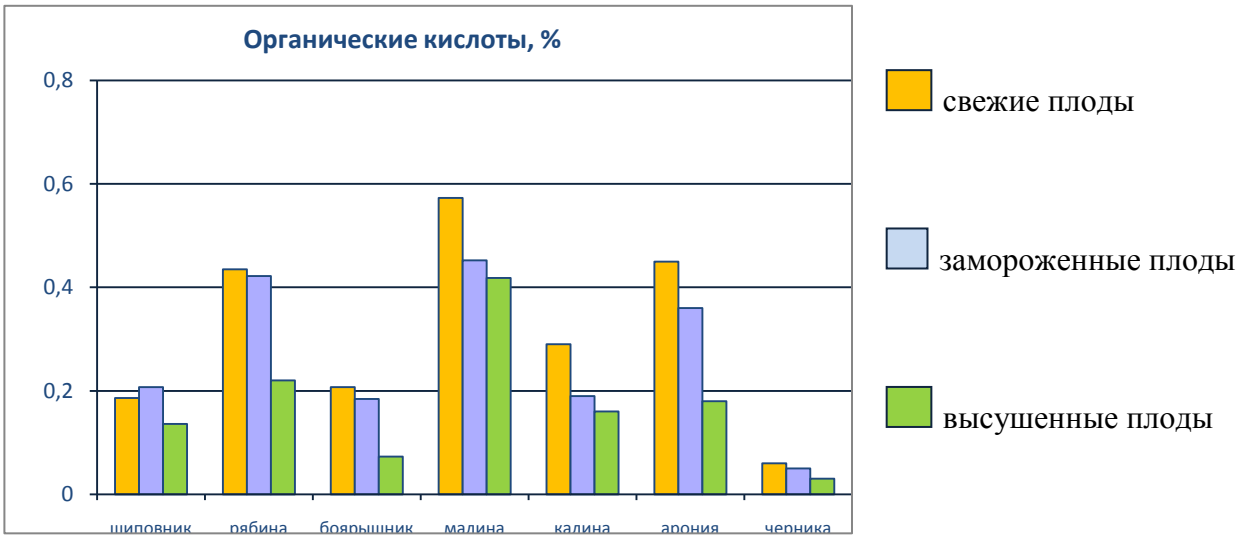


Рис.33. Содержание органических кислот в водных извлечениях

6.3.3. Количественный анализ флавоноидов в отварах

Количественное содержание суммы флавоноидов в отварах из плодов различных способов консервации проводили по модифицированной методике определения содержания этой группы БАВ в ЛРС - методом дифференциальной спектрофотометрии.

Методика определения суммы флавоноидов в водных извлечениях плодов боярышника кроваво-красного и плодах рябины обыкновенной. 5 мл извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 6 мл раствора алюминия хлорида, и на 3 минуты помещали в кипящую водяную баню. После

чего колбу быстро охлаждали, прибавляли 2 мл буферного раствора с pH 4,0 и доводили водой очищенной до метки.

Оптическую плотность полученного раствора измеряли 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 pH 4,0, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный водой до метки. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора, содержащего 1 мл РСО рутина, используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 1 мл РСО рутина и 2 мл буферного раствора с pH 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, рассчитывали по формуле:

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

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО рутина;

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

а – объем водного извлечения, взятого для анализа, мл

Приготовление раствора РСО рутина: около 0,05 г рутина (точная навеска), предварительно высушенного при температуре от 130 до 135 °С в течение 3 ч, растворяли в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на кипящей водяной бане, охлаждали до комнатной температуры, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали.

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

Приготовление буферного раствора с pH 4,0: 10 мл 1М раствора натрия едкого помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 57 мл раствора уксусной кислоты, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали.

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

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

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

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

где D – оптическая плотность испытуемого образца;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО рутина;

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

а – объем отвара, мл.

Количественную оценку антоцианов в водных извлечениях плодов малины обыкновенной, черники обыкновенной и аронии черноплодной осуществляли согласно модифицированной методике определения соединений в ЛРС – методом прямой спектрофотометрии относительно цианидин-3,5-диглюкозида и цианидин–3–О–глюкозида соответственно.

Методика определения суммы антоцианов в отварах плодов малины обыкновенной.

5 мл извлечения помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, приливали 12,5 мл 2% раствора хлористоводородной кислоты и доводили объем раствора водой очищенной до метки. Измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.В качестве раствора сравнения использовали 1% раствор хлористоводородной кислоты.

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3,5-диглюкозид в водных извлечениях в процентах (X) вычисляли 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-дигликозида в 1%растворе хлористоводородной кислоты;

a – объем взятого извлечения, мл

Методика определения суммы антоцианов в отварах плодов аронии черноплодной и черники обыкновенной. 5 мл извлечения помещали в мерную колбу на 25 мл и доводили до метки 1% раствором хлористоводородной кислоты в 95% этиловом спирте. Оптическую плотность измеряли в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 534 нм. В качестве раствора сравнения использовали 95 % этиловый спирт.

Содержание суммы антоцианов в водных извлечениях в процентах (X) в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \times 5 \times 100}{100 \times a}$$, где

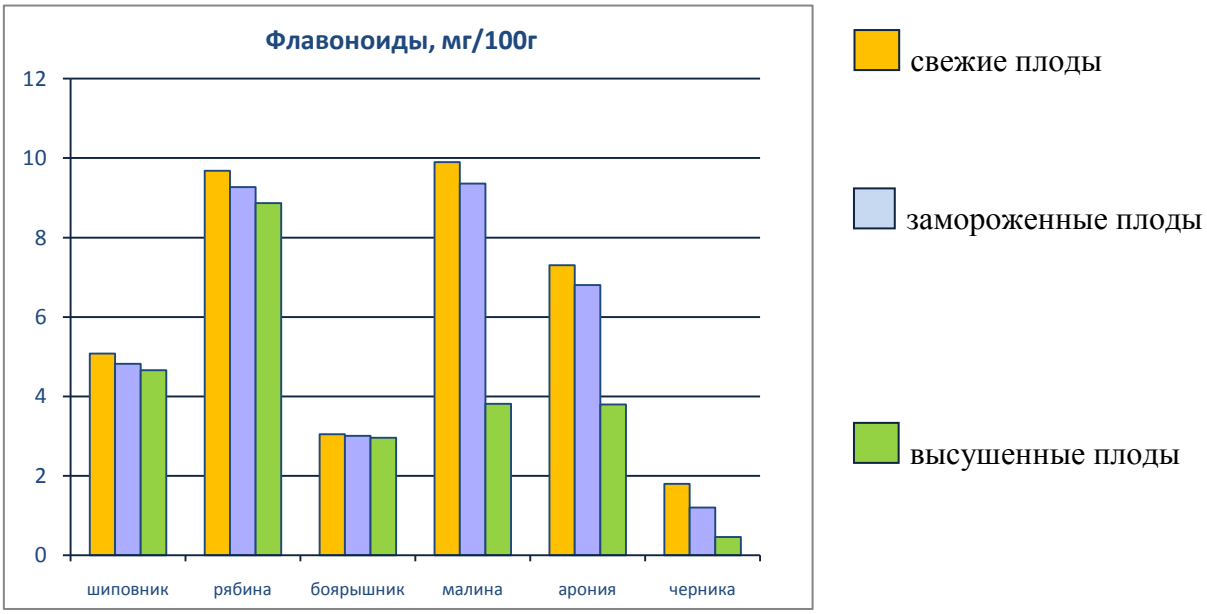
D - оптическая плотность испытуемого раствора;

100 – удельный показатель поглощения цианидин - 3 – О – гликозида,

a – объем взятого извлечения, мл

Результаты определения содержания суммы флавоноидов в отварах из свежих, замороженных и высушенных плодов представлены в таблице 32 и на рисунке 34.

В ходе исследования установлено, что по содержанию флавоноидов отвары из свежего сырья и плодов, подвергнутых консервации, различаются незначительно. В то же время количество антоцианов в водных извлечениях из высушенных плодов снижается почти в 3 раза.



*для плодов малины, черники и аронии представлены результаты количественного содержания антоцианов

Рис. 34. Содержание флавоноидов в водных извлечениях

Таблица 32. 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	3,01	95	2,45	0,0736	0,0278	0,07	2,32
	Высушенное	2,98	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
Отвары из плодов шиповника	Свежее	5,08	95	2,45	0,0151	0,0057	0,01	0,19
	Замороженное	4,90	95	2,45	0,0280	0,0114	0,03	0,61
	высушенное	4,78	95	2,45	0,0465	0,0176	0,04	0,82
Отвары из плодов аронии*	Свежее	7,30	95	2,45	0,0328	0,0126	0,03	0,26
	Замороженное	6,80	95	2,45	0,0571	0,0219	0,02	0,71
	высушенное	3,80	95	2,45	0,0285	0,0110	0,02	0,64
Отварыиз плодов малины*	Свежее	9,90	95	2,45	0,0973	0,0367	0,09	1,07
	Замороженное	9,36	95	2,45	0,0941	0,0355	0,06	0,98
	Высушенное	3,81	95	2,45	0,0184	0,0069	0,03	0,52
Отвары из плодов черники*	Свежее	1,80	95	2,45	0,0635	0,0244	0,01	0,32
	Замороженное	1,20	95	2,45	0,0418	0,0161	0,05	0,18
	высушенное	0,46	95	2,45	0,0275	0,0105	0,02	0,24

*представлены результаты определения антоцианов

6.3.4. Определение содержания дубильных веществ в отварах

В основе определения содержания суммы дубильных веществ в пересчете на танин в отварах из плодов лежит модифицированная методика фармакопейного метода определения дубильных веществ в ЛРС – окислительно-восстановительное титрование перманганатом калия.

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

Параллельно проводили контрольный опыт: к 25 мл раствора индигосульфокислоты прибавляли 500 мл воды и титровали перманганатом калия.

Содержание дубильных веществ (X) в процентах в водных извлечениях рассчитывали согласно формуле:

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

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

V_1 – 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,

Результаты исследований выявили, что содержание дубильных веществ в водных извлечениях из плодов различных способов консервации изменяется незначительно (таблица 33, рисунок 35).

Таблица 33. Содержание дубильных веществ в водных извлечениях

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	ΔX	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	0,12	95	2,45	0,0038	0,0014	0,01	3,33
	Замороженное	0,12	95	2,45	0,0063	0,0024	0,01	5,08
	Высушенное	0,09	95	2,45	0,0029	0,0011	0,04	2,67
Отвары из плодов рябины	Свежее	0,33	95	2,45	0,0050	0,0019	0,02	1,51
	Замороженное	0,25	95	2,45	0,0036	0,0013	0,02	1,22
	Высушенное	0,21	95	2,45	0,0057	0,0022	0,05	2,40
Отвары из плодов малины	Свежее	0,18	95	2,45	0,0062	0,0023	0,05	1,33
	Замороженное	0,10	95	2,45	0,0050	0,0019	0,01	1,22
	Высушенное	0,04	95	2,45	0,0091	0,0034	0,06	2,21

Отвары из плодов шиповника	Свежее	1,27	95	2,45	0,0123	0,0047	0,02	2,98
	Замороженное	1,05	95	2,45	0,0061	0,0023	0,03	2,05
	высушенное	0,84	95	2,45	0,0084	0,0032	0,02	3,28
Отвары из плодов аронии	Свежее	0,27	95	2,45	0,0106	0,0041	0,01	2,26
	Замороженное	0,26	95	2,45	0,0073	0,0028	0,04	2,14
	высушенное	0,25	95	2,45	0,0067	0,0025	0,05	3,06
Отвары из плодов черники	Свежее	0,24	95	2,45	0,0042	0,0016	0,02	1,35
	Замороженное	0,17	95	2,45	0,0125	0,0048	0,01	1,45
	высушенное	0,15	95	2,45	0,0113	0,0043	0,02	3,06
Отвары из плодов калины	Свежее	0,81	95	2,45	0,0082	0,0031	0,01	3,10
	Замороженное	0,78	95	2,45	0,0094	0,0036	0,01	2,15
	высушенное	0,52	95	2,45	0,0043	0,0017	0,03	1,12

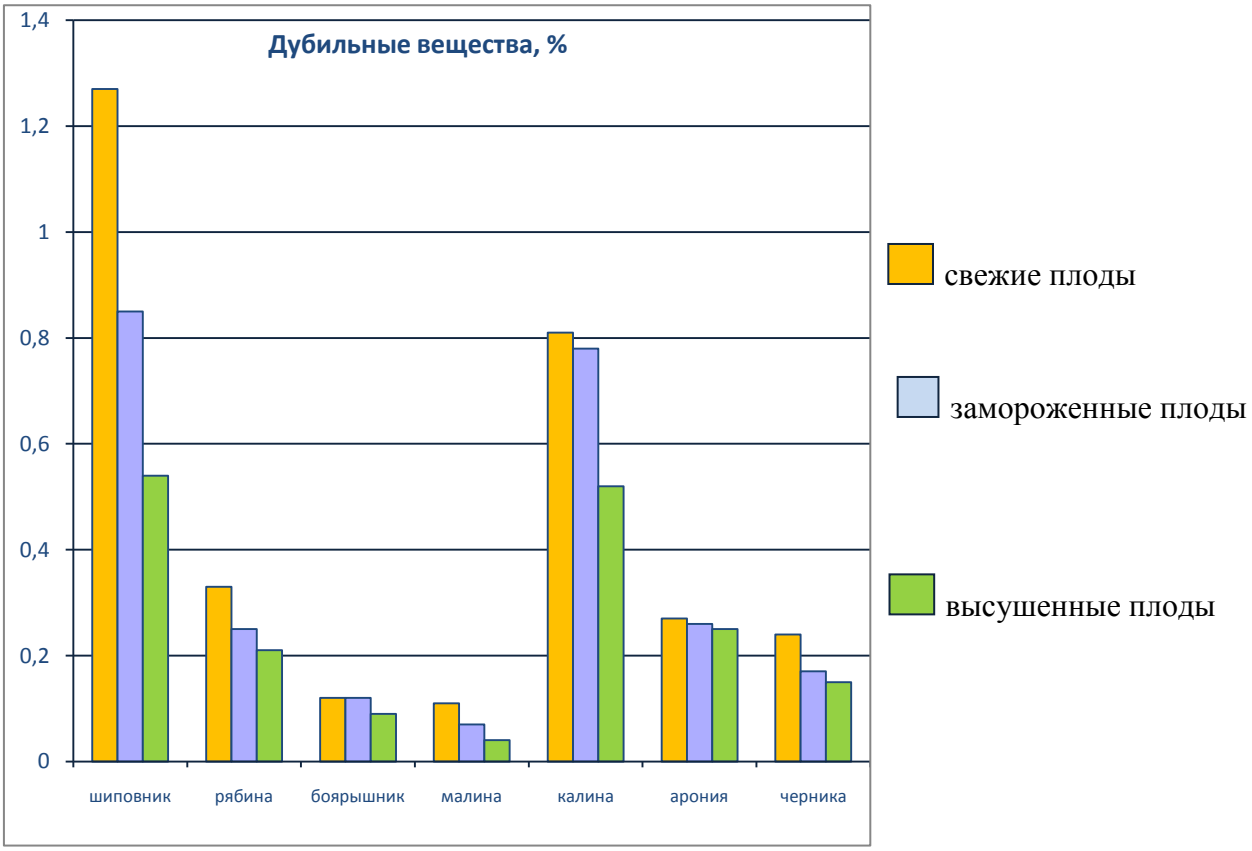


Рис.35. Содержание дубильных веществ в отварах

6.3.5. Количественная оценка полисахаридов в отварах

Для анализа содержания полисахаридов в отварах, изготовленных из плодов различных способов консервации, использовалась модифицированная методика гравиметрического определения полисахаридов в ЛРС.

Методика. 100 мл водного извлечения центрифугировали с частотой вращения 5000 об/мин в течение 10 минут и декантировали в мерную колбу вместимостью 250 мл через 5 слоев марли, вложенную в стеклянную воронку диаметром 55 мм и предварительно промытую водой очищенной. Фильтр промывали водой очищенной и доводили объем раствора до метки. 25 мл полученного раствора помещали в центрифужную пробирку, прибавляли 75 мл 95% спирта, перемешивали и на 5 минут помещали в водяную баню. Через час содержимое центрифугировали с частотой вращения 5000 об/мин в течении 30 минут. Надосадочную жидкость фильтровали 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 переносили на фильтр и последовательно промывали 15 мл раствора 95% спирта в воде (3:1), 10 мл ацетона, 10 мл этилацетата. Фильтр с осадком высушивали сначала на воздухе, затем при температуре 100-105 °С до постоянной массы.

Расчет содержания полисахаридов в отварах и настоях проводили 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,

Проведенные исследования показали, что по содержанию полисахаридов водные извлечения из свежего сырья и плодов, подвергнутых консервации, как замораживанию, так и высушиванию, различались незначительно (таблица 34, рисунок 36)

Таблица 34. Содержание полисахаридов в водных извлечениях.

Вид сырья		X, %	P, %	t (P, f)	S	S_x	$_{\Delta}X$	E, %
Отвары из плодов боярышника	Свежее	0,46	95	2,78	0,0160	0,0069	0,02	4,35
	Замороженное	0,32	95	2,78	0,0225	0,0100	0,03	9,38
	Высушенное	0,31	95	2,78	0,0137	0,0060	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
Отвары 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	1,16	95	2,78	0,0378	0,0169	0,05	4,67
	Замороженное	1,10	95	2,78	0,0458	0,0205	0,06	6,12
	высушенное	1,03	95	2,78	0,0470	0,0169	0,05	5,32
Отвары из плодов черники	Свежее	0,72	95	2,78	0,0346	0,0150	0,03	4,20
	Замороженное	0,64	95	2,78	0,0426	0,0185	0,06	5,10
	высушенное	0,56	95	2,78	0,0284	0,0123	0,03	3,82
Отвары из плодов калины	Свежее	0,34	95	2,78	0,0317	0,0137	0,05	4,17
	Замороженное	0,30	95	2,78	0,0263	0,0114	0,04	6,02
	высушенное	0,27	95	2,78	0,0325	0,0141	0,04	3,68
Отвары из плодов аронии	Свежее	1,05	95	2,78	0,0250	0,0108	0,03	3,84
	Замороженное	0,98	95	2,78	0,0412	0,0179	0,03	5,28
	высушенное	0,93	95	2,78	0,0248	0,0107	0,02	5,12

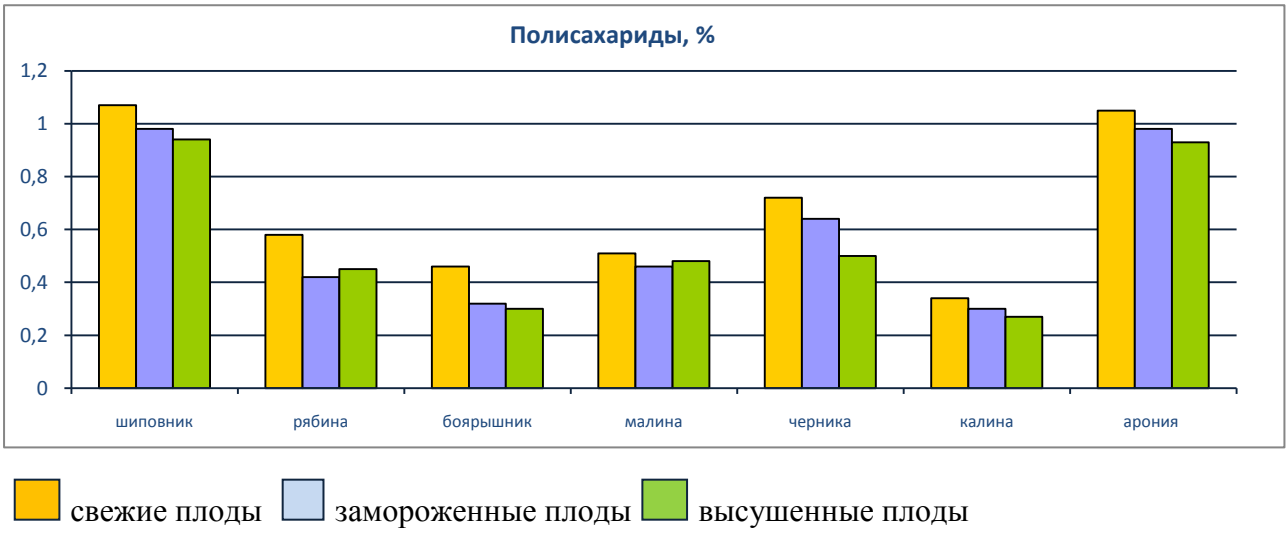


Рис.36. Содержание полисахаридов в водных извлечениях

Сравнительное изучение состава БАВ водных извлечений, полученных с использованием свежего, замороженного и высушенного сырья, показало, что все изучаемые группы БАВ переходят в водные извлечения. Содержание флавоноидов, полисахаридов, органических кислот, в водных извлечениях из свежего сырья и плодов, подвергнутых консервации, не имели существенных различий. Отвары, полученные из свежего и замороженного сырья, характеризовались большими количествами аскорбиновой кислоты, дубильных веществ, антоцианов, чем извлечения из высушенных плодов

6.4. Анализ водно-спиртовых экстракционных препаратов из плодов боярышника кроваво-красного, калины обыкновенной и рябины обыкновенной

Сравнительное изучение водно-спиртовых извлечений, полученных с использованием свежего, замороженного и высушенного сырья, проводили на примере жидкого экстракта из плодов боярышника, который включен в государственный Реестр лекарственных средств и официально разрешен к медицинскому применению [162]. Из замороженных и высушенных плодов

калины обыкновенной и рябины обыкновенной были получены экспериментальные образцы жидких экстрактов.

