

ИБАЕВА ХАДИЖАТ АЛЬВИЕВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОДОВ ЧЕРНИКИ
КАВКАЗСКОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

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

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, доцент **Шамилов Арнольд Алексеевич**

Официальные оппоненты:

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

Браславский Валерий Борисович – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, доцент кафедры.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь.

Защита диссертации состоится «__» _____ 2026 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Производство лекарственных растительных препаратов (ЛРП) на территории Российской Федерации, на основе сырья российского происхождения является важной задачей в виду сложных экономических условий, а именно необходимости импортозамещения и расчетов в российской валюте (Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2030 года). Данная задача соответствует одному из больших вызовов Российской Федерации. Согласно указу Президента Российской Федерации «О стратегии научно-технологического развития Российской Федерации» № 642 от 01 декабря 2016 г. существует потребность в продовольственной независимости России, конкурентоспособности отечественной продукции. Поэтому актуально изучение нового лекарственного растительного сырья (ЛРС), которое возможно получать от дикорастущих и культивируемых растений на территории России и использовать как дополнительный источник к используемым в фармацевтической и медицинской практике видам ЛРС.

Данные маркетинговых агентств DSM group (База данных аналитической компании, дата обращения 20.06.25 г) и ALPHA RM (База данных аналитической компании, дата обращения 18.06.25 г) в разрезе количественных индикаторов за период с 2020 по 2024 годы свидетельствуют, что на национальном фармацевтическом рынке РФ представлено 262 SKU (Stock Keeping Unit – единица одной товарной группы) на основе черники в различных категориях товаров аптечного ассортимента, включая биологически активные добавки (БАДы), парфюмерно-косметические средства и лекарственные препараты. Важно подчеркнуть, что консолидированный объем продаж позиций, разработанных на основе черники, за последние 5 лет в натуральных величинах превышает порог 12,5 миллионов упаковок, в стоимостных – достигает 3 миллиардов рублей. Стабильный уровень реализованного спроса предполагает наличие достаточной воспроизводимой сырьевой базы исходного растительного объекта, что, в свою очередь, актуализирует вопросы поиска доступных аналогов сырья черники обыкновенной.

В качестве перспективного источника, содержащего богатый комплекс биологически активных соединений (БАС), могут рассматриваться плоды черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.) – кавказского представителя из семейства вересковые (*Vaccinium*). В Государственную Фармакопею XV издания (ГФ РФ XV изд.) вошли побеги черники обыкновенной, известные антидиабетическим действием, в ГФ РФ XIV изд. плоды черники обыкновенной стандартизируются по содержанию суммы антоцианов (В.А. Куркин, Т.К. Рязанова). Черника кавказская - крупный кустарник, достигающий 3-х метров высоты, черника обыкновенная отличается меньшими размерами (куст высотой до 50 см). Имеются научные сведения о природных запасах черники кавказской на территории Кавказа. При этом в доступной литературе недостаточно сведений о химическом составе сырья черники кавказской. Сведений о фармакологической активности значительно больше, так как растение активно используется в традиционной медицине Ирана и Турции. При установлении схожего химического состава и фармакологической активности сырья двух видов черник появляется перспектива разработки единого проекта фармакопейной статьи, а чернику кавказскую следует рассматривать как дополнительный источник к фармакопейному виду ЛРС – чернике обыкновенной.

Степень разработанности темы исследования

Исследования химического состава черники кавказской проводились преимущественно для плодов, в которых обнаружены антоцианы (Nickvar B. И др., 2004 г.), флавоноиды (Ravan A.P. и др., 2017 г.; Mohtashami R. и др., 2019), фенилпропаноиды (Ayaz F.A. и др., 2005 г.), полисахариды (Jooyandeh H. и др., 2018 г.), жирные и органические кислоты (Таланов А.А., 2013

г.). Проводились клинические испытания с водно-спиртовыми извлечениями из плодов на наличие гипополидемической (Kianbakht S. и др., 2014 г.), антидиабетической (Mohtashami R. и др., 2019 г.), антигипертензивной (Kianbakht S. и др., 2013 г.) активности. В других исследованиях ученые синтезировали наночастицы различных металлов с экстрактами из плодов черники кавказской и обнаружили антибактериальную и гипохолестеринемическую активность (Bayrami A. и др., 2018; Khodadadi S. и др., 2021 г.). Извлечения из плодов черники кавказской обладают низкой токсичностью, не обнаружено системных побочных эффектов на организм человека (Mirfeizi M. и др., 2015 г.). Исследования химического состава и фармакологической активности проводились учеными Ближнего Востока (Salehi Nowbandegani A. и др., 2015 г., Varut B. и др., 2019 г.). В России проводили исследования биоэкологических особенностей черники кавказской, определяли ее биологические запасы, а также была дана оценка урожайности данного растения (Фидарова А.Ч., 2006 г.).

В связи с вышеизложенным, результаты комплексного фармакогностического исследования плодов черники кавказской позволят впоследствии рассматривать их как дополнительный источник к фармакопейному виду ЛРС – черники обыкновенной плодам.

Цель и задачи исследования

Целью диссертационной работы является научное обоснование перспектив использования плодов черники кавказской на ряду с фармакопейным видом ЛРС «Черники обыкновенной плоды» (на основе комплексного фармакогностического исследования).

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- Провести сравнительный анализ литературных данных о состоянии изученности химического состава и видов фармакологической активности плодов черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.) и черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.);
- Осуществить сбор образцов плодов черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.) из различных мест произрастания на Северном Кавказе, в период массового созревания плодов, с последующим установлением оптимальных условий сушки сырья;
- Провести сравнительное фитохимическое исследование основных групп биологически активных соединений (БАС) плодов черники кавказской и черники обыкновенной (фенольных соединений, в том числе антоцианов, а также полисахаридов, жирных и органических кислот, дубильных веществ, аминокислот, макро- и микроэлементов);
- Установить показатели подлинности плодов черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.), в том числе внешние и микроскопические признаки, а также основных групп биологически активных веществ (методом ТСХ); сравнить с фармакопейным сырьем – черникой обыкновенной плодами (*Vaccinium myrtillus* L.);
- Определить показатели качества плодов черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.);
- Разработать методику количественного определения суммы антоцианов в плодах черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.);
- Провести сравнительную оценку выявленных видов фармакологической активности экстрактов, полученных из плодов черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.) и черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.);
- Разработать проект фармакопейной статьи (ФС) на перспективный вид ЛРС «Черники кавказской плоды».