Жидкие экстракты из плодов различных способов консервации готовили в соответствии с требованиями общей статьи ГФ XI вып. 2, стр. 160-161 «Экстракты» методом перерколяции в соотношении сырья и экстрагента 1:1, оптимальная степень измельчения сырья – 0,5-1 мм. Преимущество перерколяции является получение нативного комплекса биологических активных веществ без выпаривания или с частичным выпариванием. С учетом высокого содержания в плодах 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.

В качестве экстрагента использовали этиловый спирт 70% концентрации для извлечений из плодов боярышника кроваво-красного. При получении жидких экстрактов плодов калины обыкновенной и рябины обыкновенной процесс экстрагирования осуществляли водно-спиртовыми растворами с концентрацией спирта 20%, 30%, 50%, 70%. В качестве параметра для сравнительной характеристики процесса экстрагирования сырья спиртом этиловым различной концентрации было выбрано содержание органических кислот в извлечении – группы БАВ, преобладающей в сырье.

Содержание биологически активных веществ в извлечениях, полученных с использованием водно-спиртовых растворов с различной концентрацией этанола приведены в таблице 35.

Максимальное содержание органических кислот наблюдалось в извлечениях, полученных с использованием водно-спиртового раствора с концентрацией этанола 30%. Учитывая полученные данные, оптимальным экстрагентом был выбран водно-спиртовой раствор с концентрацией этанола 30% , т.к. им извлекается наибольшее количество биологически активных веществ.

Таблица 35. Содержание органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в извлечениях, полученных с использованием водно-спиртовых растворов с различной концентрацией этанола.

Концентрация спирта этилового, %	Содержание, %	
	плоды рябины обыкновенной	плоды калины обыкновенной
20	2,12±0,05	1,26±0,01
30	2,56±0,01	1,63±0,01
50	2,03±0,02	1,29±0,02
70	1,64±0,01	1,16±0,02

Стандартизацию полученных извлечений проводили по органолептическим и физико-химическим показателям: цвет, запах, вкус, pH, сухой остаток и по содержание органических кислот. В исследовании использовали методики, приведенные ранее для водных извлечений.

Жидкие экстракты, полученные из свежих, замороженных и высушенных плодов представляли собой прозрачные окрашенные жидкости с кислым, кисло-горьким вкусом и специфическим запахом, кислой реакцией среды (табл. 36).

Таблица 36. Органолептические характеристики жидких экстрактов из плодов боярышника, калины обыкновенной и рябины обыкновенной различных способов консервации.

Исследуемый образец: жидкие экстракты	Органолептические характеристики			
	Цвет	Вкус	Запах	pH
Плоды калины				
Свежие	коричнево-красный	сладкий	специфический	3,0
Замороженные	коричневый	кисловато-	специфический	3,2

		горький		
Высушенные	темно-коричневый	сладковато-пряный	специфический	3,5
Плоды рябины обыкновенной				
Свежие	темно-оранжевый	пряно-горький	специфический	3,5
Замороженные	светло-оранжевый	сладковато-пряный	специфический	3,7
Высушенные	коричневый	пряно-горький	специфический	3,9
Плоды боярышника				
Свежие	темно-красный	кислый	специфический	4,2
Замороженные	красно-оранжевый	кисло-сладкий	специфический	4,3
Высушенные	темно-красный	Кисло-сладкий	специфический	4,6

Таблица 37. Сухой остаток водно-спиртовых извлечений плодов различных способов консервации

Жидкие экстракты плодов	Сухой остаток, %		
	боярышник кроваво-красный	калина обыкновенная	рябина обыкновенная
Свежие	25,43±0,24	21,39±0,06	24,01±0,05
Замороженные	25,17±0,14	20,82 ±0,03	23,81 ±0,07
Высушенные	21,57±0,23	18,20±0,09	21,09 ±0,07

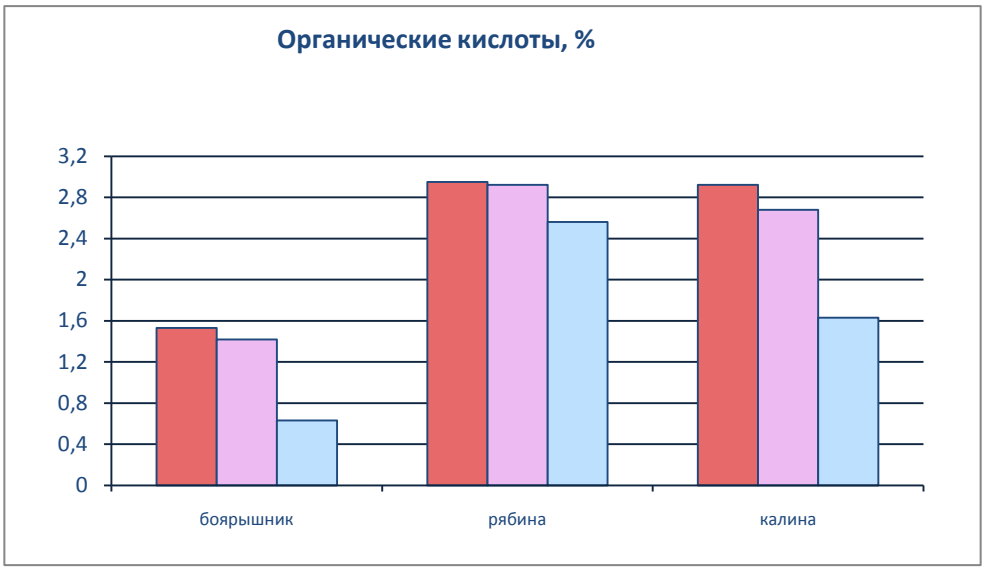
Все изучаемые экстракционные препараты удовлетворяли требованиям нормативной документации по показателю «сухой остаток»: для экстрактов – не менее 18%, причем способ консервации исходного сырья не влиял на его значение в жидких экстрактах. Показатель «Сухой остаток» может быть рекомендован для стандартизации жидких экстрактов из замороженного и свежего сырья (табл. 37).

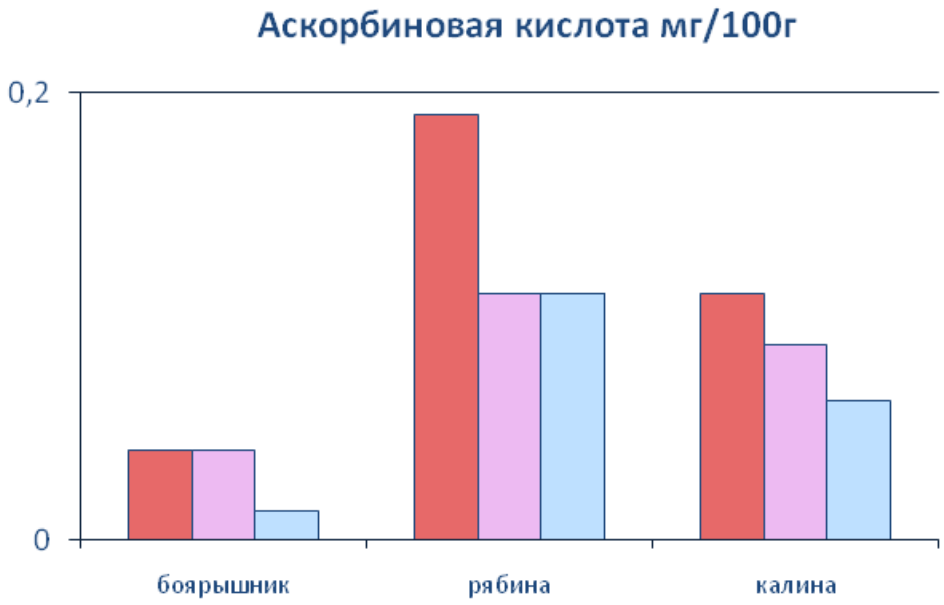
Количественное содержание основных групп БАВ в жидких экстрактах проводили по методикам, аналогичными для определения этих соединений в ЛРС (таблица 38, рисунок 37).

Таблица 38. Содержание БАВ в водно-спиртовых извлечениях из плодов различных способов консервации (n=5, P=95%)

Биологически активные вещества, %	Жидкий экстракт из плодов боярышника		
	свежие	замороженные	высушенные
Аскорбиновая кислота, мг/100	47,31±0,03	45,29±0,05	12,72±0,04
Органические кислоты	1,53±0,02	1,42±0,01	0,63±0,02
Дубильные вещества	1,07±0,04	0,93±0,05	0,55±0,02
Флавоноиды, мг/100	62,02±0,02	57,12±0,04	49,31±0,02
Жидкий экстракт из плодов рябины			
Аскорбиновая кислота	0,19±0,01	0,11±0,02	0,12±0,01
Органические кислоты	2,95±0,02	2,92±0,02	2,56±0,01
Дубильные вещества	1,44±0,05	1,19±0,02	0,92±0,01
Жидкий экстракт из плодов калины			
Аскорбиновая кислота	0,110±0,004	0,087±0,003	0,062±0,002
Органические кислоты	2,92±0,02	2,68±0,02	1,63±0,01
Дубильные вещества	1,96±0,02	1,85±0,02	1,47±0,01

Результаты исследований экспериментально подтвердили правомочность подхода к выбору экстрагента (спирт 30%), предлагаемому для получения жидких экстрактов. Установлено, что в жидкие экстракты из плодов калины обыкновенной и рябины обыкновенной, приготовленные с использованием этанола с концентрацией 30%, переходят лучше водорастворимые органические кислоты по сравнению с водно-спиртовыми извлечениями из плодов боярышника (об.70%), что позволяет для оценки качества жидких экстрактов использовать показатели «содержание органических кислот».





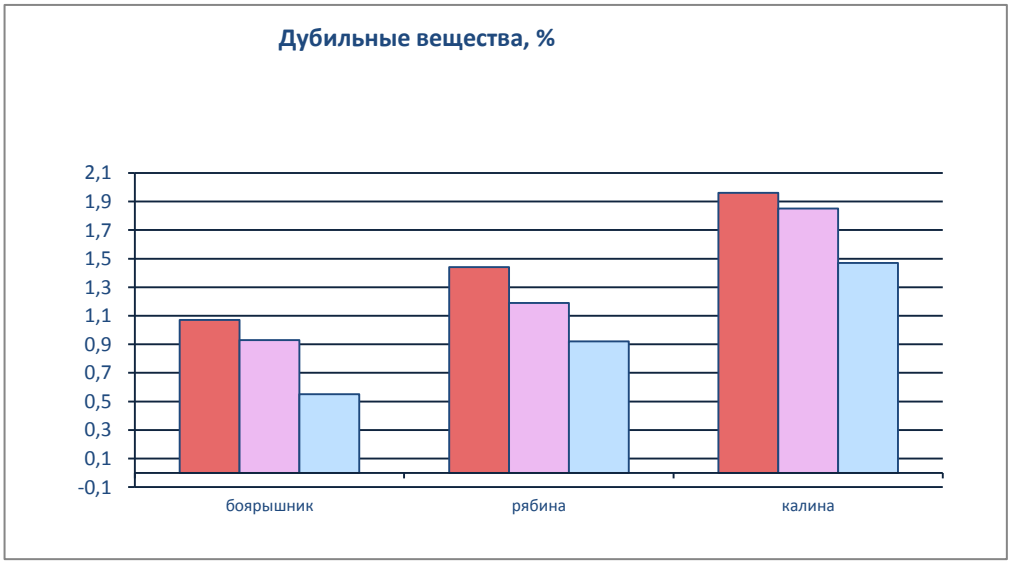


Рис.37. Содержание БАВ в водно-спиртовых извлечениях.

В результате сравнительного изучения влияния способов консервации на содержание действующих веществ в жидких экстрактах прослеживалась выявленная закономерность: жидкие экстракты, полученные из замороженного сырья, содержали большее количество органических кислот, аскорбиновой кислоты и дубильных веществ, в сравнении с водно-спиртовыми извлечениями из высушенных плодов, в которых, содержание БАВ снижено на 30-40%. Экспериментальные исследования показывают возможность использования замороженного сырья для приготовления водных и водно-спиртовых извлечений.

6.5. Изучение химического состава настоек матричных гомеопатических из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника и рябины обыкновенной

Свежие и высушенные плоды используются в гомеопатии для приготовления лекарственных препаратов, которые официально разрешены к применению на территории РФ [101]. Изучение возможности консервации свежего растительного сырья методом замораживания в гомеопатии находит отражение в научно-исследовательских работах [148,149,161]. Поэтому представляло интерес проведение сравнительного изучения химического состава матричных настоек, полученных из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника и рябины обыкновенной.

Изготовление матричных настоек из свежих и замороженных плодов боярышника и рябины проводили по методу 2 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные» с использованием в качестве экстрагента 90% (об.) этилового спирта и по методу 2а ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные» с использованием в качестве экстрагента 70% (об.) этилового спирта соответственно. Настойки из высушенных плодов получали по методу 4 ОФС 42-0027-05 «Настойки гомеопатические матричные», в качестве экстрагента использовали 70% (об.) этиловый спирт, соотношение сырье-экстрагент 1:10.

Определение показателей качества- pH, плотность, сухой остаток- проводили по методикам, изложенным в ОФС ГФ XI издания.

Сухой остаток настоек матричных из свежих и замороженных плодов боярышника отличался незначительно и составлял от 7,92 до 8,15%. Рекомендован показатель - не менее 7%. Плотность этих настоек также отличалась незначительно и составляла от 0,961 до 0,965; pH настоек от 3,04 до 3,11.

Установлено, что указанные показатели в настойках из свежих и замороженных плодов рябины обыкновенной практически не различались. Матричная настойка из высушенного сырья характеризовалась более высокой реакцией среды (4,50), а также сниженным в 1,5 раза значением сухого остатка (табл. 39).

Определение подлинности матричных настоек предусматривает испытание методом тонкослойной хроматографии на основные группы биологически активных веществ. Основываясь на результатах изучения состава БАВ в плодах, для изучения химического состава настоек гомеопатических матричных был использован метод ТСХ. Оценку компонентного состава органических кислот, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот проводили в вышеописанных условиях. В настойках из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника идентифицированы со стандартами лимонная (Rf около 0,10), яблочная (Rf около 0,30) и аскорбиновая (Rf около 0,62) кислоты. Зоны органических кислот с различной интенсивностью окраски присутствовали на всех хроматограммах.

При изучении компонентного состава фенольных соединений в настойках идентифицированы со стандартами гиперозид (Rf около 0,62), кверцетин (Rf около 0,88), рутин (Rf около 0,56), хлорогеновая (Rf около 0,47), кофейная (Rf около 0,80) и галловая (Rf около 0,92) кислоты. Выявлены отличия в количестве и интенсивности зон изучаемых настоек. Зоны галловой кислоты в настойках из свежих и замороженных плодов имели более выраженную окраску. Хроматографическая зона рутина в настойках из высушенного сырья не обнаруживалась(табл.40).

Таблица 39. Показатели качества настоек матричных гомеопатических из плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной

Показатель качества	Настойка матричная из свежих плодов боярышника	Настойка матричная из замороженных плодов боярышника	Настойка матричная из высушенных плодов боярышника	Настойка матричная из свежих плодов рябины	Настойка матричная из замороженных плодов рябины	Настойка матричная из высушенных плодов рябины
Цвет	Красновато-коричневый	Красновато-коричневый	Красновато-коричневый	Красный	Красновато-оранжевый	Желто-оранжевый
Прозрачность	Прозрачная жидкость	Прозрачная жидкость	Прозрачная жидкость	Прозрачная жидкость	Прозрачная жидкость	Прозрачная жидкость
Запах	Специфический фруктовый	Специфический фруктовый	Специфический фруктовый	Специфический фруктовый	Специфический фруктовый	Специфический фруктовый
pH	3,04	3,11	4,32	3,5	4,1	4,5
Плотность г/мл	0,965	0,961	0,948	0,963	0,962	0,970
Сухой остаток,%	8,15 ± 0,14	7,92 ± 0,10	5,62 ± 0,11	11,95 ±0,16	11,40 ±0,10	8,76 ±0,13

При изучении состава БАВ в настойках из плодов рябины обыкновенной различных способов консервации по величине Rf и окраске пятен обнаружены 4 зоны адсорбции, соответствующие аскорбиновой, лимонной, яблочной и сорбиновой кислотам, определено наличие хлорогеновой и галловой кислот, а также идентифицированы флавоноиды: рутин, кверцетин. Зоны адсорбции обнаруженных соединений присутствовали на всех хроматограммах с разной степенью интенсивности (табл. 41).

Сравнительное количественное определение основных групп БАВ в настойках, полученных из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной проводили по вышеописанным методикам для анализа водных и водно-спиртовых извлечений. Результаты исследования представлены в таблице 42 и на рисунке 38.

Выявлено, что матричные настойки из замороженных плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной 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 в качестве альтернативы свежему сырью при изготовлении настойки матричной гомеопатической, поскольку доказана идентичность компонентного состава доминирующих групп БАВ свежего и замороженного сырья.

Таблица 40. Результаты сравнительного изучения БАВ матричных настоек плодов боярышника кроваво-красного методом ТСХ

Система раствори-телей	Детектор	Rf	Цвет зоны	Настойка из свежих плодов	Настойка из замороженных плодов	Настойка из высушенных плодов	Стандартные образцы
Этилацетат - CH_3COOH лед. (80:20)	2,6-дихлор-фенолиндо-фенолят натрия	0,62	Белая	Выраженная	Выраженная	Отсутствует	Аскорбиновая кислота
этанол 95% - аммиак (16:4,5)	Бромкрезо-ловый зеленый	0,10	Желтая	Интенсивная	Интенсивная	Слабо интенсивная	Лимонная кислота
этанол 95% - аммиак (16:4,5)	Бромкрезо-ловый зеленый	0,30	Желтая	Интенсивная	Интенсивная	Слабо интенсивная	Яблочная кислота
Вода – HCOOH - этилацетат (5:10:85)	Железо-аммонийные квасцы	0,92	Синяя	Интенсивная	Интенсивная	Слабо интенсивная	Галловая кислота
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,56	Желто-зеленая	Выраженная	Выраженная	Отсутствует	Рутин
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,62	Желто-зеленая	Интенсивная	Интенсивная	Слабо интенсивная	Гиперозид
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,88	Желто-зеленая	Очень интенсивная	Очень интенсивная	Интенсивная	Кверцетин
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,47	Голубая	Выраженная	Выраженная	Слабо выраженная	Хлорогеновая кислота
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,80	Голубая	Интенсивная	Интенсивная	Интенсивная	Кофейная кислота

Таблица 41. Результаты сравнительного изучения БАВ матричных настоек плодов рябины обыкновенной методом ТСХ

Система раствори-телей	Детектор	Rf	Цвет зоны	Настойка из свежих плодов	Настойка из заморожен-ных плодов	Настойка из высушенных плодов	Стандартные образцы
Этилацетат - CH_3COOH лед. (80:20)	2,6-дихлор-фенолиндо-фенолят натрия	0,62	Белая	Очень интенсивная	Очень интенсивная	Выраженная	Аскорбиновая кислота
этанол 95% - аммиак (16:4,5)	Бромкрезо-ловый зеленый	0,10	Желтая	Интенсивная	Интенсивная	Интенсивная	Лимонная кислота
этанол 95% - аммиак (16:4,5)	Бромкрезо-ловый зеленый	0,32	Желтая	Очень интенсивная	Очень интенсивная	Интенсив-ная	Яблочная кислота
этанол 95% - аммиак (16:4,5)	Бромкрезо-ловый зеленый	0,52	Желто-зеленая	Выраженная	Выраженная	Слабо-выраженная	Сорбиновая кислота
Вода – HCOOH - этилацетат (5:10:85)	Железо-аммонийные квасцы	0,90	Синяя	Интенсивная	Интенсивная	Слабо-выраженная	Галловая кислота
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,54	Желто-зеленая	Выраженная	Выраженная	Слабо-выраженная	Рутин
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,88	Желто-зеленая	Интенсивная	Интенсивная	Интенсивная	Кверцетин
Н-бутанол – CH_3COOH лед. – вода (9:1:0,5)	Раствор алюминия хлорида, УФ-свет	0,45	Голубая	Интенсивная	Интенсивная	Интенсивная	Хлорогеновая кислота

Таблица 42. Количественное содержание БАВ в настойках матричных гомеопатических боярышника и рябины обыкновенной (n=5, P=95%)