Научная новизна

Впервые проведено морфолого-анатомическое изучение плодов черники кавказской в сравнении с плодами черники обыкновенной. Установлено, что плоды черники кавказской имеют большие размеры всех диагностических признаков, при этом к отличительным можно отнести большее количество и размер друз оксалата кальция в паренхиме. Друзы в виде обкладки вдоль проводящих пучков более мелкие.

Впервые проведен сравнительный анализ плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной методом петиолярной анатомии (ребристая структура в поперечном сечении, наличие одноклеточных или двухклеточных волосков, развитый до трех слоев колленхимный слой, сильно пигментированный гиподермальный слой и наличие вторичных проводящих элементов в виде небольшого пучка в коровой части).

Впервые проведено комплексное фитохимическое исследование различных групп биологически активных соединений (БАС) плодов черники кавказской в сравнении с образцом плодов черники обыкновенной методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (фенольные соединения плодов черники кавказской содержат 15 компонентов, среди которых пять – фенолпропаноиды – производные кофеилхинной и ферулоилхинной кислот, десять – флавоноиды – производные мирисетина, кверцетина и кемпферола).

Впервые методом ВЭЖХ установлен антоциановый профиль, при этом основными компонентами по содержанию являются агликон цианидин, гликозид – цианидин-3-глюкозид.

Впервые методом газовой хроматографии (ГХ) с масс-спектрометрическим (МС) детектором определен профиль жирных кислот плодов черники кавказской (с преобладанием насыщенной пальмитиновой кислоты, а также ненасыщенных линолевой, линоленовой и олеиновой кислот). Профиль органических кислот плодов черники кавказской характеризовался большей долей лимонной, левулиновой, транс,транс-2,4-гептадиеновой кислот. Мажорными жирными кислотами по содержанию для плодов черники обыкновенной являются пальмитиновая, линолевая, линоленовая, олеиновая и миристиновая кислоты, среди органических кислот доминировали - лимонная, левулиновая, транс,транс-2,4-гептадиеновая и яблочная.

Методом ВЭЖХ впервые показано, что преобладающими среди аминокислот черники кавказской являются глутаминовая кислота, аргинин, аспарагиновая кислота, лейцин, глицин и валин; у черники обыкновенной - глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аргинин, глицин, лейцин и пролин. В отличие от черники кавказской в чернике обыкновенной замечены следы цистина.

Впервые выделены и количественно определены две фракции полисахаридов: водорастворимые полисахариды (ВРПС) и пектиновые вещества (ПВ). Методом ВЭЖХ определен моносахаридный состав полученных фракций (основными по количественному содержанию в ВРПС являются галактоза и арабиноза, в ПВ – галактуроновая кислота и галактоза), а также определены их физико-химические показатели (средняя молекулярная масса, коэффициент распределения, изоэлектрическая точка, поверхностная активность).

Впервые проведен сравнительный анализ минерального состава плодов и золы двух видов черники. Наибольшее содержание отмечено для калия, фосфора, кальция, марганца, бария и рубидия. Установлены особенности накопления определенных элементов в плодах, что связано, в том числе, с принадлежностью к семейству вересковые.

На основании проведенного фитохимического анализа впервые для черники кавказской плодов установлены нормы качества (влажность – не более 13%; зола общая – не более 3%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; экстрактивных веществ,

извлекаемых спиртом этиловым 70% – не менее 33%; посторонние примеси: другие части растения – не более 0,25%; плоды недозревшие, твердые или пригоревшие – не более 1%; органическая примесь – не более 2% и минеральная примесь – не более 0,3%). Разработаны методики определения основных групп биологически активных веществ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) с определением маркерного компонента цианидин-3-глюкозида и количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид (не менее 0,5%). Установлены оптимальные режимы сушки черники кавказской плодов: воздушно-теневым способом или в конвективном режиме при 40°C и срок их годности 2 года. Вышеперечисленные нормы качества вошли в проект фармакопейной статьи «Черники кавказской плоды».

Впервые обнаружено, что плоды черники кавказской могут предотвращать развитие глаукомы путем нейропротекторного действия и активации антиоксидантной системы в тканях головного мозга. Кроме того, проведена оценка антидиабетической активности водно-спиртового извлечения из воздушно-сухих плодов черники кавказской с оценкой влияния на диурез животных и концентрацию глюкозы в крови и моче.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного сравнительного комплексного фармакогностического и фармакологического исследования двух видов черник (черники обыкновенной и черники кавказской) выявлена перспектива дальнейшего внедрения плодов черники кавказской в медицинскую практику в качестве эффективного растительного источника, используемого при сахарном диабете 2-го типа и глаукоме. Полученные экспериментальные данные способствуют расширению сырьевой базы для заготовки плодов черники (т.к. в работе показано, что плоды черники кавказской могут служить дополнительным источником к фармакопейному виду ЛРС – чернике обыкновенной плодам) и номенклатуры эффективных отечественных лекарственных препаратов.

Получены новые сведения при определении компонентного состава флавоноидов, фенилпропаноидов, антоцианов, жирных и органических кислот, моносахаридов, элементного и аминокислотного состава, а также установлены показатели подлинности и нормы качества плодов черники кавказской. На основе проведенных исследований разработан проект фармакопейной статьи «Черники кавказской плоды».

Методология и методы исследования

Методологией исследования плодов черники кавказской является: поиск, анализ и обобщение данных литературы о степени изученности черники кавказской, содержащих богатый комплекс БАС (фенольные соединения, полисахариды, аминокислоты, органические кислоты, макро- и микроэлементы); полнота изученности химического состава и фармакологических свойств ЛРС; разработка нормативной документации на основе установленных показателей; обобщение полученных результатов в виде выводов, определяющих теоретическое и практическое значение диссертационной работы.

В диссертационной работе применяли современные физические и физико-химические методы анализа в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV и XV изд., в том числе световую микроскопию, гравиметрию, различные виды хроматографии, спектрофотометрию, масс-спектрометрию с индуктивно-связанной плазмой, а также методики и модели фармакологических испытаний и методы статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту

- результаты сравнительного фитохимического исследования различных групп биологически активных веществ плодов черники кавказской и черники обыкновенной;

- результаты оценки подлинности плодов черники кавказской: внешние и микроскопические признаки, методика определения основных групп биологически активных веществ с ее валидационной оценкой;
- результаты определения норм качества плодов черники кавказской, разработки методики количественного определения суммы антоцианов с ее валидационной оценкой;
- результаты определения условий сушки и сроков годности плодов черники кавказской;
- результаты оценки фармакологической активности экстрактов, полученных из плодов черники кавказской;
- результаты разработки нормативного документа на новый перспективный вид ЛРС «Черники кавказской плоды».

Степень достоверности

Достоверность полученных результатов диссертационного исследования, сформулированные выводы, практические рекомендации подтверждаются достаточным объемом выполненных исследований, которые проводили на поверенном сертифицированном оборудовании с использованием реагентов и стандартных образцов соответствующей степени чистоты в необходимом количестве повторов. Разработанные методики валидированы, полученные числовые данные статистически обработаны. Проработан значительный объем литературных источников, в том числе на иностранных языках.

Личный вклад автора

Автор диссертации участвовал в выборе темы, формулировании цели и задач исследования, собрал и провел обзор литературных данных и проанализировал их. Автором самостоятельно проведен весь объем экспериментальных исследований, получены результаты, проведена их статистическая обработка, сформулированы выводы. Автор самостоятельно оформил все научные публикации и практические внедрения по результатам исследований.

Апробация результатов

Результаты диссертационного исследования были доложены на различных конференциях:

1. Международная научная конференция «Университетская наука: взгляд в будущее», посвященная 87-летию Курского государственного медицинского университета (4 февраля 2022 года, КГМУ, г. Курск);
2. Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы современной фармакогнозии», посвященная 100-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, профессора, доктора фармацевтических наук Д.А. Муравьевой (18-19 марта 2022 г., ПМФИ, г. Пятигорск);
3. VIII Международная научная конференция «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» (22-23 сентября 2022 г., Медицинский институт ПГУ, г. Пенза)
4. Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы современной фармакогнозии», посвященная памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора, доктора фармацевтических наук Д.А. Муравьевой (27 марта 2023 г., ПМФИ, г. Пятигорск);
5. Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы современной фармакогнозии», посвященная памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора, доктора фармацевтических наук Д.А. Муравьевой (28-29 марта 2024 г., ПМФИ, г. Пятигорск).

Внедрение результатов исследования

Разработанные методики и показатели качества оформлены в виде актов внедрения на кафедре фармации ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова»; в учебный процесс кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии фармацевтического факультета федерального государственного бюджетного образовательного

учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» при реализации дисциплины «Фармакогнозия» у обучающихся по специальности 33.05.01 «Фармация» (ВО). Установленные виды фармакологической активности внедрены в учебный процесс кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Выявленные морфолого-анатомические признаки плодов черники кавказской, как основные показатели подлинности ЛРС, внедрены в научно-исследовательскую деятельность кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Разработана инструкция по сбору и сушке черники кавказской плодов и утверждена заведующим Перкальского дендрологического парка Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН, кандидатом биологических наук Шильниковым Дмитрием Сергеевичем.

Связь задач исследования с планом научно-исследовательских работ

Диссертационное исследование выполнено на кафедре фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов (с 02 февраля 2026 года – кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии) в рамках темы: «Ботаническое и фармакогностическое исследование дикорастущих и культивируемых лекарственных растений и ЛРС с целью внедрения в медицинскую практику» в соответствии с планом научно-исследовательских работ Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно пунктам:

3 – Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления;

6 – Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

7 – Изучение биофармацевтических аспектов стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе; изучение влияния экологических факторов на химические и биологические свойства лекарственных растений; оценка экотоксикантов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных средствах.

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 6 научных статей, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ; 1 статья в издании, включенном в РИНЦ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 197 страницах машинописного текста, включает 35 таблиц и 37 рисунков, 138 источников литературы, в том числе 86 источников на иностранных языках, и 3 приложения.

Введение содержит актуальность темы диссертационного исследования, сформулированную цель и поставленные задачи. Также во введении отражена научная новизна исследования, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, сведения о публикациях и апробации диссертационного исследования.

В главе 1 описаны данные о ботанической характеристике, изученности химического состава и фармакологической активности плодов черники кавказской в сравнении с фармакопейным видом ЛРС – черникой обыкновенной плоды.

Глава 2 содержит подробную характеристику объектов и методов исследования.

Глава 3 посвящена сравнительному фитохимическому исследованию плодов черники кавказской и черники обыкновенной. В главе представлены результаты исследования состава фенольных соединений (фенилпропаноиды, флавоноиды, в том числе антоцианы, дубильные вещества), полисахаридов (с расшифровкой компонентного состава моносахаридов и установлением основных физико-химических констант биополимеров), сырого протеина и аминокислотного и минерального состава, жирных и органических кислот.

В главе 4 представлены результаты морфолого-анатомического исследования плодов черники кавказской как основных показателей подлинности ЛРС для внесения в проект ФС «Черники кавказской плоды». Представлена сравнительная характеристика внешних и микроскопических признаков плодов черники кавказской и черники обыкновенной. В главе также представлены хроматографические характеристики, установленные методом ТСХ, для последующего их внесения в раздел проекта ФС «Определение основных групп биологически активных соединений».

Глава 5 содержит результаты исследований по установлению норм качества на новый вид ЛРС для внесения в проект ФС «Черники кавказской плоды». В главе представлены статистически обработанные данные по следующим нормам качества: влажность, зола общая, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, посторонние примеси и экстрактивные вещества, а также валидированная методика количественного определения суммы антоцианов (в пересчете на цианидин-3-гликозид), установлены режимы сушки и определен срок годности ЛРС.

В 6 главе приведены результаты сравнительных фармакологических исследований нейропротекторной и антидиабетической активности извлечений, полученных из черники кавказской и черники обыкновенной.

В приложении представлены инструкция по сбору и сушке черники кавказской плодов, проект фармакопейной статьи на «Черники кавказской плоды» и акты внедрений, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования.

Диссертационная работа завершается выводами, заключением, описанием практических рекомендаций, перспективами дальнейшей разработки, списком сокращений и литературы.