Группы БАВ	Настойка матричная из свежих плодов боярышника	Настойка матричная из замороженных плодов боярышника	Настойка матричная из высушенных плодов боярышника	Настойка матричная из свежих плодов рябины	Настойка матричная из замороженных плодов рябины	Настойка матричная из высушенных плодов рябины
Органические кислоты, %	0,45±0,08	0,40±0,07	0,11±0,08	3,67±0,03	3,78±0,08	1,46±0,02
Аскорбиновая кислота, мг/100г	23,17±0,05	21,09±0,02	4,21±0,03	32,03±0,06	29,06±0,09	8,53±0,02
Дубильные вещества, %	0,48±0,03	0,46±0,02	0,14±0,02	1,56±0,04	1,12±0,06	0,88±0,05
Полисахариды %	0,43±0,05	0,46±0,03	0,23±0,05	0,79±0,08	0,57±0,06	0,48±0,03
Флавоноиды, мг/100г	15,40±0,04	13,74±0,02	7,23±0,02	28,32±0,05	24,08±0,06	14.36±0,08

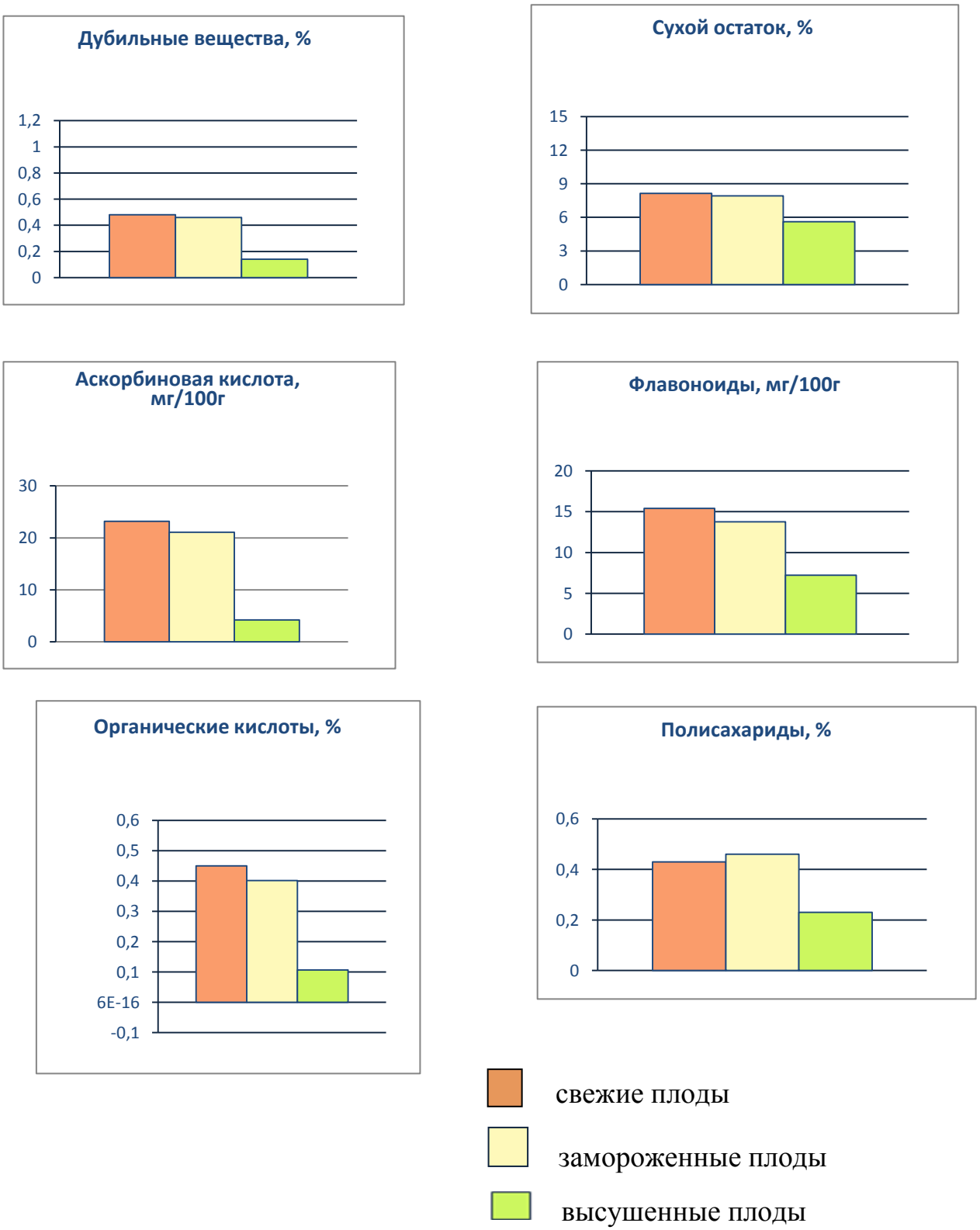


Рисунок 38. Содержание БАВ в настойках матричных гомеопатических плодов боярышника кроваво-красного

6.6. Выводы к главе 6

1. Подобраны оптимальные условия получения водных извлечений из свежих и замороженных плодов: соотношение сырье - экстрагент 1 : 10, время экстрагирования и настаивании 30 и 10мин соответственно.

2. Определены показатели качества водных извлечений из плодов разных способов консервации: прозрачность, цвет, запах, вкус, pH и сухой остаток.

3.На основании сравнительного изучения установлено, что содержание флавоноидов, полисахаридов, органических кислот в отварах из свежего сырья и плодов, подвергнутых консервации, различались незначительно. Отвары из свежего и замороженного сырья характеризовались большими количествами аскорбиновой кислоты, антоцианов, дубильных веществ, чем извлечения из высушенных плодов.

4. Установлено, что по органолептическим характеристикам и содержанию основных групп БАВ водные извлечения из свежего и замороженного сырья не уступают извлечениям из высушенных плодов.

5. Изучено влияние способа консервации исходного сырья на качество водно-спиртовых экстракционных препаратов из плодов боярышника кроваво-красного, калины обыкновенной и рябины обыкновенной. Жидкие экстракты из свежих и замороженных плодов характеризовались большим содержанием БАВ, чем экстракционные препараты из высушенного сырья.

6. При сравнительном изучении компонентного состава и содержания БАВ матричных настоек, приготовленных из свежего, замороженного и высушенного сырья, показана возможность получения матричной настойки из свежих и замороженных плодов. При использовании высушенных плодов для изготовления настоек изменяется количественный состав БАВ.

7. Показана возможность использования замороженных плодов для приготовления отваров, жидких экстрактов, гомеопатических матричных настоек и применение их в аллопатии и гомеопатии.

Глава 7. Морфолого-анатомическое изучение замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного, шиповника коричного и рябины обыкновенной

Гармонизация отечественной нормативной документации на лекарственное растительное сырье с ведущими мировыми фармакопеями – основное требование в развитии фармации на современном этапе. Этот вопрос особенно актуален, в связи с подготовкой очередных томов Государственной фармакопеи XIII издания. В нее будут включены общая фармакопейная статья (ОФС) «Плоды» (Fructus) и частные фармакопейные статьи с дополнениями на высушенные и свежие плоды, разрешенные к медицинскому применению.

ОФС на плоды как морфологическую группу сырья впервые была включена в ГФ IX издания. Согласно нормативной документации качество плодов устанавливалось разделами «Внешние признаки» (цельное сырье), «Микроскопия» (цельные плоды и порошок), «Числовые показатели», «Хранение». ГФ X издания была дополнена разделом «Качественные реакции», которые проводили только в затруднительных случаях. В статье ГФ XI издания раздел «Микроскопия» представлен описанием анатомо-диагностических признаков цельного, резанного и дробленного и порошка плодов; впервые введены разделы «Люминесцентная микроскопия»», «Гистохимические реакции» и «Качественные реакции», согласно которым проводят самостоятельные обязательные исследования. Для определения доброкачественности плодов определяют: содержание действующих веществ, биологическую активность, влажность, содержание золы общей и золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, измельченность и содержание примесей.

В проект ОФС «Плоды» ГФ XIII издания включены морфолого-анатомические характеристики, позволяющие устанавливать подлинность сырья в цельном и измельченном виде. Обнаружение групп БАВ проводят с использованием качественных реакций, хроматографических проб и спектральных характеристик. Рекомендовано проводить испытания на

безопасность (раздел «Микробиологическая чистота») и количественное содержание действующих или экстрактивных веществ («Количественное определение»).

Существующая нормативная документация регламентирует качество высушенных, реже свежих плодов, информация о влиянии низких температур на вариабильность морфолого-анатомических признаков при установлении характеристик подлинности сырья не находит отражения в научной литературе. Выявленные перспективы использования в качестве ЛРС плодов замороженных потребовали изучения влияния низких температур навариабильность морфолого-анатомических признаков при установлении характеристик подлинности сырья.

Для определения подлинности замороженных плодов нами было проведено морфолого-анатомическое изучение сырья и выявлены признаки, которые использованы при составлении характеристик подлинности сырья на основе макро- и микроскопического метода исследования.

7.1. Морфологическое описание высушенных и замороженных плодов

Определение морфологических признаков проводили на примере высушенных и замороженных плодов шиповника коричного, боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной в соответствии с разделом «Методы анализа лекарственного растительного сырья», статья «Плоды» (ГФ XI, вып.1, с.258).

7.1.1. Макроскопический анализ высушенных плодов шиповника коричного боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной.

Плоды исследовали сухими, а также после размачивания в горячей воде, рассматривая их невооруженным глазом, с помощью лупы (10х) или стереомикроскопа (х16).

Цельные *плоды шиповника* представляют собой, очищенные то чашелистиков и плодоножек ложные плоды разнообразной формы: от шаровидной, яйцевидной или овальной до сильно вытянутой веретеновидной; длиной плодов – 0,7-3 см,

размером 0,6-1,7 см. На верхушке плода имеется небольшое круглое отверстие или пятиугольная площадка (Рис.39.2). Плоды состоят из разросшегося мясистого, при созревании сочного цветоложа (гипантия) и заключенных в его полости многочисленных плодиков – орешков. Стенки высушенных плодов твердые, хрупкие, наружная поверхность блестящая, реже матовая, более или менее морщинистая. Внутри плоды обильно выстланы длинными, очень жесткими щетинистыми волосками. Орешки мелкие, продолговатые, со слабо выраженными гранями. Цвет плодов от оранжево-красного до коричневато-красного, орешков – светло-желтый, иногда коричневатый. Запах отсутствует. Вкус кисловато-сладкий, слегка вяжущий.

Цельные *плоды боярышника* яблокообразные, шаровидной или короткоэллипсоидальной формы, твердые морщинистые, длиной 6-14мм, шириной 5-11мм, 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 (Рис.40.2). Цвет плодов от буровато-красного до темно-бурого или черного, иногда с беловатым налетом выкристаллизовавшегося сахара. Запах отсутствует. Вкус сладковатый.

Цельные *плоды рябины* обыкновенной яблокообразные. Без плодоножек, 2-5-гнездные, округлые, овально-округлые, диаметром до 9 мм, блестящие, сильно морщинистые, на верхушке с остающейся чашечкой из пяти малозаметных смыкающихся зубчиков. В мякоти плода находятся от 3до 7 серповидно-изогнутых, продолговатых, гладких красновато-бурых семян. Цвет плодов красновато- или желтовато-оранжевый, буровато-красный. Запах слабый, своеобразный, Вкус кисловато-горький (Рис.41.2).

7.1.2. Макроскопический анализ замороженных плодов шиповника коричного, боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной

Плоды исследовали после предварительного размораживания в течение 10-15 мин, рассматривая их невооруженным глазом, с помощью лупы (10х) или стереомикроскопа (х16).

В ходе макроскопического анализа определено: *плоды шиповника* - ложные плоды от шаровидной, яйцевидной или овальной до сильно вытянутой веретеновидной формы, длиной – 1-2 см, шириной 0,8 -1,5 см. На верхушке плода имеется небольшое круглое отверстие или пятиугольная площадка. Плоды состоят из разросшегося мясистого, при созревании сочного цветоложа (гипантия) и заключенных в его полости многочисленных плодиков – орешков. Поверхность плодов блестящая, гладкая. Внутри плоды обильно выстланы длинными, очень жесткими щетинистыми волосками. Орешки мелкие, продолговатые, со слабо выраженными гранями. Цвет плодов красновато- или оранжево-красный, орешков – светло-желтый, иногда коричневатый. Запах слабый. Вкус кислый, кисловато-сладкий (Рис. 39.3).

Плоды боярышника яблокообразные, сочные шаровидной или короткоэллипсоидальной формы, до 1,5 см в диаметре. Поверхность плодов твердая, гладкая, сверху с кольцевой оторочкой, образованной широкоугольными, отогнутыми чашелистиками. В мякоти плода находятся 1-5 деревянистых косточек, имеющих неправильную треугольную, с боков ямчатую форму. Поверхность косточек ямчато-морщинистая. Цвет плодов красный, буровато-красный Запах отсутствует. Вкус сладковатый, кисловато-сладкий (Рис. 40.3).

Плоды рябины обыкновенной яблокообразные с мягким эндокарпом, красные, красно-оранжевые, округлой или овально-округлой формы, с блестящей, гладкой или слабо-морщинистой поверхностью, до 10 мм в диаметре, на верхушке с остающейся чашечкой из пяти малозаметных смыкающихся зубчиков. Мякоть плода рыхлая, мясистая. Внутри плода 2-5 гнезд, в которых расположены 1-2 семени. Семена в очертании продолговатые, серповидно-изогнутые, гладкие,

красновато-бурые. Запах слабый, своеобразный, Вкус кислый, кисловато-горький (Рис.41.3).

1.

2.

3.

Рис. 39. Плоды шиповника: 1 – свежие; 2 – высушенные; 3 - замороженные

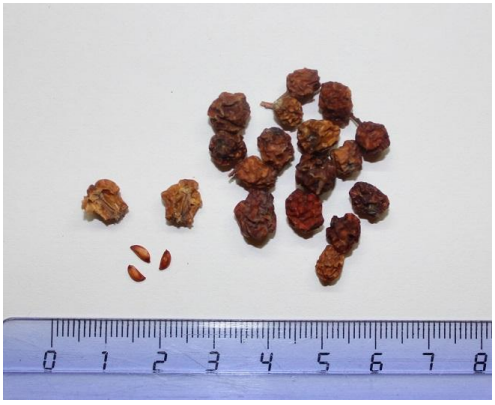
1.

2.

.3

Рис. 40. Плоды боярышника: 1 – свежие; 2 – высушенные; 3 – замороженные

1.



2.

3.

Рис. 41. Плоды рябины обыкновенной: 1 – свежие; 2 – высушенные; 3 – замороженные.

На основании изучения морфологических характеристик подтверждены признаки внешнего вида высушенных плодов и составлено описание морфологических признаков замороженных плодов для раздела «Внешние признаки» проекта ОФС «Плоды замороженные». Установлены наиболее

значимые признаки, отличающие замороженные плоды от высушенных: форма, характер поверхности, размеры, цвет, запах, вкус.

7.2. Анатомическое строение высушенных и замороженных плодов

Изучение микроскопических признаков проводили на примере высушенных и замороженных плодов шиповника, боярышника и рябины обыкновенной в соответствии со статьей «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья» (ГФ XI, вып.1, с.277).

Для микроскопического исследования[96,125,126] плодов готовили три вида микропрепаратов: эпидермиса с поверхности; давленый препарат мякоти плода и продольные срезы семян. При изготовлении микропрепаратов из замороженных плодов их не размораживали, так как при размораживании плоды теряют форму, что затрудняет процесс приготовления микропрепаратов. Размягчение замороженных плодов кипячением в воде затрудняло визуализацию анатомических признаков, в связи с чем для анализа замороженного сырья применяли фармакопейную методику (кипячение сырья в 5% растворе щелочи).

Для приготовления микропрепарата эпидермиса с поверхности 2-3 плода кипятили в пробирке в 5% растворе натрия гидроксида в течение 2-3 мин и тщательно промывали водой. Объект помещали на предметное стекло, препаровальными иглами отделяли ткани околоплодника, далее небольшие кусочки помещали на другое предметное стекло в каплю глицерина, накрывали покровным стеклом и исследовали под микроскопом на разных увеличениях.

При изготовлении давленого микропрепарата мякоти плоды также кипятили в пробирке в 5% растворе натрия гидроксида в течение 2-3 мин и тщательно промывали водой. Небольшие кусочки мякоти с помощью препаровальных игл переносили в каплю глицерина на предметном стекле, накрывали покровным стеклом, слегка надавливали на него обратной стороной препаровальной иглы для равномерного распределения тканей мезокарпия под стеклом и исследовали под микроскопом на разных увеличениях.

Микропрепарат продольного среза семян проводили на примере плодов рябины обыкновенной. Семена помещали в смесь спирта 96%, воды и глицерина в соотношении 1: 1: 1. По истечении трех суток их извлекали из смеси, помещали в парафиновый блок и готовили продольные срезы в растворе глицерина.

7.2.1. Микроскопический анализ высушенных плодов шиповника коричного, боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной

Цельные плоды шиповника. При рассмотрении микропрепарата цельных плодов видны следующие диагностические элементы: обрывки наружного эпидермиса гипантия (плода) в виде светло-желтых пластов, состоящих из многоугольных клеток (рис. 42) с прямыми неодинаково утолщенными, местами четковидно-утолщенными стенками (так называемого окончатого типа), редкими устьицами; фрагменты мякоти плода, состоящей из тонкостенных паренхимных клеток (рис.43.1), содержащих оранжево-красные хромопласты с каротиноидами и многочисленными друзами оксалата (рис.43.2); многочисленные крупные одноклеточные волоски (или их обломки) двух типов – очень крупные прямые с толстыми стенками и узкой полостью и более мелкие, слегка извилистые с широкой полостью (рис. 43.3; 43.4); обрывки проводящих пучков со спиральными сосудами (рис.44.1).

Цельные плоды рябины обыкновенной. Клетки эпидермиса разновеликие (рис.45.1) с прямыми неодинаково утолщенными стенками (окончатый тип). Содержат включения каротиноидов в виде желто-оранжевых капель (рис.45.2). Клетки мезокарпия разной формы, тонкостенные с многочисленными оранжево-желтыми хромопластами, содержащие кристаллы каротина. В мезокарпии проходят проводящие пучки, ксилема которых состоит их спиральных сосудов. Встречаются каменистые клетки (рис.46), друзы и призматические кристаллы.

Плоды рябины обыкновенной в среднем содержат от 5 до 10 семян. Структурными компонентами семян являются зародыш, эндосперм и семенная кожура. Эпидермис семенной кожуры (рис.47.1) состоит из тонкостенных клеток,

далее находится слой клеток склеренхимы. В эндосперме (рис.47.2) и зародыше содержится жирное масло и алейроновые зерна. Семя представлено крупными семядолями, окруженными слоем ровных клеток (рис.47.3).

Цельные плоды боярышника. При рассмотрении эпидермиса плода с поверхности наблюдаются четырех-шести угольные клетки с равномерно утолщенными стенками и желто-бурым содержимым (рис.48.1). Встречаются одиночные, одноклеточные, слегка извилистые, на концах заостренные толстостенные волоски. Мякоть плода состоит из клеток округлой или овальной формы, содержащих включения оранжево-красного или буровато-желтого (каротиноиды), мелкие друзы (рис.49.1) и призматические кристаллы, образующие местами кристаллоносную обкладку. Во внутренней части мякоти плода проходят коллатеральные пучки (рис.49.2), рядом с которыми расположены каменистые клетки (рис.49.3).

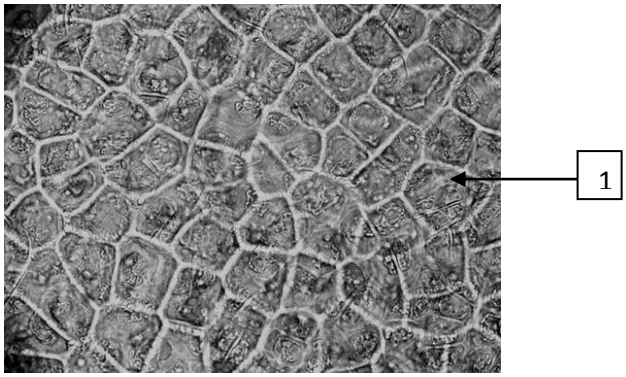


Рис. 42. Гипантий плодов шиповника с поверхности: 1 – клетки наружного эпидермиса (ув. х200);

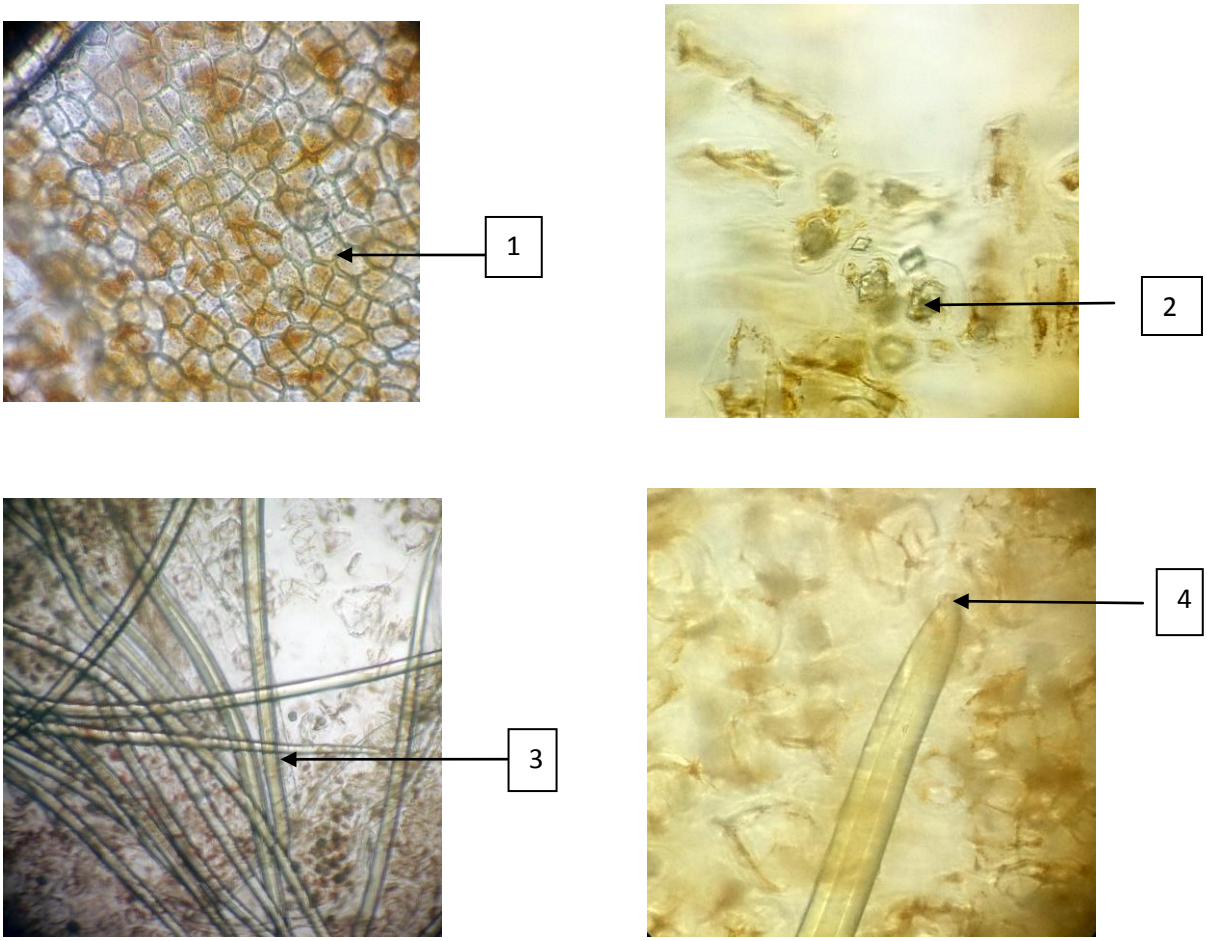


Рис. 43. Внутренний эпидермис гипантия с поверхности (ув. х200):

1 – клетки паренхимы с глыбками каротиноидов; 2-– клетки паренхимы с друзами; 3 – простые волоски; 4 – место прикрепления простых волосков

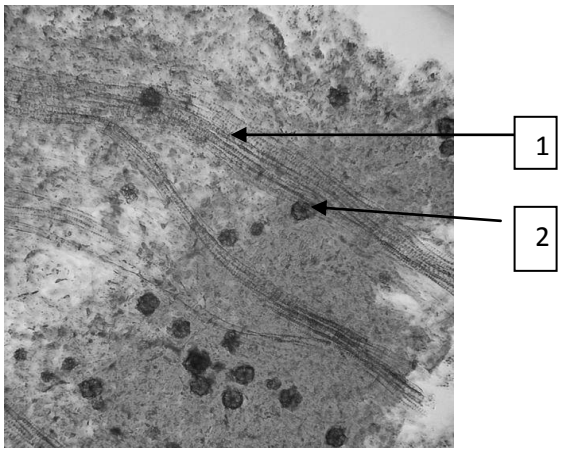


Рис. 44. Паренхима гипантия (давленный препарат): 1 - обрывки проводящих пучков и 2- друзы кальция оксалата (ув. х100).

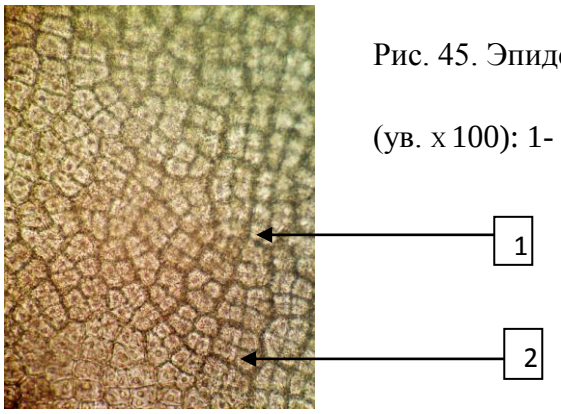


Рис. 45. Эпидермис плодов рябины обыкновенной

(ув. х 100): 1- клетки эпидермиса; 2- капли каротиноидов

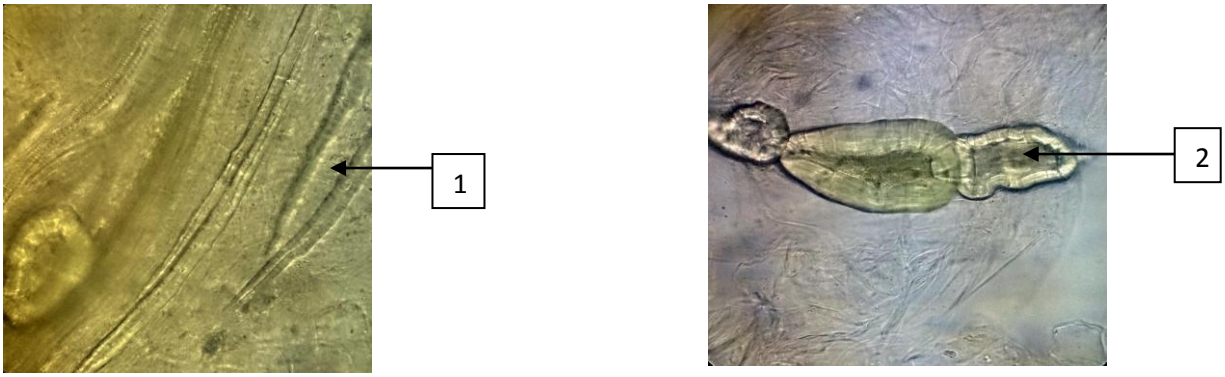


Рис.46. Фрагмент мезокарпия плодов рябины (давленный препарат) (ув. х200):

1- веретеновидные каменистые клетки; 2- изодиаметричные каменистые клетки;

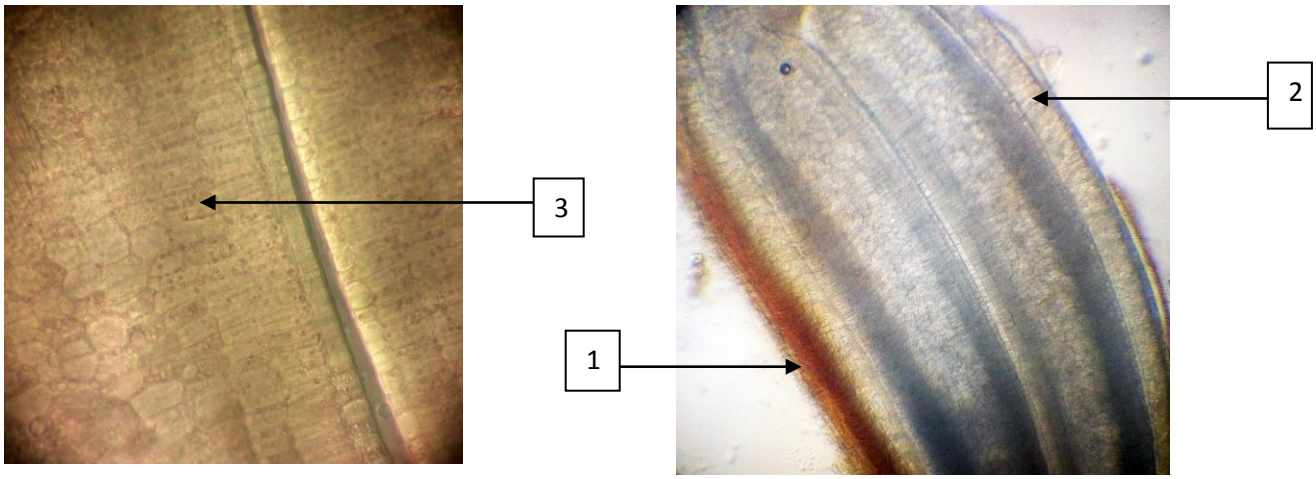


Рис.47. Продольный разрез семени (ув. х200): 1- семенная кожура; 2-эндосперм; 3- клетки семядолей

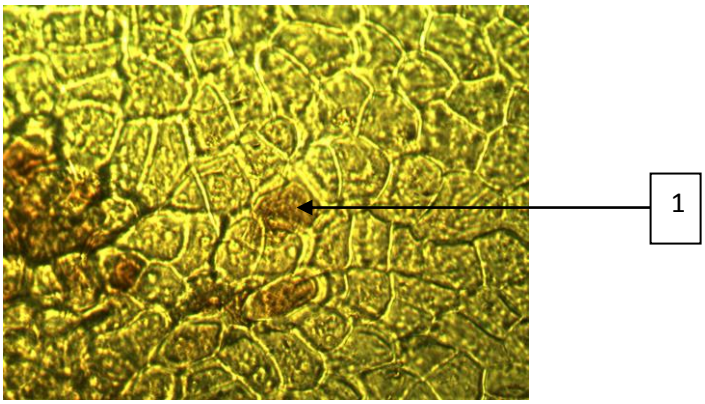


Рис.48. Эпидермис плодов боярышника (ув. х 100): 1- клетки эпидермиса

Рис.49. Фрагмент мякоти плодов боярышника (давленный препарат) (ув. х400):

1- друза оксалата кальция; 2- проводящий пучок; 3- каменистые клетки

7.2.2. Анализ анатомического строения замороженных плодов шиповника коричного, боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной

При микроскопическом изучении наружного эпидермиса *плода шиповника* диагностически значимым является наличие многоугольных, неравномерно четковидно утолщенных клеток (рис.50). В мякоти плода находятся тонкостенные паренхимные клетки с каротиноидами (рис.51.1) и друзами оксалата кальция (рис.51.2). Внутренний эпидермис выстилают простые тонкостенные волоски (рис.51.3).

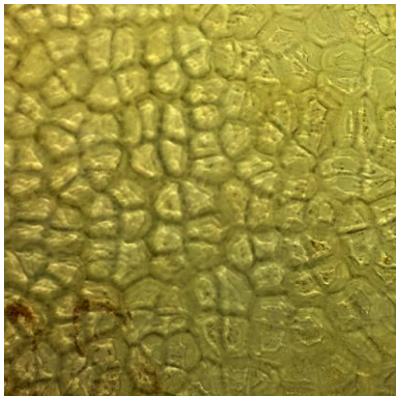
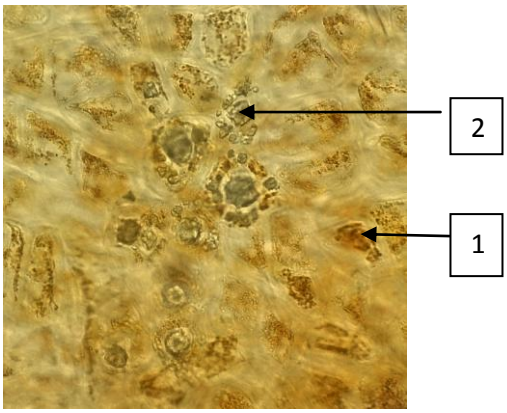
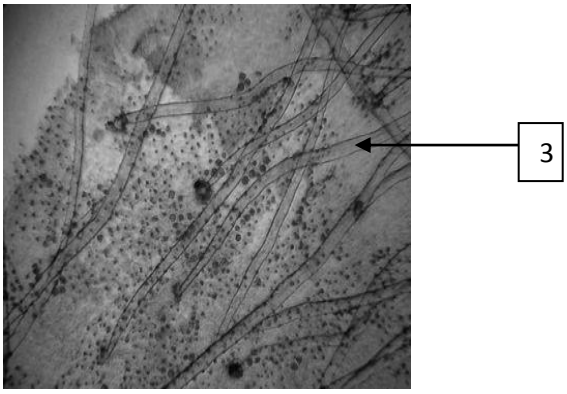


Рис.50. Клетки наружного эпидермиса (ув. х 200):





А. **Б.**

Рис. 51. Внутренний эпидермис (ув. х 200): А - клетки паренхимы с каротиноидами (1) и друзами (2); Б - простые волоски (3).

При проведении анатомического изучения замороженных *плодов рябины обыкновенной* выявлены наименее вариабельные признаки, которые сохраняются в сырье: клетки эпидермиса (рис.52.1) с неодинаково утолщенными стенками и желто-оранжевыми (ри.52.2) каплями (каротиноиды). Мезокарп содержит одиночные или группами каменистые (рис.52.3) клетки, друзы (рис.52.4) и проводящие пучки (рис.52.5).

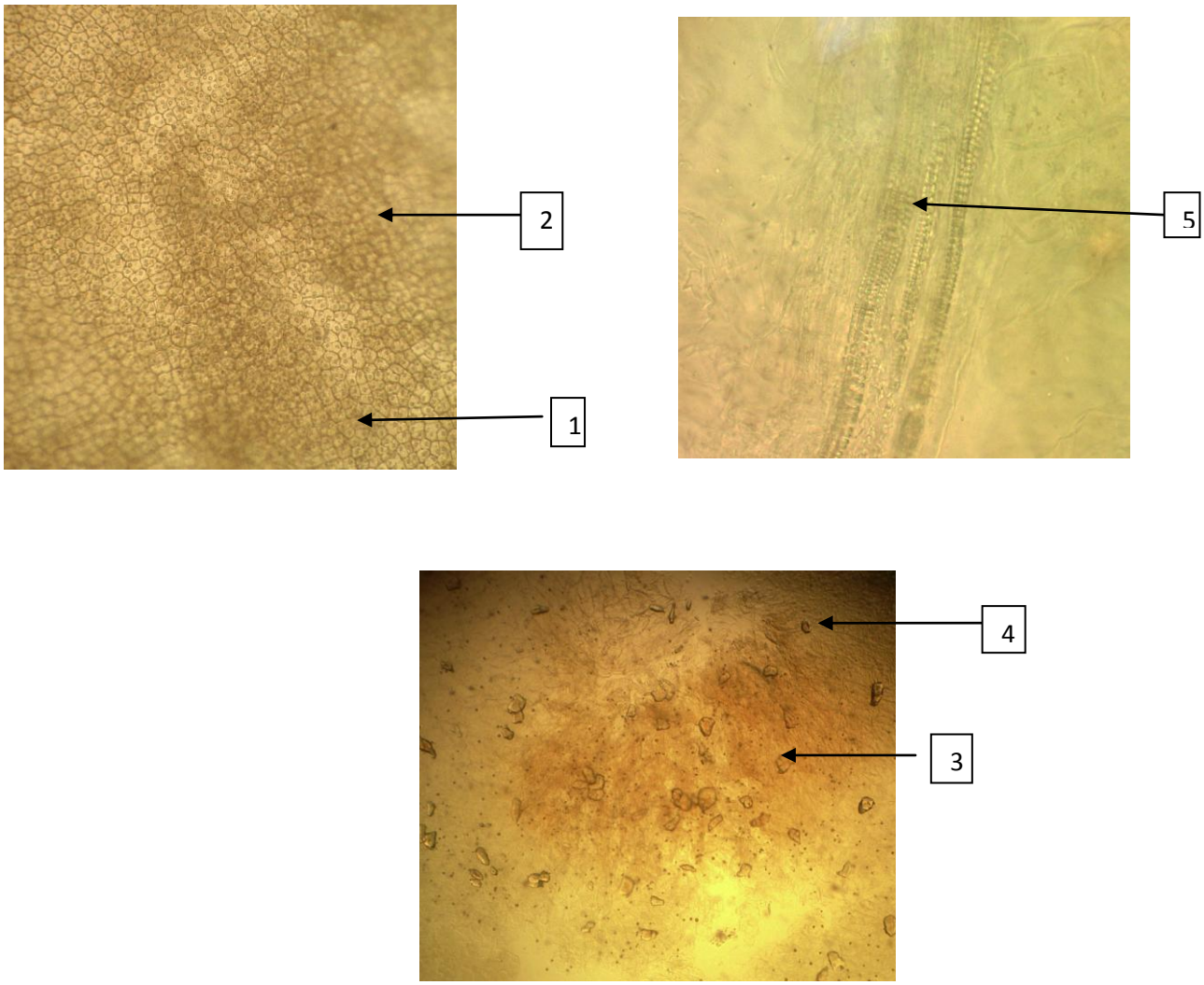


Рис. 52. Препарат плодов рябины обыкновенной (ув. х 100): 1- клетки эпидермиса; 2- каротиноиды; 3- каменистые клетки; 4-друзы; 5- сосуды проводящего пучка

При изучении анатомического строения замороженных *плодов боярышника* отмечено, что клетки эпидермиса четырех-шести угольные с равномерно утолщенными стенками (рис.53.1). На поверхности эпидермиса имеются простые одноклеточные волоски (рис.53.2). В паренхиме мезокарпа имеются каменистые клетки (рис.54.2), объединенные в группы, обнаружены друзы (рис.54.3), форма которых округлая, звездчатая. Во внутренней части мякоти плода проходят коллатеральные пучки (рис.54.1).

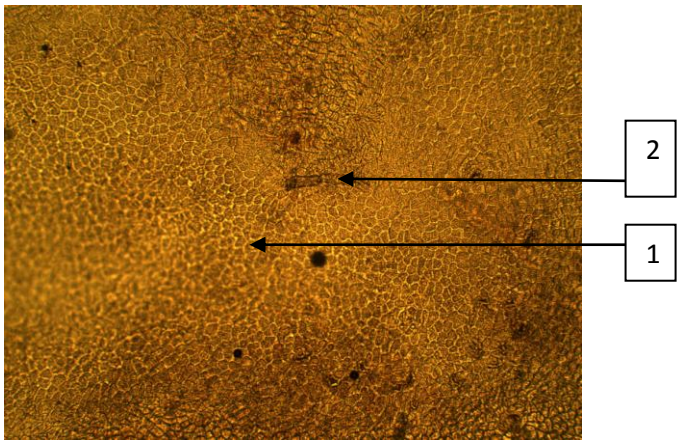
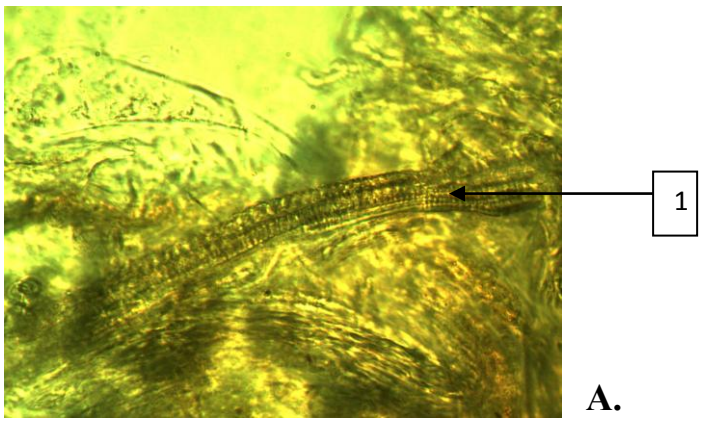
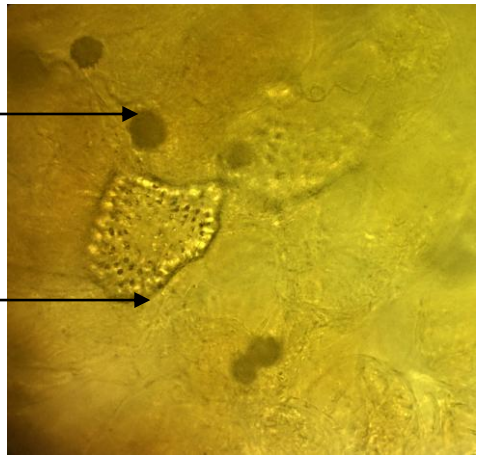


Рис.53. Эпидермис с поверхности (ув. х 100): 1-клетки эпидермиса; 2- простой волосок



А.



Б. **В.**

Рис. 54. Клетки мякоти плода (ув. х 400): 1 - проводящий пучок, 2 - каменистые клетки, 3 – друзы.

Результаты проведенного микроскопического анализа высушенных и замороженных плодов шиповника коричного, боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной позволяют достоверно выявлять диагностически значимые элементы анатомического строения, которые могут быть использованы для установления подлинности плодов. Установлено, что значительных и принципиальных отличий в анатомической структуре высушенных и замороженных плодов нет.

Полученные результаты морфолого-анатомического изучения замороженных плодов были использованы при разработке проекта общей фармакопейной статьи «Плоды замороженные» ГФ XIII.

7. 3. Выводы к главе 7

1. Изучены и описаны морфологические признаки замороженных плодов боярышника кроваво-красного, шиповника коричного и рябины обыкновенной. Установлены наиболее значимые признаки: форма, характер поверхности, размеры, цвет, запах, вкус.