Автор выражает благодарность за совместно проведенные исследования заведующему кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, кандидату фармацевтических наук, доценту Позднякову Д.И.; заведующему лабораторией медико-биологических исследований Института общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН, доктору фармацевтических наук Оленникову Д.Н.; старшему научному сотруднику кафедры химии природных соединений химического факультета ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, кандидату химических наук Ташилицкому В.Н.; профессору кафедры фармацевтического естествознания ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, доктору фармацевтических наук, профессору Гравель И.В., заведующему Перкальского дендрологического парка Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), кандидату биологических наук Шильникову Д. С., доценту кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарского государственного медицинского университета» Минздрава России, кандидату фармацевтических наук, доценту Рыжову В.М.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

В исследовании использовали образцы плодов черники кавказской, собранные от растений из пяти мест естественного произрастания в 2021 г. во время массового плодоношения растений (август-октябрь). Плоды сушили методами естественной и искусственной сушки (конвективная сушка и сушка в инфракрасном режиме). Видовую принадлежность собранных образцов подтверждал заведующий Перкальского дендрологического парка (Эколого-ботаническая станция «Пятигорск»), ведущий специалист БИН РАН по флоре Кавказа, канд. биол. наук Шильников Д.С. Плоды черники обыкновенной были приобретены в аптечной сети («ФитоФарм», г. Анапа).

В работе использовали реактивы чистоты класса «чистый для анализа», «химически чистый». Титрованные, буферные растворы, растворы индикаторов готовили согласно методикам Государственной Фармакопеи Российской Федерации XV и XIV издания.

Сравнительное фитохимическое исследование плодов черники кавказской и черники обыкновенной проводили методами высокоэффективной жидкостной хроматографии с ФДМД и ИЭР/МС (LCMS-8050, Shimadzu, США) – фенольные соединения; ВЭЖХ с диодно-матричным УФ-детектором (Agilent 1200, США) – антоцианы; ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором при 245 нм (Agilent 1260, США) – моносахаридный состав; газовой хроматографии с масс-селективным детектором (Agilent 7890B, США) – жирные и органические кислоты; масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (Agilent 7900, США) – элементный состав; ионообменная хроматография с пост-колоночной дериватизацией и спектрометрическим детектором (AAA-400, Ingos, Чехия) – аминокислоты. Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин проводили методом 1 согласно методике ОФС 1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XIV издания. Выделение полисахаридных фракций (ВРПС и ПВ) проводили путем последовательной экстракции сырья с последующим гравиметрическим определением выхода каждой фракции. Физико-химические параметры двух фракций полисахаридов измеряли методами вискозиметрии, кондуктометрии, сталагмометрии. Расчет содержания компонентов проводили методом внутренней нормализации или с использованием стандартных образцов по валидированным методикам, опубликованным в научной литературе.

Определение показателей подлинности сырья проводили методами микроскопии в проходящем свете, тонкослойной хроматографии на пластинках марки Sorbfil (ООО «ИМИД», Россия) ПТСХ-П-А-УФ и ПТСХ-АФ-А-УФ размером 100×100 мм (подложка полимерная и алюминиевая соответственно).

Показатели качества плодов черники кавказской определяли согласно методикам ОФС ГФ РФ XIV и XV изданий. Методику количественного определения разрабатывали, используя метод спектрофотометрии в видимом диапазоне (СФ-2000, «ОКБ Спектр», Россия). Методику валидировали по параметрам «специфичность», «линейность», «правильность» и «прецизионность» на двух уровнях. Используя разработанную методику, определяли оптимальный режим сушки плодов и срок годности плодов.

Фармакологические исследования включали определение антидиабетической активности на модели диабета второго типа, индуцированного у крыс линии Wistar инъекцией стрептозотоцина. У животных измеряли уровень глюкозы в крови и моче, объем диуреза после перорального введения в течение 4-х недель густого экстракта из водно-спиртового извлечения (спирт этиловый 70%, содержащий 1% хлористоводородной кислоты концентрированной) из воздушно-сухих плодов черники кавказской. Нейропротекторное действие определяли на модели

инъекции шариков полистирола в переднюю камеру глаза крыс с дальнейшим измерением активности антиоксидантных ферментов и уровня продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в тканях мозга крыс после перорального введения животным густых экстрактов из водно-спиртовых извлечений (спирт этиловый 70%, содержащий 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, и спирт этиловый 70% без кислоты) из плодов черники кавказской и плодов черники обыкновенной.

Все данные, полученные в ходе экспериментов, подвергались статистической обработке с использованием MSeXcel 2016, «STATISTICA 6.0» и «StatPlus 7.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Сравнительное фитохимическое исследование черники кавказской и черники обыкновенной плодов

Фенольные соединения

Установлено содержание 15 фенольных соединений в плодах черники кавказской, основными из которых являются 5-*O*-кофеилхинная кислота (неохлорогеновая кислота) и мирицетин-3-*O*-рутинозид; 13 соединений в плодах черники обыкновенной, основными по содержанию среди которых являются хлорогеновая кислота и кверцетин-3-*O*-галактозид (рисунок 1, таблица 1).

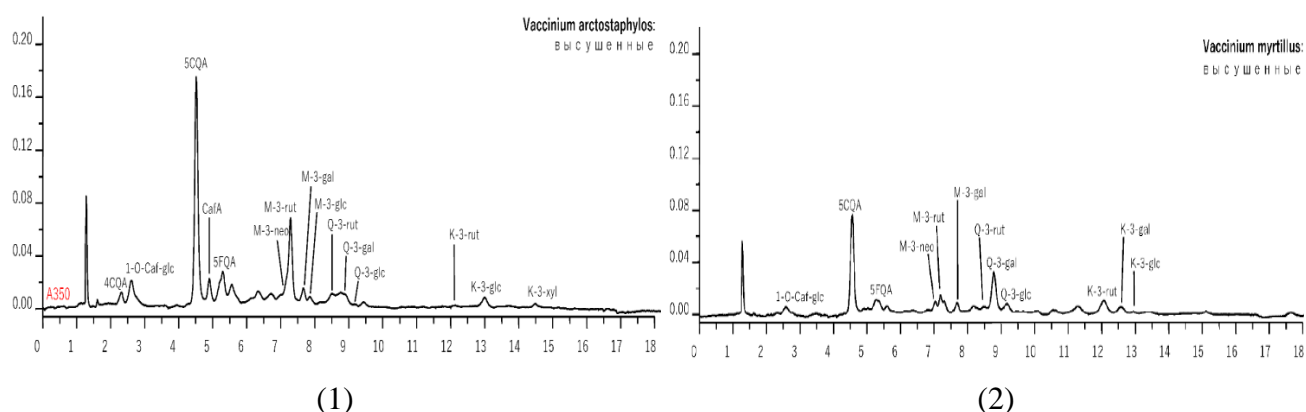


Рисунок 1 – Хроматограммы извлечения из плодов черники кавказской (1) и черники обыкновенной (2) (экстрагент: спирт этиловый 70% (расшифровка обозначений соединений в таблице 1)

Антоцианы

В исследовании использовали два способа пробоподготовки: с добавлением хлористоводородной кислоты и без. В результате установлено содержание агликонов дельфинидина, цианидина и смеси мальвидина и пеонидина в плодах черники кавказской и черники обыкновенной при экстракции из спиртом этиловым 70% с содержанием 1% хлористоводородной кислоты концентрированной. По содержанию мажорным компонентом в сумме антоцианов в обоих извлечениях является цианидин (35,4% в плодах черники кавказской и 31,4% в плодах черники обыкновенной) (рисунок 2-1 и 2-2).