2. Проведено изучение анатомического строения замороженных плодов и выявлены наименее вариабельные признаки: клетки эпидермиса, каменистые клетки, друзы, сосуды, клетки мякоти с каротиноидами.

3. Установлено, что способ консервации не влияет на проявляемость анатомических признаков плодов.

4. Результаты исследований по изучению характеристик подлинности замороженных плодов включены в проект фармакопейной статьи «Плоды замороженные» ГФ XIII.

Общие выводы

1. Проведенное информационно-аналитическое исследование показало, что перспективным методом консервации свежего ЛРС морфологической группы «плоды» является замораживание. В фармацевтической практике этот вид консервации ЛРС не используется. Системное изучение влияния отрицательных температур на химический состав плодов отсутствует. Вопросы анализа и стандартизации замороженных плодов не разработаны.

2. Методом ТСХ проведен сравнительный анализ качественного состава БАВ свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной, аронии черноплодной, малины обыкновенной, шиповника коричного, калины обыкновенной и черники обыкновенной. В плодах идентифицированы органические кислоты (яблочная, лимонная, щавелевая, сорбиновая, янтарная, аскорбиновая), фенолкарбоновые кислоты (галловая, хлорогеновая, кофейная, салициловая), флавоноиды (рутин, кверцетин, лютеолин, гиперозид, цианидин-3,5-дигликозид, цианидин-3О-глюкозид). Показано, что анализируемые способы консервации не изменяют компонентный состав БАВ исследуемых объектов.

3. Изучено влияние способа консервации ЛРС на содержание в плодах боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной, аронии черноплодной, малины обыкновенной, шиповника коричного, калины обыкновенной и черники обыкновенной флавоноидов, полисахаридов, дубильных веществ, аскорбиновой и органических кислот и выявлены общие закономерности. Установлено, что при замораживании плодов количество полисахаридов и аскорбиновой кислоты почти не изменяется (снижается на 5-7%), содержание органических кислот, флавоноидов и дубильных веществ падает на 10-20%, а содержание антоцианов снижается на 30% по сравнению со свежими плодами. При высушивании плодов наиболее заметно сокращается количество аскорбиновой кислоты и антоцианов (не превышает 15-20% от содержания в свежем сырье), содержание дубильных веществ и органических кислот снижается почти в два раза, тогда как содержание

полисахаридов и флавоноидов существенно не изменяется (происходит их уменьшение в среднем на 6-15%).

4. На основании изучения динамики содержания БАВ в процессе хранения замороженных плодов боярышника кроваво-красного, рябины обыкновенной, малины обыкновенной, шиповника коричного и аронии черноплодной рекомендованы сроки хранения – 12 месяцев в морозильной камере при температуре не выше минус 18 ºС в полиэтиленовых пакетах (марка Н «пищевая»).

5. Показана возможность получения водных извлечений из замороженного сырья. Сравнительный анализ органолептических характеристик, физико-химических показателей (цвет, запах, вкус, pH), содержания основных групп БАВ отваров, изготовленных из свежих, замороженных и высушенных плодов боярышника кроваво-красного, калины обыкновенной и рябины обыкновенной показал, что способ консервации плодов не влияет на качество полученных водных извлечений.

6. Изучено влияние способа консервации исходного сырья на качество жидких экстрактов из плодов боярышника, калины и рябины обыкновенной. Показано, что жидкие экстракты из свежих и замороженных плодов характеризуются большим содержанием БАВ, чем жидкие экстракты из высушенного сырья. Содержание органических кислот в них было больше в 1,3-1,5 раза, дубильных веществ – в 1,3-1,7 раза, флавоноидов в 1,0-1,2 раза, аскорбиновой кислоты в 1,5-2,2 раза. По содержанию БАВ жидкие экстракты из замороженных плодов уступали жидким экстрактам из свежего сырья незначительно, содержание в них органических кислот было ниже на 1-8%, дубильных веществ – на 6-13%, флавоноидов – на 8%, аскорбиновой кислоты – на 4-18%.

7. Показано, что замороженные плоды рябины обыкновенной и боярышника могут быть использованы для изготовления настоек гомеопатических матричных как альтернатива свежему сырью. Качественный став БАВ матричных настоек из свежего и замороженного сырья был идентичен, а по количественному

содержанию флавоноидов, дубильных веществ, органических кислот, аскорбиновой кислоты и полисахаридов различия были незначительные.

8. С использованием макро- и микроскопического методов анализа для идентификации замороженных плодов выявлены наиболее значимые для диагностики морфологические признаки плодов: форма, характер поверхности, размеры, цвет, запах, вкус; диагностически значимые признаки анатомического строения: форма клеток эпидермиса, характер утолщения стенок сосудов, наличие и форма каменистых клеток, наличие друз, клеток мякоти с каротиноидами.

9. На основании результатов теоретических и экспериментальных исследований разработаны: проекты ОФС «Плоды замороженные» и фармакопейной статьи «Шиповника плоды» для ГФ РФ XIII изд. (приняты к рассмотрению ФГБУ «НЦ ЭСМП»); проект общей инструкции по заготовке свежих и замороженных плодов лекарственных растений семейства Розоцветных и инструкции по заготовке и хранению свежих плодов малины обыкновенной, рябины обыкновенной, боярышника кроваво-красного и шиповника коричного.

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. Абдуллина, С.Г. Гальваностатическая кулонометрия в анализе лекарственных средств. Учебно-методическое пособие для студентов фармацевтического факультета / С.Г. Абдуллина, И.К. Петрова, О.А. Лира / Казань: КГМУ, 2011; 62 с.

3. Агапова, Н.М. Кулонометрическое определение содержания аскорбиновой кислоты в плодах шиповника / Н.М. Агапова, С.Г. Абдуллина, Р.Ш. Хазиев // Здоровье и образование в XXI веке. Материалы XI международного конгресса. – М., 2010. – С. 44-45.

4. Агапова, Н.М. Кулонометрическое определение содержания органических кислот в свежих и сухих плодах / Н.М. Агапова, С.Г. Абдуллина, Р.Ш. Хазиев // Актуальные вопросы повышения качества последипломной подготовки фармацевтических кадров: Материалы Респ. научн.-практ. конф. – Казань, 2010. – С. 9-11.

5. 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.

6. 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.

7. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения / А. А. Лапин [и др.] // Химия растительного сырья. – 2007. – № 2. – С. 79 – 83.

8. Антоцианы некоторых видов рода Rubus L. из коллекции ботанического сада БелГУ / В. Н. Сорокопудов [и др.] // Химия растительного сырья. – 2005. – № 4. – С. 61 – 65.

9. Бакшутов, С. А. Биологически активные вещества плодов видов рода Crataegus L. В условиях Белогорья / С. А. Бакшутов, В. Н. Сорокопудов, И. А. Навальнева // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2011. - № 9(104), вып.15/2. – С. 268 – 272.

10. Биологически активные вещества, входящие в состав лекарственного растительного сырья / И.М.Коренская [и др.]. Воронеж: Издательско-полиграфический центр ВГУ, 2010. 66 с.

11. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3-х т. / Под ред. Б.Н. Головкина. – М.: Наука, 2001. – Т 1. – 368 с.

12. Ботанико - фармакогностический словарь: справ. пособие / Под ред. К. Ф. Блиновой. – М.: Высшая школа, 1990. – 272 с.

13. Васильев, А.С., Калинкина Г.И., Тихонов В.Н. Лекарственные средства растительного происхождения: справочное пособие. Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2006. 122 с.

14. Верещагин, В.А., Колодязная В С. Действие замораживания на содержание витамина С в растительных продуктах /под ред. В.Е.Куцаковой. - СПб: СПбТИХП, 1991, с 10-15.

15. Вершинина, В. В. Определение подлинности плодов и сиропа шиповника с использованием тонкослойой хроматографии / В. В. Вершинина, В. А. Куркин // Медицинский альманах. – 2011. – № 2(15). – С. 144 – 146.

16. Витамины как основа иммунометаболической терапии / А.А. Савченко и др. Красноярск: Издательство КрасГМУ, 2011. 213 с.

17. 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.

18. Гаммерман, А. Ф.. Гром И.И. Дикорастущие лекарственные растения СССР. – М.: Медицина, 1976. – 288 с.

19. Гейсс, Ф. Основы тонкослойной хроматографии / Ф. Гейсс. – М.: Мир, 1999. – 405с.

20. Георгиевский, В. П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В. П. Георгиевский, Н. Ф. Комиссаренко, С. Е. Дмитрук. – Новосибирск: «Наука», 1990. – 333 с.

21. 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.

22. Горбачев, В. В., Горбачева В. Н. Витамины. Макро- и микроэлементы. М.: Медицинская книга, 2011. 432 с.

23. ГОСТ 29187–91. Плоды и ягоды быстрозамороженные. Общие технические условия [Текст]. – Введ. 1993 – 01 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1993. – 14 с.

24. ГОСТ 3525-75. Плоды малины [Текст]. – Введ. 1977 – 07 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1977. – 3 с.

25. ГОСТ 6714-74. Плоды рябины обыкновенной. [Текст]. – Введ. 1975 – 07 – 01. – М.: Изд-во стандартов, 1975. – 3 с.

26. ГОСТ Р 54691-2011. Малина и ежевика свежие: технические условия. [Текс]. – Введ. 2013 – 01 – 01. – М.: ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 2013. – 12 с.

27. Государственная фармакопея республики Белорусь: т.2. Общие и частные фармакопейные статьи. – Минск, 2007. – 471 с.

28. Государственная фармакопея СССР. Изд-во 9-е. М.: Медгиз, 1961. -909с.

29. Государственная фармакопея СССР. Изд-во 10-е. М.: Медицина, 1968. -1078с.

30. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1989.- 336 с.

31. Государственная фармакопея СССР: вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.. ил.

32. Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-ое изд. Часть 1.- М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. - 704 с.

33. Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных к медицинскому применению. – М., 1998. – 1005с.

34. Губанов, И. А. Дикорастущие полезные растения СССР / И. А. Губанов, И. Л. Крылова, В. Л. Тихонова. – М.: Мысль, 1976. – 360 с.

35. Губарев, С.В. Сохранение качества ягод земляники, малины, смородины, жимолости в связи с биологическими особенностями культуры и способами хранения. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. – Мичуринск, 2000с.

36. Гусейнова, Б. М. Реакция биокомпонентов малины и смородины на действие низких температур и длительность хранения / Б. М. Гусейнова, Т. И. Даудова // Вестник Международной академии холода. – 2009. – № 3. – С. 23 – 26.

37. Гудковский, В. А. Антиокислительные (целебные) свойства плодов и ягод и прогрессивные методы их хранения // Хранение и переработка сельхозсырья. 2001. - № 12. - С. 13-15.

38. Джабоева, А. С. Создание технологий хлебобулочных, мучных кондитерских и кулинарных изделий повышенной пищевой ценности с использованием нетрадиционного растительного сырья: автореф. дис. … доктора тех. наук: 05.18.01, 05.18.05 / Джабоева Амина Сергеевна. – М., 2009. – 49 с.

39. Дикорастущие полезные растения России / под ред. А.Л. Буданцева. Санкт-Петербург: Издательство СПХФА, 2001. 663 с.

40. 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.

41. Доклиническое токсикологическое исследование липофильного комплекса, выделенного из плодов аронии черноплодной/ Н.С. Никитина и др.// Сборник материалов IV Международного съезда «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения», Великий Новгород.- 2000, С. 198-200.

42. 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.

43. 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.

44. Егорова, А.В. Исследование по стандартизации плодов растений, содержащих вещества антоциановой природы: автореф. дисс. … канд. фарм. Наук: 14.04.02 / Егорова Алена Владимировна. - Самара, 2013.- 26 с.

45. Жарова, С. Н. Заготовка и хранение плодов. / С. Н. Жарова, Е. И. Панкова, И. Э. Старостенко. – Л.: Лениздат, 1987. – 160 с.

46. Зеликсон, Ю. И., Кондратьев Т. С. Изготовление настоев и отваров// Фармация.- 1997.- С. 42-43.

47. 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.

48. Зологина, В. Г. Технология комплексной переработки плодов рябины обыкновенной: автореф. дис. …канд. тех. наук: 05.21.03 / Зологина Вероника Геннадьевна. – Красноярск, 2005. – 23 с.

49. Иванов, В.А., Борисова Т.В. Комплексное использование калины обыкновенной // Сборник статей по мат. Всерос. науч.-практ. конф. Т. 2. 07 окт. Красноярск. 2005. - С. 109–111.

50. Изменение биологически активных веществ плодов шиповника в процессе хранения / В. Н. Тимофеева [и др.] // Известия вузов. Пищевая технология. – 2006. – № 1. – С. 10 – 11.

51. Изучение состава органических кислот рябины обыкновенной флоры Башкортостана / Д. Ф. Галимова [и др.] // Традиционная медицина. – 2011. – № 5(28). – С. 177 – 180.

52. Ильиных, А.В. Микроэлементы и флавоноиды черники обыкновенной/ А.В. Ильиных, Д.С. Круглов // Труды 3-го Международного форума (8-й Международной конференции). – Самара. - 20-23 ноября 2007 г.

53. 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. –162с.

54. Исследование гипогликемического действия экстракта из листьев Аронии черноплодной / Абакумова О.Ю. [и др.]// Вопросы медицинской химии, 2002. № 48(3).- С. 271-277

55. 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.

56. Казначеева, Е. В. Фармакогностическое изучение и стандартизация листа малины (Rubus idaeus L.) и сухого экстракта: автореф. дис. … канд. фарм. наук: 14.04.02 / Казначеева Елена Вячеславовна. – М., 2011. – 23 с.

57. 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.

58. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография: в 2-х т. [Пер. с англ.] / Ю. Кирхер. – М.: Химия,1989. – т.1. – 616с.

59. Киселева, Т. А. Количественное определение суммы флавоноидов в плодах боярышника / Т. А. Киселева, И. А. Самылина // Фармация. – 1987. – Т. 36, №5. – С. 30 – 32.

60. Киселева, Т.Л. Рябина (арония) черноплодная// Медицинская помощь, 1994. № 4. С. 53-56.

61. Киселева, Т.Л., Смирнова Ю.А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. – М.: изд. Профессиональной ассоциации натуротерапевтов.- 2009. 295 с.

62. 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.

63. Кольцова, М. А. Содержание микроэлементов в плодах различных видов рябины / М. А. Кольцова // Биологический журнал Армении. — 1980.— Т. 33.— № 1.— С. 95–99.

64. 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.

65. Котенко, К. Л. Холосас – рецепт природы для здоровья человека / К. Л. Котенко // Medical Nature. – 2013. – № 3 – 4. – С. 66.

66. 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.

67. Кременская, М.И. Разработка интенсивных технологий быстрого замораживания лесных и садовых ягод: автореф. дис… канд. техн. наук: 05.21.03 / Кременская Марина Ивановна.- Санкт Петербург, 2000. - 16 с.

68. Кузьмякина, В. М. Применение полиэтиленовой упаковки при хранении овощей. Достижения сельско-хозяйственной науки и практики / В. М. Кузьмякина, Л. С. Нестерова // Земледелие и растениводство. – 1979. – №8. – С.11 – 19.

69. Куркин, В.А., Егорова А.В. Стандартизация плодов аронии черноплодной// Фармация, 2012. № 7. С. 10-13.

70. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие./В.А.Куркин.- Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009.- 963 с.

71. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учеб. для студентов фармац. вузов / В.А. Куркин. - Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.

72. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия: учебное пособие / под ред. Г. П. Яковлева. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 845 с.

73. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты: учебное пособие. В 2 ч. Часть 1 / В. Н. Тихонов, Г. И. Калинкина, Е. Н. Сальникова; под ред. С. Е. Дмитрука. – Томск, 2004. – 116 с.

74. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты: учебное пособие. В 2 ч. Часть 2 / В. Н. Тихонов, Г. И. Калинкина, Е. Н. Сальникова; под ред. С. Е. Дмитрука. – Томск, 2004. – 148 с.

75. Лекарственные растения Государственной Фармакопеи. Фармакогнозия: Часть 1 / под ред. И. А. Самылиной. -М.: АНМИ, 2001. 488 с.

76. Лекарственные растения в фитотерапии / В.Ф. Дзюба [и др.]. Воронеж: ВГУ, 2004. 86 с.

77. Литовченко, Т. Ю., Иванов В.А., Борисова Т.В. Химический состав калины обыкновенной // Лесной и химический комплексы - проблемы и решения: сб. статей по мат. Всерос. науч.-практ. конф. регион. науч.практ. конф.. т. 2. Красноярск: СибГТУ, 2006.- С. 98–100.

78. Лира, О.А. Кулонометрическое определение аскорбиновой кислоты /О.А. Лира, С.Г. Абдуллина // Здоровье и образование в XXI веке: Научные и прикладные аспекты концепции здоровья и здорового образа жизни: Сб. науч. трудов X междунар. конгресса. – М., 2010. – С. 528.

79. 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.

80. Ломова, Т. С. Новые решения в хроматографическом и фотометрическом анализе антоциановых пигментов из растительного сырья: автореф. дис. … канд. хим. наук: 02.00. 02/ Ломова Татьяна Сергеевна.– Воронеж, 2007. – 23с.

81. Лотова, Л.И. Ботаника: Морфология и анатомия высших растений: учебник./ Л.И. Лотова. – 4-е, изд. доп. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2010. – 512 с.

82. 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.

83. Лютикова, М. Н. Компонентный состав свежих, мороженых и подснежных ягод клюквы (Oxycoccus palustris) / М. Н. Лютикова, Ю. П. Туров // Химия растительного сырья. – 2011. – № 4. – С. 231 – 237.

84. 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.

85. 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.

86. Мазнев, Н. И. Энциклопедия лекарственных растений / Н. И. Мазнев. – М.: Мартин, 2004. – 496 с.

87. Макаркина, М. А. Оценка сортов плодовых и ягодных культур, выращенных в условиях ЦЧР РФ, по биохимическим показателям плодов / М. А. Макаркина, Т. В. Янчук // Достижения наук и техники АПК. – 2010. – № 10. – С. 26 – 29.

88. Маршанова, Л.М. Исследование состава и разработка биотехнологии получения биологически активных концентратов черники обыкновенной: автореф. дис… канд. биол. наук: 03.00.23 / Маршанова Лаура Муратовна.- Ставрополь, 2006. - 23 с.

89. Матюхина, З. П. Товароведение пищевых продуктов: учеб. для нач. проф. Образования / З. П. Матюхина, Э. П. Королькова. – М.: ИРПО, изд. Центр «Академия», 1998. – 272с.

90. Машковский, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. 16-е изд. – М.: Новая волна, 2011. – 1206 с.

91. Методика определения антоцианов в плодах черноплодной рябины / В.Ю. Андреева [и др.]// Фармация, 2013.- № 3. - С. 19-21.

92. Методы фармакогностического анализа лекарственного растительного сырья. Часть II. Химический анализ: учебное пособие / Г.И. Калинкина [и др.]. Томск: СибГМУ, 2008. - 55 с.

93. Минина, С. А. Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие для ВУЗов / С. А. Минина, И. Е. Каухова. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 560 с.

94. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия / Д.А.Муравьева, И.А.Самылина, Г.П.Яковлев.- М.: Медицина, 2007. - 656 с.

95. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / под ред. В.Л. Багировой. - Санкт-Петербург: СпецЛит, 2001. - 221 с.

96. Никитин, А. А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений / А. А. Никитин, И. А. Панкова. - Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1982. - 767 с. : ил. - С. 717-720

97. Николаева, М. А. Товароведение плодов и овощей. / М. А. Николаева. – М.: Экономика, 1991. – 288 с.

98. 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.

99. Определение флавоноидов в плодах шиповника (Rosa sp.) / О. В. Чечета, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин, С. В. Снопов // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2011. – № 1. – С. 205 – 209.

100. Орлов В. И., Аратсков А.А. Жидкостная хроматография. Теоретические основы. Дзержинск: научно-технологическая компания «Синтеко»,1997.- 41с.

101. ОФС 42-0027-05. Настойки гомеопатические матричные.

102. 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.

103. 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.

104. Пектиновые полисахариды рябины обыкновенной Sorbus aucuparia L / А. А. Злобин [и др.] // Химия растительного сырья. – 2011. – № 1. – С. 39 – 44.

105. Перова, И.Б. Исследование содержания и специфического профиля антоцианинов лекарственного сырья: автореф. дисс. … канд. фарм. Наук: 14.04.02 / Перова Ирина Борисовна. - Москва, 2015.- 24 с.

106. 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.

107. Писарев, Д. И. Химическое изучение биологически активных полифенолов некоторых сортов рябины обыкновенной – Sorbus aucuparia / Д. И. Писарев [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2010. – №22, вып. 12/2. – С. 123 – 128.

108. Потанина, О.Г., Самылина И.А. К вопросу совершенствования стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм из него // Материалы V Международного съезда «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения». СПб., 2001. С. 357-360.

109. Попова, Н. В. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В. Попова, В. И. Литвененко. – Харьков, 2008. – 510 с.

110. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций) /под ред. А.И. Шретер. – М.: Медицина, 1985. – 329 с.

111. Применение метода ВЭЖХ в анализе сырья боярышника / О. В. Евдокимова, Д. М. Осокин, И. А. Самылина [и др.] // Сб. науч. тр. НИИ фармации МЗ РФ. – 1995. – Вып.34. – С. 172 – 177.

112. Приступа, Е.А. Разработка унифицированных методик контроля качества и технологии приготовления препаратов из сырья, содержащего кислоту аскорбиновую: дисс…канд. фарм. наук: 15.00.01 / Приступа Елена Анатольевна – Москва, 1995. – 145 с.

113. Промышленная технология лекарств. Том 2. Учебник для студентов высших учебных заведений / под ред. В.И.Чуешова. Харьков: НФАУ МТК-книга, 2002. 716 с.

114. Пронченко Г. Е. Лекарственные растительные средства / Под ред. А.П. Арзамасцева, И.А. Самылиной. М: ГЭОТАР – МЕД, 2002. 171с.

115. Растительные лекарственные средства / Н. П. Максютина, Н. Ф. Комиссаренко, А. П. Прокопенко [и др.]; под общ. ред. Н. П. Максютиной. – Киев: Здоровье, 1985. – 280 с.

116. Растительные Р-витаминные препараты из экстрактов шрота плодов облепихи и рябины черноплодной/ Т. П. Прищеп [и др.]// Материалы научной конференции «Актуальные вопросы фармакологии и фармакотерапии», Томск: РАМН Томский научный центр институт фармакологии, 1994. Том 7. С. 113-114.

117. 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.

118. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов // Под ред. И.М. Скурихина, В.А.Тутельяна. – М.: Медицина, 1998. – 340с.

119. 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.

120. 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.

121. Самылина, И. А. Исследования по разработке фармакопейного метода определения содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье / И. А. Самылина, Н. П. Антонова, И. П. Рудакова // Фармация. – 2009. – № 6. – С. 3 – 6.

122. 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.

123. Самылина, И. А. Стандартизация свежего растительного сырья / И. А. Самылина, Т. Л. Киселева // Фармация. – 2007. – № 1. – С. 49 – 51.

124. 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.

125. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности 060108 (040500) – Фармация: в 3-х томах / И.А.Самылина, О.Г.Аносова.-М.: ГЭОТАР-МЕдиа.- (Учебное пособие). Том 1: Общая часть. Термины и техника микроскопического анализа в фармакагнозии. - 2007. – 192 с.

126. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности 060108 (040500) – Фармация: в 3-х томах / И.А.Самылина, О.Г.Аносова.-М.: ГЭОТАР-МЕдиа. - Том 2. - 2010. - 384с.

127. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности 060108 (040500) – Фармация: в 3-х томах / И.А.Самылина, О.Г.Аносова.-М.: ГЭОТАР-МЕдиа. - Том 3. – 2009. - 488с.

128. Сборник фармакопейных статей по гомеопатии / Под редакцией член-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. – М., 2005. – 80 с.

129. 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.

130. Сергунова, Е. В. Изучение экстракционных препаратов шиповника / Е. В. Сергунова, А. А.Сорокина, М. А. Корнюшина // Фармация. – М., 2012. – №2. – С.14 – 16.

131. Сергунова, Е.В. Изучение фенольных соединений плодов и лекарственных форм шиповника методом ВЭЖХ / Е.В. Сергунова, А.А.Сорокина // Фармация. – М., 2012. - №5. – С.16 – 18.

132. Сергунова, Е.В. Стабильность аскорбиновой кислоты и способ консервации растительного сырья // Фармация. – М., 2014. - №4. – С.13 – 16.

133. Сергунова, Е.В. Способ консервации плодов аронии черноплодной и состав биологически активных веществ// Фармация. – М., 2014. - №8. –С.3–6.

134. 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.

135. 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.

136. Скурихин, И. М. Все о пище с точки зрения химика: Справ. издание / И. М. Скурихин, А. П. Нечаев. – М.: Высшая школа, 1991. – 136 с.

137. Смирнов, Е. В. Пищевые красители. Справочник / Е.В. Смирнов. — СПб.: Издательство «Профессия», 2009. — 352 с.

138. Совершенствование анализа и технологии настоев и отваров, содержащих флавоноиды / Аносова О. Г [и др.] // Фармация. – 1994. – Т.43, №1. – С. 30 – 34.

139. Соколов, С. Я. Фитотерапия и фитофармакология / С. Я. Соколов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2000. – 147 с.

140. 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.

141.Сорокина А.А., Самылина И.А. Изучение физико-химических характеристик настоев и отваров из лекарственного растительного сырья. // Фармация на современном этапе: Труды НИИФ.Т.XXXIX.Ч.2, М., 2000. С.272-275.

142. Сорокина, А. А. Теоретическое и экспериментальное обоснование стандартизации настоев, отваров и сухих экстрактов из лекарственного растительного сырья: дис. … д-ра фарм. наук: 15.00.02 /Сорокина Алла Анатольевна – М., 2002. – 230 с.

143. Спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид / Евдокимова О. В. [и др.] // Сб. науч. тр. НИИ фармации МЗ РФ. – 1998. – Вып.37. – С. 158 – 165.

144. 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.

145. Степанова, Т.А. Фармакогностическое изучение викарных видов лекарственных растений Дальнего Востока: автореф. дис. … доктора фарм. наук: 15.00.02 / Степанова Татьяна Алексеевна. – Хабаровск, 1998.- 49с.

146. Степанян, Р.В. Получение лекарственных форм из плодов черники кавказской и изучение их влияния на сетчатку глаза. / Р.В. Степанян, А.В. Топчян // Новый армянский медицинский журнал. – 2007. –т.1, №1 – С.35-39.

147. Тахтаджян, А. Л. Жизнь растений: в 6-ти томах. Том 5, часть 2: цветковые растения / А. Л. Тахтаджян. – М.: Просвещение, 1981. – 576 с.

148. Терешина, Н. С. Технология и стандартизация многокомпонентных гомеопатических препаратов: дис. … д-ра фарм. наук: 15.00.02 / Терешина Наталья Сергеевна. – М., 2006. – 293 с.

149. Терешина, Н.С. Методы консервации свежего лекарственного растительного сырья. Проблемы экологии, здоровья, фармации и паразитологии / Науч. труды. Изд. Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. М: 2012; 35-40.

150. Технология и контроль качества гомеопатических лекарственных препаратов. / Н.С. Терешина, З.П. Костенникова, И.А.Самылина // Изд. Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. М: 2014; 206.

151. 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.

152. Турецкова В.Ф., Талыкова Н.М. Экстракционные препараты из сырья растительного и животного происхождения: учебное пособие для студентов фармацевтического факультета. Барнаул: Изд-во ГОУ ВПО АГМУ Росздрава, 2007. - 268 с.

153. Турова, А. Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А. Д. Турова, Э. Н. Сапожникова. – М.: Медицина, 1984. – 304 с.

154. ТУ 9165-002-47569210-00 «Черника свежемороженая».

155. Фармацевтическая технология: руководство к лабораторным занятиям: учебное пособие / В.А.Быков [и др.]. М.:ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 304 с.

156. Филипцова, Г. Г. Основы биохимии растений: курс лекций / Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич. – Мн.: БГУ, 2004. – 136 с.

157. Фролов С. В., Данин В. В., Кременевская М. И. Потери при замораживании и холодильном хранении дикорастущих ягод// Вестник международной академии холода. 2008. №1. С. 35-36.

158. ФС 42-1741-87. «Облепихи плоды свежие»

159. ФС 42-66-87. « Аронии черноплодной плоды свежие»

160.ФС 42-1652-99. Настойка боярышника / Фармакопейный государственный комитет. – введ. 10.05.1999. – М., 1999. – 7 с.

161. ФСП 42-02053108-02. Боярышник, настойка гомеопатическая матричная Crataegus / ООО НПФ «Материа Медика Холдинг». – введ. 26.08.2002. – М., 2002. – 6 с.

162. ФСП 42-8555-07. Боярышника экстракт жидкий / ЗАО «ВИФИТЕХ». – М., 2007. – 8 с.

163. Химический анализ лекарственных растений: учеб. пособие для фармацевтических вузов / под ред. Н. И. Гринкевич. – М.: Высшая школа, 1983. – 176 с.

164. 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.

165. Чечета, О. В. Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента / О. В. Чечета, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Сорбционные и другие хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, вып.2. – С. 320 – 326.

166. 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.

167. Шишкина Н.С., Лежнева М.Л., Карастоянова О.В., Фесков О.А. Криогенное замораживание ягод, плодов и овощей //Производство и реализация мороженых и быстромороженных продуктов, 2004. - № 6. - С. 34 - 37.

168. Щеглов Н.Г. Технология консервирования плодов и овощей. - М.: Издательство «Палеотип», 2002. - 380 с.

169. 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.

170. Энциклопедия лекарств. Регистр лекарственных средств России / гл. ред. Г.Л. Вышковский. - М.: Изд-во РЛС-Медиа, 2010. - Вып. 18. - 1296 с.

171. Яковлев, Г. П. Ботаника: Учебник для вузов / Г.П. Яковлев, В. А. Челомбитько // Под ред. чл. – корр. РАН, проф. Р.В. Камелина. – СПб.: Спецлит, Издательство СПХФА, 2001. – 680 с.

172. A triterpenoid glucoside and phenolic compounds from Rosa davurica / Jong Cheol Park [et al.] // Natural product sciences. – 2003. – № 9(1). – P. 31 – 33.

173. Analysis of anthocyanin content in bilberry (Vaccinium myrtillus L.) fruit crude drugs by high-performance liquid chromatography method / D. Burdulis [et al.] // Medicina (Kaunas). – 2007. – № 43(7). – P. 568 – 574.

174. Antioxidant capacity and phenolic content of sweet rowanberries / A. T. Hukkanen [et al.] // Jornal of agricultural and food chemistry. – 2006. – № 54(1). – P. 112 – 119.

175. Barnes, J. Herbal Medicine: 3rd ed. / J. Barnes, L. A. Anderson, J. D. Phillipson. – London: The Pharmaceutical Press, 2007. – 721p.

176. 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.

177. 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.

178. British Pharmacopoeia. – London: Crown Copyright, 2008. – 10952 p.

179. Chaffai, R. Thin layer chromatography analysis of organic acids in maize (Zea mays L.) plants under Al and Zn toxicity / R. Chaffai, A. Tekitek, E. Ferjani // American journal of plant physiology. – 2006. – № 1(1). – P. 65 – 75.

180. Clifford, M.N. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden / M.N. Clifford // J. Sci. Food Agric. - Vol. 80. – P. 1063-1072.

181. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices / D. K. Asami [et al.] // Jornal of agricultural and food chemistry. – 2003. – № 51(5). – P. 1237 – 1241.

182. 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.

183. 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.

184. Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries / W. Millen [et al.] // Jornal of agricultural and food chemistry. – 2002. – № 50(18). – P. 5197 – 5201.

185. 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.

186. Ellagitannins from Rubus berries for the control of gastric inflammation: in vitro and in vivo studies / Enrico Sangiovanni [et al.] // PLOS ONE. – 2013. – Vol. 8(8). – P. 1 – 12.

187. European Pharmacopoeia -6-fh Ed.,2008.-P. 738-739

188. European Pharmacopoeia. – 7th ed. – 2010. – 4034 p.

189. Folta, K. M. Plant genetics and genomics: vol.6: Genetics and genomics of Rosaceae / K. M. Folta, S. E. Gardiner. – New York: Springer science + business media, 2009. – 654 p.

190. 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.

191. Gil-Izquierdo, A. Identification and quantitation of flavonols in rowanberry (Sorbus aucuparia L.) juice / A. Gil-Izquierdo, A. Mellenthin // European food research and technology. – 2001. – 213. – P. 12 – 17.

192. Giusti, M. Mónica. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy/ M. Mónica Giusti and Ronald E. Wrolstad // Current Protocols in Food Analytical Chemistry. – 2001. - F1.2.1-F1.2.13.

193. Hakkinen, Sari. Flavonois and phenolic acids in berries and berry products: diss. … doc. med. sciences: 221 / Sari Hakkinen. – Kiopio, 2000. – 90 p.

194. Handbook of medicinal herbs: 2nd ed. / James A. Duke [et al.]. – New Jork: CRC PRESS, 2002. – 894 p.

195. High performance liquid chromatography method for quantitative and qualitative determination of ascorbic acid mixture / Neugebaur M., El-Sadek M. et al. // Indian j. Rharm. Sci. 1990. Vol.52. № 4. P.182-185.

196. Hudhes Davi Emlyn. Titrometric determination of ascorbic acid with 2,6-dichlorphenol indophenyl in commercial liquid diets // J. Pharm. Sci. 1983. Vol. 72. P. 29-34.

197. Inhibitory activities of Rubi Fructus on digestive enzymes/ Jung Sung Kim, Woo Jin Jeon, Hyun Ju You// Food Science and Biotechnology October 2010, Volume 19, Issue 5 - pp -1165-1170.

198. 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.

199. Influence of processing on quality parameters of strawberries / A. Hartmann [et al.] // Jornal of agricultural and food chemistry. – 2008. – № 56(20). – P. 9484 – 9489.

200. Japanese Pharmacopoeia. – 15th ed. – 2006. – 1782 p.

201. Jordheim, M. Anthocyanins in Caprifoliaceae/ M. Jordheim *et al.*// Biochemical Systematics and Ecology. - 2007. - Vol. 35. - P. 153-159.

202. Kahkoner, M. P. Berry phenolics and their antioxidant activity / M. P. Kahkoner, A. I. Hopia, M. Heinonen // Jornal of agricultural and food chemistry. – 2001. – № 49(8). – P. 4076 – 4082.

203. Kmiecik, W. Effect of various thawing techniques on the quality of small fruit frozen products / W. Kmiecik, G. Jaworska, A. Budnik // Roczniki panstwowego zakladu higieny. – 1995. – № 46(2). – P. 135 – 143.

204. 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.

205. Lahachoompol V., Srzednicki G., Graske J. The change of total antocyanins in Blueberries and their antioxydant effect after drying and freezing// J. Biomed Biotechnol. 2004, № 5. P. 248 – 252.

206. 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.

207. Matthew D. Clay, Eric J. McLeod / Detection of Salicylic Acid in Willow Bark: An Addition to a Classic Series of Experiments in the Introductory Organic Chemistry Laboratory/ Journal of medical education. – 2012. – №89. – 1068 – 1070.

208. Mills, S. Principles and Practice of Phytotherapy: 2nd ed. / S. Mills, K. Bone. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 2013. – 1056 p.

209. Nakamura, Y. Major Anthocyanin of the Flowers of Hibiscus (Hibiscus *rosa-sinensis L.*)/ Yasuyuki Nakamura [et al.] // Agric. Biol. Chem. – 1990. - Vol. 54, № 12. – P. 3345-3346

210. Nutritional comparison of frozen and non-frozen fruits and vegetables: literature review / Gayaneh Kyureghian [et al.]. – 2010. – 48 p.

211. 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.

212. 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 // Jornal of pharmaceutical and biomedical analusis. – 2008. – № 48(3). – P. 629 – 635.

213. Oszmeanski X.J., Sapis J. Antocyanins in fruits of Aronia melanocarpa (chokelberry)// J. Food sci, 2003. - № 4. - P. 1214-1242.

214. Peirce, A. The Apha Practical Guide to Natural Medicines / A. Peirce. - New Jork: Wm. Morrow & Co., 1999. – 752 p.

215. Pharmacopoeia of the people's republic of China: vol.1. – Peoples medical publishing house, 2005. – 975 p.

216. 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.

217. 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 jornal. – 2013. – № 7(1). – Режим доступа: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3668991/.

218. Sampson, L. Flavonol and flavone intakes in US health professionals / Sampson, L., Rimm E., Hollman P.C., de Vries J.H., Katan M.B. // J. Am. Diet. Assoc. – 2002. - Vol. 102. – P. 1414-1420

219. 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.

220. Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates / K. M. Phillips et al. // Jornal of food composition and analysis. – 2010. – № 23. – P. 253 – 259.

221. 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.

222. Waksmundzka-Hajons M. The layer chromatography in phytochemistry / M. Waksmundzka-Hajons, J. Sherma, T. Kowalska. – CRC Press, 2008. – 896 p.

223. Weber, C. Antioxidant capacity and anticancer properties of red raspberry/Weber C., Hai Liu R. // ISHS Acta Horticulturae 585: VIII International Rubus and Ribes Symposium, 2002. – p. 46-48.

224. Wichl, M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: a handbook for practice on a scientific basis edition / M. Wichl. – New York: Health & Fitness, 2004. – 761 p.

225. Vaccinium myrtillus (Bilberry). - Alternative Medicine Review. – Vol. 6, N. 5. – 2001. – P. 500 – 504

226. Zafralla, Pilar. Effect of processing and storage on the antioxidant ellagic acid derivatives and flavonoids of red raspberry (Rubus idaeus) jams / Pilar Zafralla, Federico Rerreres, Francisco A. Tomas-Barberan // Jornal of agricultural and food chemistry. – 2001. – № 49. – P. 3651 – 3655.

227. Zushang, Su. Anthocyanins and Flavonoids of Vaccinium L. / Su Zushang // Pharmaceutical Crops. – 2012. – Vol. 3. – P. 7-37.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Инструкция по заготовке свежих и замороженных плодов лекарственных растений семейства Розоцветных.

В соответствии с Государственным реестром лекарственных средств РФ разрешено использование плодов в свежем виде. Срок хранения свежего сырья составляет не более 3-х суток и необходима его быстрая переработка сразу после сбора или консервация. Данная иснструкция распространяется на процесс заготовки свежих плодов лекарственных растений семейства Розоцветных (Rosaceae): аронии черноплодной, боярышника, рябины обыкновенной, шиповника, их консервацию замораживанием, упаковку и хранение с учетом содержания биологически активных веществ и требованиями существующей нормативной документации.

Ботаника-морфологическая характеристика лекарственных растений.

АРОНИЯ ЧЕРНОПЛОДНАЯ (рябина черноплодная) –
ARONIA MELANOCARPA (Michx) Elliot.

Арония черноплодная – листопадный кустарник. Корневая система мощная, поверхностная, мочковатая. Однолетние побеги красно-бурые, остальные темно-серые. Высотой растения достигают 3 м.

Листья очередные обратнояйцевидные или широкоовальные длиной до 8 см, шириной до 5 см, простые, цельные с пильчатым краем и перистым жилкованием. Цвет листьев зеленый, темно-зеленый (летом) и красный (осенью). Цветки собраны по 12-35 штук в плодные щитковидные соцветия; лепестков 5 белых или слегка розоватых.

Плоды яблокообразные, сочные шаровидные или слегка вытянутые, до 1,5 см в диаметре, голые, черные, блестящие, иногда с сизым налетом, реже темно-

красные, кисловато-сладкие, вяжущие. Цветет арония в мае-июне, плоды созревают в августе-сентябре.

Заготовка. Сбор плодов проводят в сентябре-первой половине октября. Плоды или щитки с плодами срывают руками или срезают секаторами, складывают в корзины или плодоовощные ящики и доставляют к месту переработки на автомашинах или рефрежераторами. Хранят плоды в прохладном месте не более 3 дней со дня сбора, а при температуре не выше 5 ºС -2 месяца.

Родина аронии - лесные районы Северной Америки. В России и странах СНГ широко культивируется почти во всех эколого-географических районах.

Химический состав. Плоды аронии содержат вещества с Р-витаминной активностью (флавоноиды – рутин, кверцетин), сахара, органические кислоты (яблочную, лимонную), аскорбиновую кислоту, каротин, рибофлавин, токоферолы, микроэлементы (железо, марганец и др.).

БОЯРЫШНИК КРОВЯНО-КРАСНЫЙ — CRATAEGUS SANGUINEA PALL.

БОЯРЫШНИК ДАУРСКИЙ — CRATAEGUS DAHURICA KOECHNE EX SCHNEID.

БОЯРЫШНИК КОРОЛЬКОВА (Б. АЛТАЙСКИЙ) —

CRATAEGUS KOROLKOWII L. HENRY (C. ALTAICA LANGE.)

и другие виды.

Боярышники — листопадные, реже полувечнозеленые деревья, высотой 5—7 (иногда 10—12) м или растущие кустообразно. Кора обычно серая, неравномерно растрескивающаяся. Крона яйцевидная или шаровидная; ветви крепкие, прямые, часто зигзагообразные, круглые. Молодые побеги вначале светло-зеленые, затем красные или бурые, блестящие; 2-годичные побеги серые, обычно покрытые белыми чечевичками. Для большинства видов характерны многочисленные

колючки — преобразовавшиеся укороченные побеги, развивающиеся из пазушных почек одновременно с листьями. Листья спирально расположенные, простые, часто на концах укороченных побегов скученные, по очертанию узко- или широкоэллиптические, яйцевидные, продолговатые, ромбические или округлые, цельные, лопастные, раздельные или рассеченные, цельнокрайние, зубчатые или пильчатые. Прилистники часто ланцетно-серповидные, рано опадают. Соцветия развиваются на концах укороченных побегов текущего года, сложные, щитковидные, редко простые, зонтиковидные, обычно многоцветковые. Цветок имеет 5 чашелистиков, венчик диаметром 1,0—2,5 см состоит из 5 белых лепестков. Плоды — яблочки, шаровидные, эллипсоидальные, яйцевидные, желтые, оранжевые, красные или черные, с 1—5 косточками; мякоть сухая, мучнистая или сочная, верхушки косточек обычно свободные, прикрытые лишь тонким слоем эпидермиса. Косточки округлые, трехгранные, с боков сжатые, килевидные, желтоватые или буроватые.