При экстракции спиртом этиловым 70% без кислоты в извлечении обнаруживаются 9 антоцианов в плодах черники кавказской и 8 антоцианов в плодах черники обыкновенной. В плодах черники кавказской основное содержание приходится на цианидин-3-глюкозид (16,7%), дельфинидин-3-галактозид (12,9%) и дельфинидин-3-глюкозид (12,89%). В плодах черники обыкновенной превалируют мальвидин-3-глюкозид (22,2%), дельфинидин-3-глюкозид (13,7%), петунидин-3-галактозид (8,9%) и цианидин-3-глюкозид (4,8%) (рисунок 2-3 и 2-4, таблица 2).

Таблица 1 – Содержание фенольных соединений в плодах черники кавказской и чернике обыкновенной в пересчете на воздушно-сухое сырье

| № | Соединение | <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. | <i>Vaccinium myrtillus</i> L. |
|-----|--|------------------------------------|-------------------------------|
| | | Плоды (мкг/г±SD, n=3) | |
| 1. | 4- <i>O</i> -кофеилхинная кислота (4CQA) | 20,32±0,40 | - |
| 2. | 1- <i>O</i> -кофеилглюкозид (1- <i>O</i> -Caf-glc) | 52,17±1,06 | 18,35±0,32 |
| 3. | 5- <i>O</i> -кофеилхинная кислота (5CQA) | 308,06±6,22 | 173,14±3,42 |
| 4. | Кофейная кислота (CafA) | 18,67±0,35 | следы |
| 5. | 5- <i>O</i> -ферулоилхинная кислота (5FQA) | 69,11±1,40 | 25,63±0,51 |
| 6. | Мирицетин-3- <i>O</i> -неогесперидозид (М-3-neo) | 32,83±0,66 | 26,35±0,53 |
| 7. | Мирицетин-3- <i>O</i> -рутинозид (М-3-rut) | 108,54±2,19 | 33,75±0,69 |
| 8. | Мирицетин-3- <i>O</i> -галактозид (М-3-gal) | 25,69±0,51 | 20,84±0,40 |
| 9. | Мирицетин-3- <i>O</i> -глюкозид(М-3-glc) | 11,57±0,24 | - |
| 10. | Кверцетин-3- <i>O</i> -рутинозид (Q-3-rut) | 10,23±0,18 | 6,23±0,14 |
| 11. | Кверцетин-3- <i>O</i> -галактозид (Q-3-gal) | 8,52±0,16 | 59,48±1,19 |
| 12. | Кверцетин-3- <i>O</i> -глюкозид (Q-3-glc) | 2,84±0,06 | 10,57±0,22 |
| 13. | Кемпферол-3- <i>O</i> -рутинозид (К-3-rut) | 1,14±0,02 | 4,63±0,09 |
| 14. | Кемпферол-3- <i>O</i> -глюкозид (К-3-glc) | 4,07±0,08 | 1,14±0,02 |
| 15. | Кемпферол-3- <i>O</i> -ксилозид (К-3-xyl) | 2,06±0,02 | - |
| 16. | Кемпферол-3- <i>O</i> -галактозид(К-3-gal) | - | 4,01±0,08 |

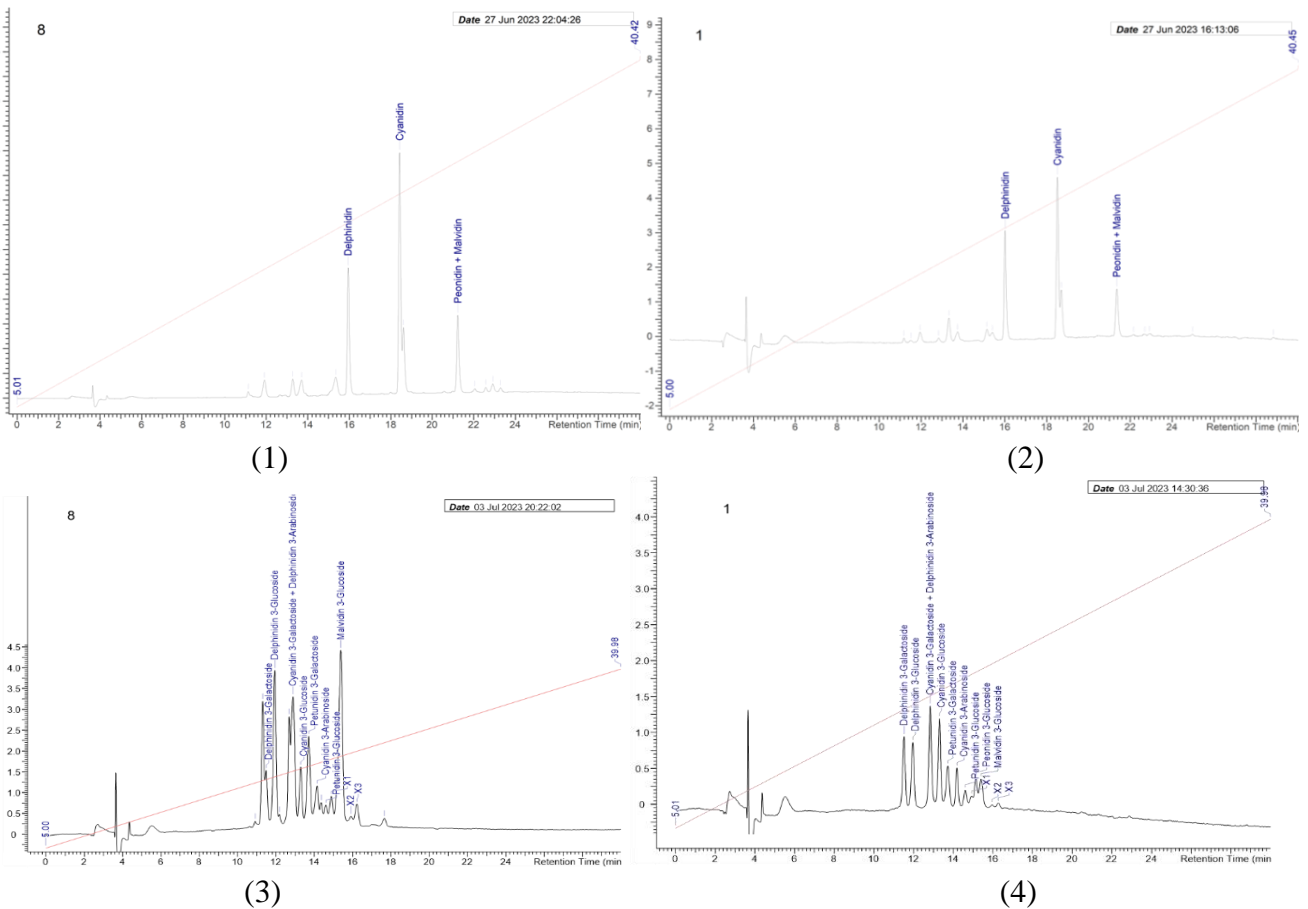


Рисунок 2 – Хроматограммы извлечений (экстрагент: спирт этиловый 70% с содержанием хлористоводородной кислоты концентрированной 1%) из плодов черники кавказской (1) и черники обыкновенной (2); извлечений (экстрагент: спирт этиловый 70%) из плодов черники кавказской (3) и черники обыкновенной (4)

Таблица 2 – Результаты определения антоцианового состава в плодах черники кавказской и чернике обыкновенной

| Компонент | Относительное содержание в извлечении, % | |
|--|--|------------|
| | ЧК | ЧО |
| Пробоподготовка методом 1 | | |
| Цианидин | 35,51±1,15 | 31,25±1,36 |
| Дельфинидин | 19,13±0,93 | 21,52±0,99 |
| Мальвидин+пеонидин | 12,77±0,63 | 11,79±0,35 |
| Пробоподготовка методом 2 | | |
| Цианидин-3-галактозид+дельфинидин-3-арабинозид | 13,65±0,52 | 19,06±0,55 |
| Цианидин-3-глюкозид | 4,75±0,18 | 16,67±0,5 |
| Дельфинидин-3-галактозид | 3,92±0,18 | 12,90±0,40 |
| Дельфинидин-3-глюкозид | 13,67±0,42 | 12,89±0,34 |
| Петунидин-3-галактозид | 8,86±0,29 | 9,65±0,46 |
| Мальвидин-3-глюкозид | 22,26±0,63 | 7,36±0,26 |
| Цианидин-3-арабинозид | 4,36±0,19 | 6,86±0,23 |
| Пеонидин-3-глюкозид | - | 6,09±0,19 |
| Петунидин-3-глюкозид | 1,91±0,09 | 4,02±0,14 |

Жирные и органические кислоты

В плодах черники кавказской обнаружено 11 жирных кислот, среди которых доминирующими являются пальмитиновая (29,3% от суммы всех жирных кислот), линолевая (26,2%), линоленовая (24,2%) и олеиновая (17,7%) кислоты. В плодах черники обыкновенной обнаружено 10 жирных кислот, мажорными по содержанию являются пальмитиновая (28,2%), линолевая (27,7%), линоленовая (26,9%), олеиновая (12,9%), миристиновая (2,4%) кислоты (таблица 3).

Таблица 3 – Жирнокислотный состав плодов черники кавказской и черники обыкновенной

| № | Наименование соединения | Черника кавказская | | Черника обыкновенная | |
|-----|-------------------------|--------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|
| | | Содержание, мг/кг | Доля от суммарного содержания, % | Содержание, мг/кг | Доля от суммарного содержания, % |
| 1. | Пальмитиновая кислота | 13434±533 | 29,27 | 13264±385 | 28,17 |
| 2. | Линолевая кислота | 11964±487 | 26,17 | 13072±592 | 27,73 |
| 3. | Линоленовая кислота | 11114±410 | 24,22 | 12668±411 | 26,89 |
| 4. | Олеиновая кислота | 8104±257 | 17,69 | 6054±208 | 12,86 |
| 5. | Арахидиновая кислота | 547,5±24,7 | 1,19 | 345,7±9,8 | 0,73 |
| 6. | Элаидиновая кислота | 173,4±7,7 | 0,38 | 305,8±7,5 | 0,65 |
| 7. | Бегеновая кислота | 172,1±8,3 | 0,38 | 163,6±5,2 | 0,35 |
| 8. | Лауриновая кислота | 119,5±5,2 | 0,26 | - | - |
| 9. | Мargarиновая кислота | 91,1±3,5 | 0,2 | 99,4±3,0 | 0,21 |
| 10. | Миристиновая кислота | 84,8±3,3 | 0,18 | 1135±56 | 2,41 |
| 11. | Пентадециловая кислота | 31,7±1,4 | 0,07 | 0,50±0,02 | 0,001 |

Кроме жирных кислот, в извлечениях идентифицированы: в плодах черники кавказской - 18 соединений, доминирующими по содержанию являются лимонная (73,7% от суммы других соединений, кроме жирных кислот), леволиновая (14,2%) и транс, транс-2,4-гептадиеновая (8,5%) кислоты. В плодах черники обыкновенной идентифицировано 15 соединений, среди которых

основными по содержанию являются лимонная (41,0%), леволиновая (27,1%), транс, транс-2,4-гептадиеновая (22,9%), яблочная (7,6%) кислоты (таблица 4).