Боярышник кровяно-красный растет по разреженным лесам, опушкам, берегам рек в лесостепной, на северной окраине степной и в южной части лесной зоны Сибири и восточных районов Европейской части СНГ. Боярышник колючий в диком виде встречается только в Карпатах и Прибалтике, но часто культивируется в южных и западных районах Европейской части СНГ. Боярышник пятипестичный встречается почти во всех горно-степных и степных районах Кавказа, в Крыму, реже в других районах Украины. Боярышник даурский распространен в южной части Центральной Сибири, Приамурье, Приморье. Боярышник однопестичный широко распространен в Европе, исключая северные и приморские районы; на территории СНГ произрастает в Белоруссии, на Украине, включая горный Крым, и на Кавказе. Боярышник отогнуточашелистиковый, трактуемый как подвид боярышника чашечковидного, широко распространен в Европе, в СНГ растет на юге Белоруссии, в Украине и на Кавказе. Боярышник желтый и боярышник Королькова — два алтайско-среднеазиатских вида.

Заготовка. Зрелые плоды собирают в мешки или корзины. Срок сбора

плодов около месяца. Заготовка плодов не приводит к истощению зарослей, поэтому возможны ежегодные заготовки с одних и тех же кустов.

Химический состав. В плодах боярышников содержатся флавоноиды (гиперозид, кверцетин, витексин и др.), тритерпеновые сапонины, дубильные вещества, полисахариды, жирное масло, фенолкарбоновые кислоты (хлорогеновая, кофейная).

РЯБИНА ОБЫКНОВЕННАЯ — SORBUS AUCUPARIA L.

Дерево высотой до 4—6 м, реже кустарник. Кора серая, гладкая. Листья очередные, непарноперистые, с 4—7 парами листочков; листочки продолговатые или продолговато-ланцетные, в нижней части цельнокрайние, в верхней — пильчатые; верхняя сторона листьев матово-зеленая, нижняя — серо-зеленая. Соцветие — густая щитковидная метелка диаметром до 10 см. Цветки со своеобразным, горько-миндальным запахом, диаметром 8—15 мм; чашечка пятираздельная, шерстистая, зубцы ее по краям с железистыми ресничками, венчик свободнолепестный из пяти белых округлых лепесточков. Плод сочный, яркого оранжево-красного или желтовато-оранжевого цвета, диаметром 8— 10 мм, с 2—7 семенами.

Распространена в лесной и лесостепной зонах Европейской части СНГ, на Урале и в горно-лесном поясе Кавказа. Растет в подлеске хвойных и смешанных лесов, по лесным опушкам, прогалинам, вырубкам, в кустарниковых зарослях по берегам рек и озер. По всей Сибири и на север-востоке Европейской части СНГ широко распространена рябина сибирская Sorbus aucuparia L. var. sibirica (Hedl.) Kryl. (очень близкая разновидность рябины обыкновенной). Плоды ее используются наравне с плодами рябины обыкновенной.

Заготовка. Плоды собирают как с дикорастущих, так и с культивируемых растений осенью (в сентябре — октябре), обрывая щитки с плодами в период их полного созревания. С низких деревьев и кустов плоды обрывают руками, осторожно нагибая ветки. Для срезания щитков с более высоких деревьев

применяют веткорезы. При сборе плодов нельзя обламывать ветки.

Химический состав. Плоды рябины обыкновенной содержат аскорбиновую кислоту, каротиноиды, флавоноиды, витамин К, органические кислоты, пектиновые и горькие вещества и др. В семенах содержится жирное масло, гликозид амигдалин.

ШИПОВНИК МАЙСКИЙ (ШИПОВНИК КОРИЧНЫЙ) — ROSA MAJALIS HERRM. (ROSA CINNAMOMEA L.).

и другие виды.

Шиповник майский - колючий кустарник высотой 0,5—2 м. Ветви коричнево-красные, с немногочисленными небольшими, несколько загнутыми шипами, сидящими обычно по 2 у основания листьев: Листья непарноперистые, состоящие из 7—9 продолговато-эллиптических или яйцевидных, зубчатых листочков. Цветки одиночные или по 2—3. Чашелистиков 5, ланцетовидных, простых, остающихся и приподнимающихся кверху при созревании плодов. Венчик с пятью розовыми или темно-красными лепестками. Плоды (гипантии) шаровидные или яйцевидные, гладкие, голые, оранжевые или красные, мясистые; содержат многочисленные плодики (орешки).

Наряду с шиповником майским заготавливают плоды других видов шиповника *секции Cinnamomeae*: шиповника иглистого — R. acicularis Lindl. (растет по всей лесной зоне до Тихого океана), шиповника даурского—R. davurica Pall. (встречается в южной части Восточной Сибири и на Дальнем Востоке), шиповника Беггера — R. beggeriana Schrenk, шиповника Федченко — R. fedtschenkoana Regel.; шиповника кокандского — kokanica (Regel) Regel ex Juz.,

Из шиповников *секции Caninae* заготавливают плоды шиповника собачьего — R. canina L., шиповника войлочного— R. tomentosa Smith., шиповника щитконосного — R. corymbifera Borkh., шиповника мелкоцветкового — R. micrantha Smith., шиповника песколюбивого — R. psammophila Chrshan.,

шиповника зангезурского — R. zangezura P. Jarosch., а также плоды шиповника морщинистого — R. rugosa Thunb., относящегося к *секции Rugosae,* распространенных в лесостепных и степных районах центральных и южных областей России, Украины, Кавказа и Средней Азии.

Плоды шиповника секции *Caninae* отличаются более крупными размерами, темной (темно-красной или бордовой) окраской, расположением перистых чашелистиков, которые после цветения отгибаются вниз, прижимаются к плоду, а после созревания осыпаются и на их месте остается пятиугольный диск. У плодов шиповников секции *Cinnamomeae* чашелистики направлены вверх, иногда сомкнуты и сохраняются при созревании. При очистке плодов отламываются и на их месте остается круглое отверстие.

Шиповник майский распространен в Европейской части СНГ, на Урале и в Сибири. Растет по речным долинам, поймам, в зарослях кустарников, лесах, главным образом на опушках и полянах.

Заготовка. Основные районы заготовки плодов шиповника - Верхнее и Среднее Поволжье, Башкирия, Урал, северо-восточные области Европейской части СНГ, Сибирь, Дальний Восток, Восточный Казахстан. Заготовка производится в августе — сентябре, когда плоды принимают оранжево-красную или красную окраску. Сбор плодов должен быть завершен до заморозков.

Химический состав. Плоды шиповника содержат аскорбиновую кислоту, каротин, филлохинон, флавоноиды, рибофлавин, токоферолы, жирное масло, сахара, пектиновые вещества.

Заготовка плодов.

Зрелые плоды собирают как с дикорастущих, так и с культивируемых растений в сентябре-октябре, когда плоды принимают свойственную им окраску (период полной зрелости) до заморозков, в сухую погоду. Щитки с плодами (боярышник, арония, рябина обыкновенная) или отдельные плоды (шиповник) срезают секаторами и складывают в мешки, корзины, выстланные тканью или

эмалированные тазы и ведра. Нельзя обламывать и срезать ветки, так как это ведет к снижению урожайности в последующие годы. При соблюдении этого условия возможны ежегодные заготовки плодов на одной заросли. Плоды, собранные после заморозков, обычно оставляют в щитках, некоторое время выдерживают на холоде, а затем упаковывают в корзины емкостью до 50 кг. Такие плоды сохраняются в замороженном виде до 3 месяцев.

Первичная обработка.

Перед подготовкой плодов к консервации (замораживанию) или дальнейшему использованию проводят их сортировку: удаление попавших при сборе некондиционных плодов, плодоножек, чашелистиков, веточек, листочков и других примесей. Для этого собранные плоды раскладывают на подстилках из брезента, ткани и просматривают сырье: сортируют, удаляя плодоножки, посторонние примеси (веточки, листочки), недозрелые и испорченные плоды (мятые, поврежденные птицами).

Консервация плодов.

Свежие плоды должны быть доставлены к месту переработки в течение 3 дней со дня сбора. В это время плоды хранят в прохладном, защищенном от света месте. Свежие плоды, используемые для промышленной переработки, должны быть чистыми.

Для сохранения состава биологически активных веществ и фармакологических свойств свежие плоды подвергают консервации – замораживанию.

Хранение и Замораживание свежих плодов проводят путем ускоренного понижения температуры ниже криоскопической, которое сопровождается льдообразованием до достижения внутри плодов температуры минус 18 °С со средней скоростью не ниже 0,5 см/ч (скорость замораживания - отношение толщины замороженного слоя, см, ко времени, ч, в течение которого

он образовался). Ускоренное снижение температуры создает режим замораживания, обеспечивающий максимальное сохранение структуры плода и показателей качества.**упаковка замороженных плодов.**

Замороженные плоды упаковывают в полиэтиленовые пакеты (марка Н «пищевая») или в пакеты из полиамид-целлофана до 1,0кг и хранят при температуре не выше минус 18 ºС и относительной влажности воздуха не выше 95%. Срок хранения замороженных плодов не более 6 месяцев. Нельзя допускать оттаивания замороженных плодов в процессе хранения и транспортировки.

Стандартизация свежих и замороженных плодов.

Качество плодов регламентируется соответствующими НД (Фармакопейными статьями). Плоды должны удовлетворять требованиям ФС по разделу *«Внешние признаки»:* указывается тип плода, его форма, размеры, особенности строения околоплодника, характер поверхности, количество косточек (семян), их размеры и форма; цвет, запах и вкус.

Размеры (длина, толщина, поперечник плода) определяют с помощью измерительной линейки. Форму плода, характер поверхности определяют невооруженным глазом при дневном свете. Количество косточек или семян определяют после их отделения от мякоти при разламывании или надавливании. Запах определяют при разламывании или надавливании. Вкус определяют, пробуя кусочек плода или отвар плодов.

В свежих плодах определяют: содержание биологически активных веществ не менее; влажность не менее; зола общая не более; другие части растения, не являющиеся сырьем не более; недозрелые плоды не более; органическая примесь не более; минеральная примесь не более.

Пробоподготовка к анализу замороженных плодов.

Все исследования проводятся в размороженном сырье. Размораживание осуществляется в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53956-2010 «Плоды быстрозамороженные» в холодильной установке при температуре 6 – 8 ºС в течение 2,5 ч. Анализ размороженных плодов проводится аналогично свежим плодам.

Приложение 2.

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, обратнояйцевидной 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 собираю 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 ºС, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из гофрированного картона. Срок хранения свежезамороженных 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. Свежезамороженные плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше -18 ºС.

Сырье – плоды боярышника кроваво-красного свежие или свежезамороженные – 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. Мороженные плоды очень твердые. Запах плодов слабый. Вкус сладковатый.

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

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 – серовато-войлочный. 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 неотапливаемых 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 ºС, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из гофрированного картона. Срок хранения свежезамороженных 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. Свежезамороженные плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше -18 ºС.

Сырье – плоды малины обыкновенной свежие или свежезамороженные – 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. Мороженные плоды твердые. Запах плодов слабый. Вкус кисловато-сладкий.

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

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 ºС, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из гофрированного картона. Срок хранения свежезамороженных 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. Свежезамороженные плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше -18 ºС.

Сырье – плоды рябины обыкновенной свежие или свежезамороженные – 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, смерзшиеся.

Инструкция по заготовке и хранению свежих плодов шиповника коричного

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 коричного. 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 неотапливаемых 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 ºС, предварительно упаковав сырье в полиэтиленовые пакеты, пачки из ламинированного картона или ящики из

гофрированного картона. Срок хранения свежезамороженных плодов шиповника коричного – 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. Свежезамороженные плоды перевозят транспортными средствами, приспособленными для перевозки замороженных продуктов питания, при температуре не выше -18 ºС.

Сырье – плоды шиповника коричного свежие или свежезамороженные – 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. Мороженные 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, смерзшиеся.

Приложение 3.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Шиповника плоды **ФС**

Rosae fructus Взамен ГФ XI, вып. 2, ст. 74

Собранные осенью зрелые и высушенные плоды кустарников различных видов шиповника (розы) – Rosa, сем. Розоцветных – Rosaceae:

шиповника майского – R. majalis Herrm. (R. cinnamomea L.);

шиповника иглистого – R. acicularis Lindl.;

шиповника даурского – R. davurica Pall.;

шиповника Беггера – R. beggeriana Schrenk.;

шиповника Федченко – R. fedtschenkoana Rgl.;

шиповника собачьего – R. canina L.;

шиповника щитконосного – R. corymbifera Bork.;

шиповника мелкоцветкового – R. micrantha Smith.;

шиповника морщинистого – R. rugosa Thunb. и других видов розы, применяемые для приготовления лекарственных средств.

Подлинность

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Цельные, очищенные от чашелистиков и плодоножек ложные плоды разнообразной формы: от шаровидной, яйцевидной или овальной до сильно вытянутой веретеновидной; длиной плодов – 0,7-3 см, размером 0,6-1,7 см. На верхушке плода имеется небольшое круглое отверстие или пятиугольная площадка. Плоды состоят из разросшегося мясистого, при созревании сочного цветоложа (гипантия) и заключенных в его полости многочисленных плодиков – орешков. Стенки высушенных плодов твердые, хрупкие, наружная поверхность блестящая, реже матовая, более или менее

морщинистая. Внутри плоды обильно выстланы длинными, очень жесткими щетинистыми волосками. Орешки мелкие, продолговатые, со слабо выраженными гранями.

Цвет плодов от оранжево-красного до коричневато-красного, орешков – светло-желтый, иногда коричневатый. Запах отсутствует. Вкус кисловато-сладкий, слегка вяжущий.

Измельченное сырье. Кусочки гипантия различной формы, с одной стороны морщинистые, с другой – покрытые жесткими щетинистыми волосками. Цвет от оранжево-красного до коричневато-красного, красно-коричневого и красно-черного цвета. Мелкие, твердые, продолговатые орешки, слегка сдавленные с боков со слабо выраженными гранями, или их кусочки. Цвет светло-желтый или коричневато-желтый. Изредка встречаются части чашелистиков и плодоножек.

Цвет от серо-зеленого до коричневато-зеленого и темно-коричневого. Запах отсутствует. Вкус кисловато-сладкий, слегка вяжущий.

Порошок. Смесь частиц гипантия, орешков и изредка частей чашелистиков и плодоножек, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет гипантия от оранжево-красного до коричневого; орешков – от светло-желтого до оранжево-желтого, иногда коричневатого; чашелистиков и плодоножек – от серо-зеленого до коричневато-зеленого и коричневого. Запах отсутствует. Вкус кисловато-сладкий, слегка вяжущий.

Микроскопические признаки. *Цельное сырье.* При рассмотрении микропрепарата цельных плодов видны следующие диагностические элементы: обрывки наружного эпидермиса гипантия (плода) в виде светло-желтых пластов, состоящих из многоугольных клеток (рис.1.1) с прямыми неодинаково утолщенными (так называемого окончатого типа), местами четковидно-утолщенными стенками, редкими устьицами; фрагменты мякоти плода, состоящей из тонкостенных паренхимных клеток, содержащих оранжево-красные хромопласты с каротиноидами (рис.2.1) и многочисленными друзами оксалата (рис.3.1); фрагменты околоплодника орешка (4.1), состоящие их групп или

пластов, реже одиночных каменистых клеток с сильно утолщенными пористыми волосками; многочисленные крупные одноклеточные волоски (или их обломки) двух типов – очень крупные прямые с толстыми стенками и узкой полостью и более мелкие, слегка извилистые с широкой полостью (рис.3.2); обрывки проводящих пучков со спиральными сосудами (рис.2.2).

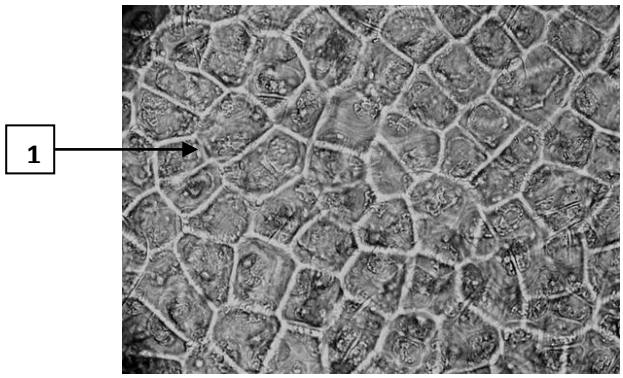


Рис. 1. Гипантий плодов шиповника с поверхности: 1 – клетки наружного эпидермиса (ув. х200);

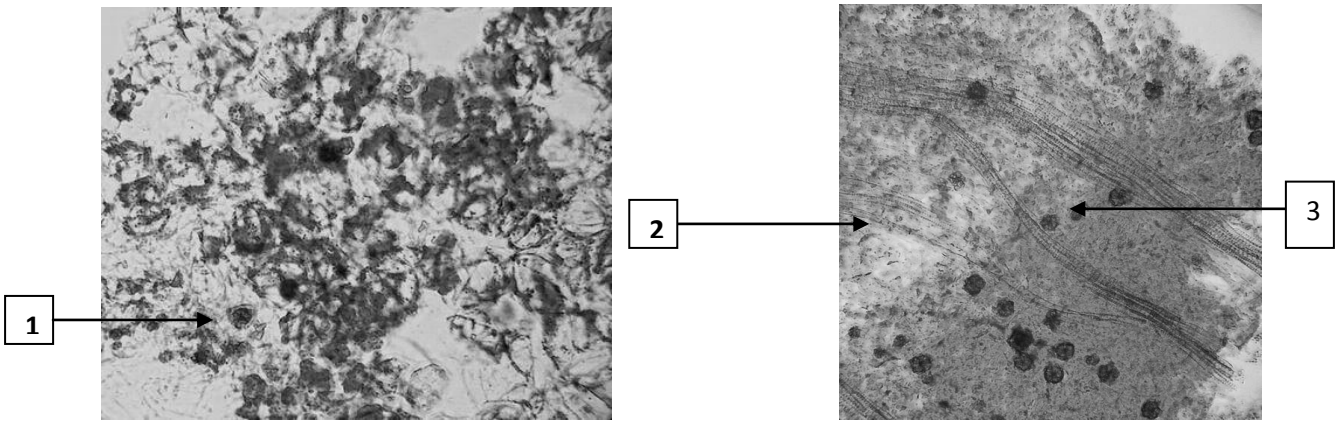


Рис. 2. Паренхима гипантия (давленный препарат): 1 - клетки паренхимы с глыбками каротиноидов; 2 - обрывки проводящих пучков; 3- друзы кальция оксалата (ув. х200);

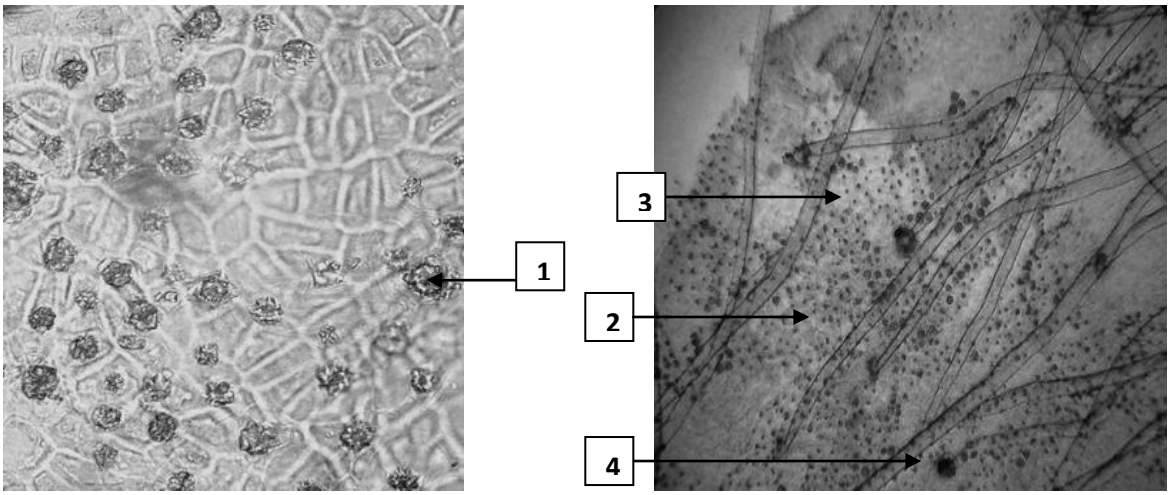


Рис. 3. Внутренний эпидермис гипантия с поверхности: 1 – клетки мезофилла с друзами; 2 – простые волоски; 3 – места прикрепления простых волосков; 4 – просвечивающиеся друзы оксалата кальция (ув. х 100).