Таблица 4 – Компоненты дихлорметанового извлечения плодов черники кавказской и черники обыкновенной, за исключением растворителя и жирных кислот

| № | Наименование соединения | Черника кавказская | | Черника обыкновенная | |
|-----|--|--------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------------------|
| | | Содержание, мг/кг | Доля от суммарного содержания, % | Содержание, мг/кг | Доля от суммарного содержания, % |
| 1. | Лимонная кислота | 102063±4284 | 73,72 | 87181±2562 | 41,03 |
| 2. | Левулиновая кислота | 19721±747 | 14,24 | 57578±1694 | 27,11 |
| 3. | Транс, транс-2,4-гептадиеновая кислота | 11792±353 | 8,51 | 48748±2023 | 23,0 |
| 4. | Щавелевая кислота | 1192±59 | 0,86 | 10,2±0,4 | 0,005 |
| 5. | Яблочная кислота | 1118±52 | 0,81 | 16127±560 | 7,6 |
| 6. | Янтарная кислота | 773,7±30,0 | 0,56 | - | - |
| 7. | Пироглизиновая кислота | 329,2±16,4 | 0,24 | 624,9±17,0 | 0,3 |
| 8. | Бензойная кислота | 282,9±10,9 | 0,2 | 315,8±11,2 | 0,15 |
| 9. | Сиреневая кислота | 251,3±6,2 | 0,18 | 138,5±4,5 | 0,07 |
| 10. | Азелаиновая кислота | 221,7±7,1 | 0,16 | 2,13±0,10 | 0,001 |
| 11. | Ванилиновая кислота | 214,6±5,8 | 0,15 | 292,7±12,3 | 0,14 |
| 12. | 3-гидрокси-3-метилпентандиовая кислота | 134,7±3,3 | 0,1 | - | - |
| 13. | Фенэтиловый спирт | 111,5±4,1 | 0,08 | - | - |
| 14. | Малоновый моноальдегид | 78,5±3,7 | 0,06 | 48,5±2,1 | 0,02 |
| 15. | 2-гидроксипальмитиновая кислота | 63,6±3,0 | 0,05 | 35,3±1,3 | 0,02 |
| 16. | Салициловая кислота | 38,5±1,7 | 0,03 | 23,3±1,1 | 0,01 |
| 17. | Фумаровая кислота | 37,3±1,2 | 0,03 | 159,1±3,4 | 0,08 |
| 18. | Пробковая кислота | 33,4±1,7 | 0,02 | - | - |
| 19. | Фитол | - | - | 83,2±1,8 | 0,04 |

Полисахариды

Из плодов черники кавказской было выделено 2,70±0,10% ВРПС и 0,67±0,03% ПВ и 3,62±0,14% ВРПС и 1,82±0,08% ПВ из черники обыкновенной плодов.

В составе ВРПС из плодов черники кавказской после гидролиза обнаружено 7 моносахаридов, при этом основными по содержанию являются арабиноза (1,83%) и галактоза (1,45%). В ВРПС плодов черники обыкновенной найдена также глюконовая кислота, основными моносахарами являются галактоза (5,12%) и арабиноза (3,55%). Пектиновые вещества из плодов черники кавказской состоят из 8 моносахаридов, основными по содержанию являются галактуроновая кислота (8,90%) и галактоза (3,86%), в ПВ из плодов черники обыкновенной идентифицированы те же моносахариды, доминирующими являются галактуроновая кислота (14,11%) и галактоза (4,60%) (рисунок 3).

Установлены физико-химические параметры выделенных фракций, а именно молекулярная масса ВРПС из плодов черники кавказской (662,11 г/моль) и черники обыкновенной (11263,82 г/моль) и ПВ (12289,95 г/моль – плоды черники кавказской; 3802,38 г/моль – плоды черники обыкновенной). При этом молекулы находятся в электронейтральном состоянии при pH 3,2 (ВРПС из плодов черники кавказской и ПВ из плодов черники обыкновенной), pH 5,2 (ПВ из плодов черники кавказской), pH 4,2 (ПВ из плодов черники

обыкновенной). ВРПС и ПВ являются поверхностно неактивными. Наилучшей проникающей способностью обладают ВРПС из плодов черники обыкновенной (коэффициент распределения составил 0,51, степень извлечения 66%) и ПВ из плодов черники кавказской (коэффициент распределения составил 1,5, степень извлечения 40%).