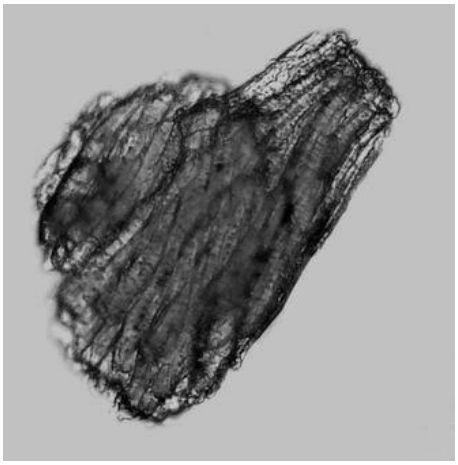


Рис. 4. Фрагмент околоплодника орешка (ув. х200): 1 – каменистые клетки.

Измельченное сырье. При рассмотрении микропрепарата измельченных плодов видны фрагменты наружного эпидермиса гипантия в виде светло-желтых пластов (рис.1), состоящие из многоугольных клеток с прямыми, неодинаково утолщенными стенками 9окончатый тип) и редкими устьицами; обрывки мякоти гипантия из тонкостенных паренхимных клеток, содержащие оранжево-красные хромопласты и многочисленные друзы оксалата кальция (рис.2), многочисленные крупные одноклеточные волоски (или их обломки) двух типов: очень крупные прямые с толстыми стенками и узкой полостью и мелкие извилистые с широкой полостью (рис.3); обрывки проводящих пучков со спиральными сосудами

(рис.2.2). Кроме того, видны фрагменты околоплодника орешка, состоящие из групп или пластов, реже одиночных каменистых клеток с сильно утолщенными пористыми оболочками (Рис. 4).

Порошок. При рассмотрении препарата порошка плодов видны фрагменты наружного эпидермиса гипантия в виде светло-желтых пластов, состоящие из многоугольных клеток (окончатый тип) с прямыми, неодинаково утолщенными стенками (рис5.1). Также встречаются обрывки мякоти гипантия, состоящие из тонкостенных паренхимных клеток, содержащих оранжево-красные хромопласты и многочисленные друзы оксалата кальция (рис.5.3). Обнаруживаются многочисленные крупные одноклеточные волоски (рис.5.5), обрывки проводящих пучков со спиральными сосудами (рис 5.6). Кроме того, в препаратах порошка видны фрагменты околоплодника орешка с каменистыми клетками (рис 5.4).

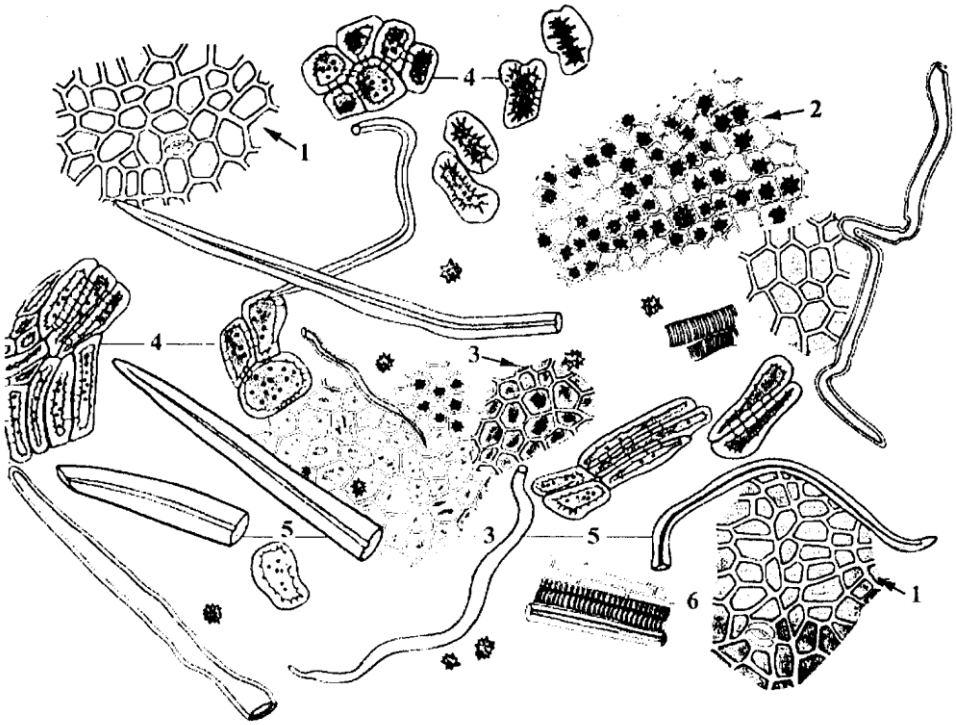


Рис. 5. Элементы порошка плода (ув. x 400)

1 – эпидермис, 2 – ткань мякоти с друзами оксалата кальция,

3 – ткань мякоти с каротином и друзами оксалата кальция,

4 – каменистые клетки орешка, 5 – простые волоски,

6 – элементы проводящих пучков.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов.

Раствор РСО кислоты аскорбиновой. Около 0,012 г (точная навеска) кислоты аскорбиновой (ФС 42-2668-95), высушенной до постоянной массы при температуре от 100 до 105°С, помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в 50 мл 0,1% раствора натрия метабисульфита, доводят объем раствора тем же раствором до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3-5 ч.

Раствор натрия метабисульфита. 0,3 г натрия метабисульфита (ГФ X, стр. 894) помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 300 мл воды, перемешивают до полного растворения. Раствор используют свежеприготовленный.

Раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия: 0,22 г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия растворяют в 500 мл свежепрокипяченной и охлажденной воды при энергичном взбалтывании (для растворения навески раствор оставляют на ночь). Раствор фильтруют в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки. Срок годности раствора не более 7 суток при условии хранении в холодном, темном месте.

В колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 г измельченного сырья с размером частиц, проходящих через сито 3 мм, прибавляют 10 мл воды и настаивают в течение 1-2 часов при комнатной температуре. Извлечение фильтруют. На линию старта пластины «Сорбфил» ПТСХ- ПА 100 × 150 мм микропипеткой наносят 0,02 мл водного извлечения и одновременно 0,003 мл рабочего стандартного образца (РСО) аскорбиновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру со смесью растворителей этилацетат: ледяная уксусная кислота (80:20), затем хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт растворителей проходит около 10 см пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 мин и обрабатывают 0,04% раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия. На хроматограмме обнаруживается белое пятно на розовом фоне пластинки на уровне пятна РСО аскорбиновой кислоты с величиной Rf около 0,60.

Испытания

Влажность. *Цельное сырье* - не более 15 %. *Измельченное сырье* - не более 15 %. *Порошок* - не более 15 %.

Зола общая. *Цельное сырье* - не более 7 %. *Измельченное сырье* - не более 7 %. *Порошок* - не более 7 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* - не более 3 %. *Измельченное сырье* - не более 3 %. *Порошок* - не более 3 %.

Измельченность. *Цельное сырье* - измельченных частиц плодов, в том числе орешков, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, не более 3%. *Измельченное сырье* - частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм, не более 6%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,2 мм, не более 1%. *Порошок* - частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, не более 8%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,2 мм, не более 3%.

Посторонние примеси

Другие части шиповника (кусочки веточек, чашелистиков и плодоножек). *Цельное сырье* - не более 2 %.

Части гипантия. *Цельное сырье* - не более 20%;

Плоды почерневшие, пригоревшие, поврежденные вредителями и болезнями. *Цельное сырье* - не более 1 %.

Органическая примесь (посторонних плодов и веточек). *Цельное сырье* - не более 0,5 %. *Измельченное сырье* - не более 0,5 %.

Минеральная примесь. *Цельное сырье* - не более 0,5 %. *Измельченное сырье* - не более 0,5%.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное сырье.* Аскорбиновой кислоты не менее 0,2%. *Измельченное сырье.* Аскорбиновой кислоты не менее 0,2%. *Порошок.* Аскорбиновой кислоты не менее 0,2%

Приготовление растворов.

Раствор 2,6-дихлорфенолиндигофенолята натрия готовят по методике, указанной в разделе «Качественный анализ».

Установка титра. Несколько кристаллов (3-5) аскорбиновой кислоты растворяют в 50 мл 2% раствора серной кислоты; 5 мл полученного раствора титруют из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндигофенолята натрия до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 1-2 мин.

Другие 5 мл этого же раствора аскорбиновой кислоты титруют раствором калия йодата (0,001 моль/л) в присутствии нескольких кристаллов (около 2 мг) калия йодида и 2-3 капель раствора крахмала до появления голубого окрашивания. Поправочный коэффициент вычисляют по формуле:

$$K = \frac{V}{V_1}$$

где V- объем раствора калия йодата (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, в мл; V_1-объем раствора 2,6-дихлорфенолиндигофенолята натрия, пошедшего на титрование, в мл.

Из грубо измельченной аналитической пробы плодов берут навеску массой около 20 г (точная навеска), помещают в фарфоровую ступку, тщательно растирают со стеклянным порошком (около 5 г), постепенно добавляя 300 мл воды, и настаивают 10 мин. Затем смесь размешивают и извлечение фильтруют. В коническую колбу вместимостью 100 мл вносят 1 мл полученного фильтрата, 1 мл 2% раствора хлористоводородной кислоты, 13 мл воды, перемешивают и титруют из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л) до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30-60 с. Титрование продолжают не более 2 мин. В случае интенсивного окрашивания фильтрата или высокого содержания в нем аскорбиновой кислоты (расход 2,6-дихлорфенолиндигофенолята натрия (0,001моль/л) более 2 мл), обнаруженного пробным титрованием, исходное извлечение разбавляют водой в 2 раза или более.

Содержание аскорбиновой кислоты в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$\mathbf{X} = \frac{\mathbf{V \cdot 0{,}000088 \cdot K \cdot 300 \cdot 100 \cdot 100}}{\boldsymbol{m} \cdot \mathbf{1} \cdot (\mathbf{100} - \boldsymbol{W})},$$

где 0,000088 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), в граммах;

V - объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах;

m – масса сырья в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах;

К – поправочный коэффициент.

Допускается содержание аскорбиновой кислоты определять по следующей методике:

Из грубо измельченной аналитической пробы плодов берут навеску массой около 20 г (точная навеска), помещают в фарфоровую ступку, тщательно растирают со стеклянным порошком (около 5 г), постепенно добавляя 50 мл воды. Полученную смесь количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Около 50 мл извлечения фильтруют, отбрасывая первые 10 мл фильтрата. Отбирают 5 мл полученного фильтрата и переносят в колбу для титрования, прибавляют 1 мл 2% раствора хлористоводородной кислоты, 10 мл воды, 0,5 мл 1% раствора калия йодида, 2-3 капли раствора крахмала и титруют 0,001 моль/л раствором калия йодата до появления голубого окрашивания, не исчезающего в течение 30 с. Параллельно проводят контрольный опыт.

Содержание аскорбиновой кислоты в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$\boldsymbol{X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}000528 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 5 \cdot (100 - W)}},$$

где 0,000528 – количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 моль/л раствора калия йодата в граммах;

V – объем 0,001 моль/л раствора калия йодата, пошедшего на титрование, в миллилитрах;

V_1 - объем 0,001 моль/л раствора калия йодата, пошедшего на титрование в контрольном опыте, в миллилитрах;

m – масса сырья в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Испытания для сырья, используемого

для изготовления холосаса, каротолина и сиропов:

Влажность. *Цельное сырье* - не более 15 %.

Зола общая. *Цельное сырье* - не более 7 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* - не более 3 %.

Посторонние примеси

Другие части шиповника (кусочки веточек, чашелистиков и плодоножек). *Цельное сырье* - не более 2 %.

Плоды почерневшие, пригоревшие, поврежденные вредителями и болезнями. *Цельное сырье* - не более 1 %.

Органическая примесь (посторонних плодов и веточек). *Цельное сырье* - не более 0,5 %.

Минеральная примесь. *Цельное сырье - не более 0,5 %.*

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное сырье.* Органических кислот не менее 2,6%.

Приготовление растворов.

Раствор гидроксида натрия 0,1 моль/л. Около 2 г гидроксида натрия (точная навеска) растворяют в воде очищенной и доводят до метки в колбе вместимостью 500 мл.

Определяют точную концентрацию раствора гидроксида натрия. 10 мл раствора гидроксида натрия переносят в коническую колбу вместимостью 50 мл, добавляют 2-3 капли метилового оранжевого, перемешивают и титруют раствором хлористоводородной кислоты, приготовленный из фиксанала (концентрация 0,1 моль/л). Концентрацию раствора гидроксида натрия рассчитывают по формуле:

$$c_{NaOH} = \frac{V_{HCl} \cdot c_{HCl}}{V_{NaOH}}$$

Расчет титра раствора гидроксида натрия (0,1 моль/л) по яблочной кислоте проводят по формуле:

$$T = \frac{0{,}0067 \cdot c_{NaOH}}{0{,}1},$$

где 0,0067 - количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натра едкого (0,1 моль/л), в граммах;

c_{NaOH} –действительная концентрация раствора гидроксида натрия, моль/л;

0,1- концентрация раствора хлористоводородной кислоты, моль/л

Поправочный коэффициент K, рассчитывают по фомуле:

$$K = \frac{T}{0{,}0067},$$

где Т- титр раствора гидроксида натрия (0,1 моль/л) по яблочной кислоте

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 25 г (точная навеска) измельченных плодов шиповника помещают в колбу вместимостью 250 мл, заливают 200 мл воды и выдерживают в течение 2 ч на кипящей водяной бане, затем охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем извлечения водой до метки и перемешивают (раствор А).

Отбирают 10 мл извлечения, помещают в колбу вместимостью 250 мл (раствор Б), доводят до метки свежепрокипяченной водой, переносят в коническую колбу вместимостью 500 мл, добавляют 1 мл 1% спиртового раствора фенолфталеина, 2 мл 0,1% раствора метиленового синего и титруют раствором натрия гидроксида (0,1 моль/л) до появления в пене лилово - красной окраски.

Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$\boldsymbol{X = \frac{V \cdot 0{,}0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)}},$$

где 0,0067 - количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л), в граммах;

V - объем раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах;

m - масса сырья в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Допускается определять содержание органических кислот потенциометрически:

25 мл раствора Б переносят пипеткой в химический стакан. В раствор погружают стеклянный (индикаторный) и хлорсеребряный (сравнения) электроды, термокомпенсатор, подключенные к иономеру и титруют раствором натрия гидроксида (0,1 моль/л) с помощью микробюретки, прибавляя по 0,5 мл. Фиксируют значения pH после установления равновесия. По полученным результатам строят кривые титрования pH = f (V_{NaOH}). Эквивалентный объем, пошедший на титрование определяют по дифференциальным кривым титрования, построенным в координатах dE/dV=f(V_{NaOH}).

Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0{,}0067 \cdot K \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{V_a \cdot m \cdot (100 - W)},$$

где 0,0067 - количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л), в граммах;

К – поправочный коэффициент;

V - объем раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах;

m - масса сырья в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Приложение 4.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Плоды замороженные	**ОФС-**
Fructus congelatus	**вводится впервые**

Плодами в фармацевтической практике называют плоды различных морфологических типов, отдельные плодики, соплодия и их части. Настоящая фармакопейная статья распространяется на зрелые замороженные плоды.

Внешние признаки. *Цельные плоды.* Плоды исследуют после предварительного размораживания в холодильной установке при температуре 6 – 8 ºС в течение 2 ч, рассматривая их невооруженным глазом при дневном свете, с помощью лупы (10×) или стереомикроскопа (8×,16×,24×).

Плод состоит (сочные плоды) из сочного околоплодника и заключенных в него семян. Иногда (шиповник) плод образован разросшимся гипантием, с включенными в него плодики-орешки. Диагностическое значение имеют:

- Тип плода – ягода, яблоко, костянка, многокостянка, тыквина, цинародий;

- Тип околоплодника – сочный;

- Форма околоплодника – яйцевидная, шаровидная, продолговатая, сплюснутая, со слабо выступающими продольными ребрами;

- Размеры плодов (длина, толщина, поперечник плода) определяют с помощью измерительной линейки;

- Характер поверхности околоплодника – гладкая, блестящая, матовая

- Количество косточек, семян, их форма, характер поверхности и цвет определяют после их отделения от мякоти при разламывании или надавливании при дневном свете;

- Цвет околоплодника определяют при дневном свете.

- Запах определяют при разламывании или надавливании.

- Вкус определяют, пробуя кусочек плода или отвар плодов (только у неядовитых объектов).

Микроскопия. *Цельные плоды.* При изготовлении микропрепаратов из замороженных плодов их помещают в смесь спирта, воды и глицерина (1:1:1) на трое суток. Для определения подлинности готовят микропрепарат эпидермиса с поверхности, «давленные препараты» (препараты мякоти плода), поперечные или продольные срезы косточек или семян.

Диагностическое значение имеет строение околоплодника. В околоплоднике различают три слоя: наружный – экзокарпий (эпидермис), средний – мезокарпий, внутренний – мезокарпий. Выделяют следующие анатомо-диагностические признаки:

- *Характер кутикулы*;
- *Форма клеток эпидермиса* (гипантия, плода, семени);
- *Характеристика стенок клеток эпидермиса* (извилистость, утолщенность);
- *Наличие устьиц* на эпидермисе и их форма, размеры; тип устьичного аппарата, количество околоустьичных клеток;
- *Наличие и характеристика трихом* - волосков, их размеры, особенности мест их присоединения;
- *Наличие секреторных образований* (каналы, млечники, вместилища);
- *Наличие и характер идиобластов* (слизи, каротиноиды, кристаллы и

др.), их размеры;

- *Характеристика паренхимы* мезокарпия (форма и размер клеток, однородность);
- *Характеристика проводящей системы* (расположение и строение проводящих пучков);
- *Наличие механической ткани* (каменистые клетки, склеренхимные волокна);
- *Наличие и характеристика запасного вещества*;

При микроскопическом анализе семян анатомо-диагностическое значение имеют структура семенной кожуры, характер и структура эндосперма, форма и строение зародыша, запасные питательные вещества, кристаллы, их размеры.

Пробоподготовка к анализу замороженных плодов. Все исследования проводятся в размороженном сырье (условия размораживания см. выше). Анализ замороженных плодов проводится аналогично высушенным плодам.

Качественные реакции проводят с извлечением из плодов. Методики проведения реакций на обнаружение дубильных веществ, флавоноидов, антраценопроизводных и др. описаны в фармакопейных статьях на конкретные плоды.

Хроматография. Проводят анализ извлечений с помощью различных хроматографических методик с использованием стандартных образцов. Чаще всего хроматографически в извлечениях из плодов определяют витамины, флавоноиды, включая антоцианы, фенолкарбоновые, органические кислоты и др.

Спектр (УФ-спектр). Анализ проводят с извлечением из плодов при наличии соответствующих указаний в фармакопейной статье. Допускается ссылка на раздел «Количественное определение». Приводят описание условий снятия спектра, указываются длины волн, при которых должны наблюдаться максимум(ы) поглощения.

Числовые показатели определяют в цельных плодах:

- содержание биологически активных веществ не менее;

- содержание экстрактивных веществ, извлекаемых определенным для конкретного вида плодов экстрагентом не менее;

Методы определения указаны в соответствующих общих фармакопейных статьях и фармакопейных статьях на лекарственное растительное сырье;

- влажность не менее, в соответствии с требованиями ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья»;

- содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте не более, в соответствии с требованиями ОФС «Зола общая» и ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»;

- содержание примесей - другие части растения, не являющиеся сырьем не более; недозрелые плоды не более; органическая примесь не более; минеральная примесь не более - в соответствии с требованиями ОФС «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье».

Количественное определение. Содержание действующих веществ (индивидуальных веществ или суммы веществ в пересчете на индивидуальное) проводят различными химическими, физико-химическими или другими методами анализа. Возможно определение экстрактивных веществ, извлекаемых определенным для конкретного вида сырья экстрагентом. Методы определения указаны в фармакопейных статьях на лекарственное растительное сырье.

Микробиологическая чистота. Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС 42-0067-07 (ст. 32 ГФ XII) «Микробиологическая чистота».

Содержание радионуклидов, тяжелых металлов и пестицидов. Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС ГФ XII, ч.1 «Тяжелые

металлы», ОФС 42-0011-03 «Определение радионуклидов в лекарственном растительном сырье».

Упаковка. В соответствии с требованиями ГОСТ Р 53956-2010 «Плоды быстрозамороженные». Замороженные плоды упаковывают в полиэтиленовые пакеты (марка Н «пищевая»), пакеты из ламинированного картона или в пакеты из полиамид-целлофана массой до 1,0 кг.

Маркировка. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортировка лекарственного растительного сырья. Маркировка вторичной упаковки должна включать указание «Продукция прошла радиационный контроль».

Транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья» и ГОСТ Р 53956-2010 «Плоды быстрозамороженные». Нельзя допускать оттаивания замороженных плодов в процессе транспортировки.

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и ГОСТ Р 53956-2010 «Плоды быстрозамороженные». В сухом, защищенном от света месте. Хранение при температуре не выше минус 18 ºС и относительной влажности воздуха не выше 95%.

Срок годности. Срок годности должен быть подтвержден фактическими данными определения стабильности по всем показателям качества в каждом из предлагаемых видов упаковки. Срок хранения замороженных плодов не более 6 месяцев. Нельзя допускать оттаивания замороженных плодов в процессе хранения.