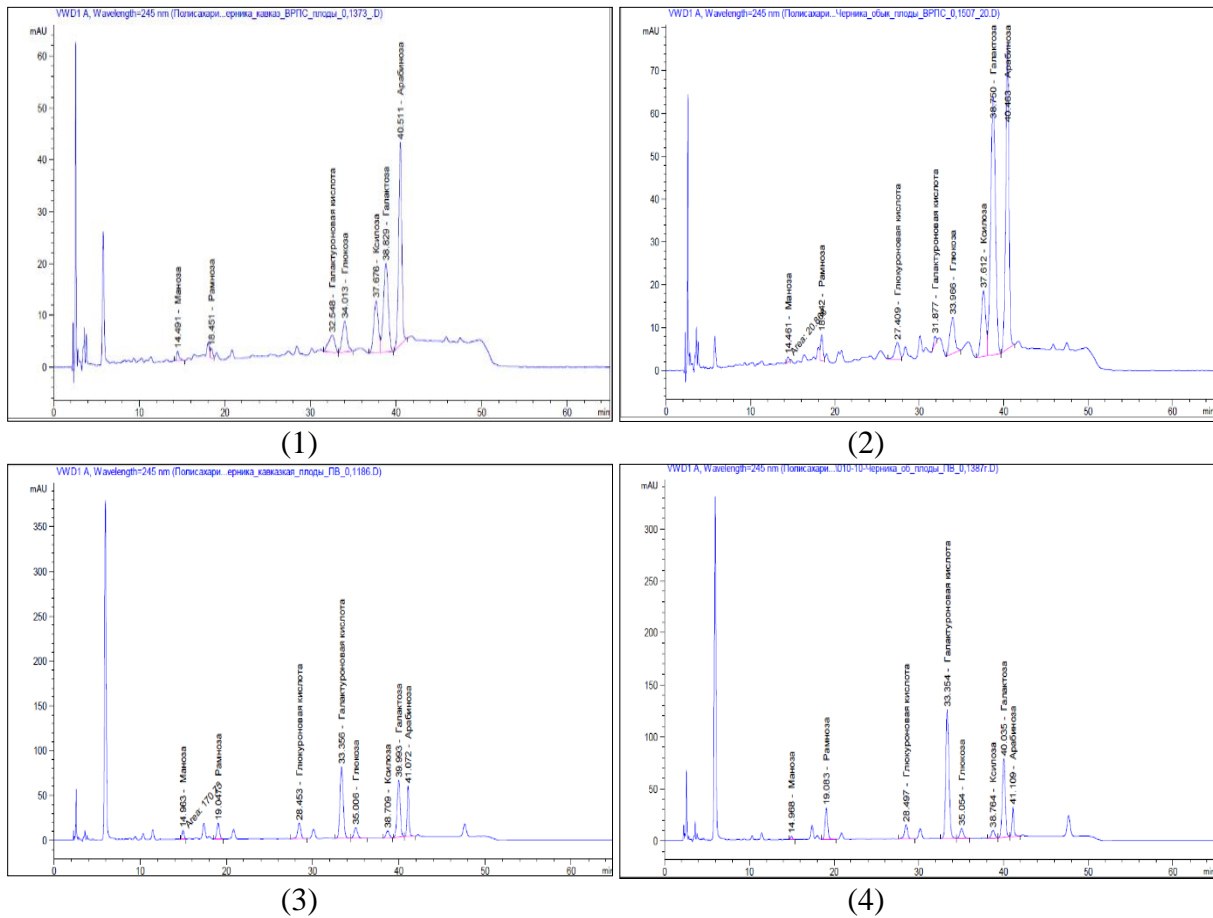


Рисунок 3 – Хроматограмма дериватов моносахаридов ВРПС и ПВ плодов черники кавказской (1 и 3 соответственно) и черники обыкновенной (2 и 4 соответственно)

Элементный состав

В воздушно-сухих плодах и золе общей в двух видах черники обнаружены следующие элементы (таблица 5), которые разделили на макро- микроэлементы и прочие элементы.

В плодах черники кавказской обнаружен 21 элемент, из них 5 – макроэлементы с преобладанием калия и фосфора; 5 – микроэлементы с преобладаем марганца, меди и цинка. Среди металлов обнаружено 11 элементов, мажорными среди которых – барий, рубидий, алюминий. В плодах черники обыкновенной обнаружены те же элементы, а также цезий. Преобладали так же калий, фосфор, среди микроэлементов больше всего железа и марганца. Из металлов преобладали рубидий и барий.

При этом в золе общей обнаружено 24 элемента. В золе черники кавказской мажорными макроэлементами являются калий, фосфор, установлено близкое содержание кальция и магния. Из микроэлементов наибольшее содержание установлено для марганца и железа; из металлов – бария, алюминия и рубидия. В золе общей из плодов черники обыкновенной схожий профиль: наибольшее содержание калия, фосфора, почти одинаковое содержание магния и кальция; из микроэлементов основными по содержанию являются железо и марганец. Барий, алюминий и рубидий являются мажорными среди обнаруженных металлов. При этом в золе не обнаружены в сравнении с плодами олово и цезий, но идентифицированы молибден, кадмий, бериллий, мышьяк, литий.

Из 36 элементов, которые возможно обнаружить, ни в плодах, ни в золе не найдены селен,

Таблица 5 – Минеральный состав плодов и золы черники кавказской и черники обыкновенной

| № | Элемент | Содержание, мкг/г | | | |
|----------------------|---------|-------------------|---------------|---------------|---------------|
| | | Плоды | | Зола | |
| | | ЧК | ЧО | ЧК | ЧО |
| <i>Макроэлементы</i> | | | | | |
| 1. | K | 5898,7 ± 14,0 | 5650,3 ± 11,3 | 270518 ± 33 | 246527 ± 69 |
| 2. | P | 1026,0 ± 17,7 | 1143,0 ± 9,5 | 105870 ± 44 | 118311 ± 13 |
| 3. | Ca | 831,0 ± 37,6 | 476,3 ± 53,3 | 52059 ± 28 | 29097 ± 8 |
| 4. | Mg | 682,1 ± 21,0 | 435,6 ± 14,4 | 41799 ± 5 | 29035 ± 16 |
| 5. | Na | 5,6 ± 1,9 | 24,2 ± 3,3 | 4682 ± 20 | 8464 ± 21 |
| <i>Микроэлементы</i> | | | | | |
| 6. | Mn | 71,5 ± 9,5 | 36,4 ± 2,7 | 3965,9 ± 23,7 | 2384,9 ± 20,1 |
| 7. | Fe | 45,0 ± 8,4 | 74,6 ± 8,4 | 3126,5 ± 46,2 | 3110,6 ± 37,3 |
| 8. | Cu | 12,62 ± 1,27 | 7,76 ± 1,19 | 610,5 ± 8,3 | 409,4 ± 0,1 |
| 9. | Zn | 11,08 ± 1,39 | 19,38 ± 2,18 | 573,2 ± 22,4 | 652,9 ± 14,7 |
| 10. | Cr | 0,46 ± 0,05 | 0,39 ± 0,06 | 14,08 ± 0,47 | 10,31 ± 0,11 |
| 11. | Ba | 100,2 ± 12,0 | 144,3 ± 35,1 | 3257,1 ± 19,2 | 3564,0 ± 16,4 |
| 12. | Rb | 56,30 ± 3,32 | 162,5 ± 4,2 | 844,8 ± 47,7 | 1487,1 ± 50,6 |
| 13. | Al | 40,5 ± 5,2 | 28,5 ± 2,1 | 3217 ± 27 | 2730 ± 81 |
| 14. | B | 10,1 ± 1,4 | 4,6 ± 0,5 | 661,7 ± 33,0 | 350,3 ± 0,8 |
| 15. | Ni | 3,68 ± 0,43 | 2,29 ± 0,30 | 186,3 ± 12,7 | 107,9 ± 0,3 |
| 16. | Sr | 3,61 ± 0,45 | 6,12 ± 0,44 | 230,6 ± 3,9 | 399,0 ± 4,6 |
| 17. | Ti | 1,20 ± 0,15 | 1,32 ± 0,10 | 95,5 ± 4,6 | 92,8 ± 7,1 |
| 18. | Sn | 0,32 ± 0,02 | 0,35 ± 0,09 | - | - |
| 19. | Li | - | - | 16,3 ± 5,7 | 37,0 ± 0,2 |
| 20. | Pb | 0,063 ± 0,013 | 0,105 ± 0,029 | 2,52 ± 0,19 | 6,66 ± 0,06 |
| 21. | V | 0,021 ± 0,004 | 0,014 ± 0,003 | 4,68 ± 1,01 | 3,04 ± 0,10 |
| 22. | Co | 0,016 ± 0,003 | 0,011 ± 0,002 | 1,85 ± 0,19 | 1,15 ± 0,05 |
| 23. | Mo | - | - | 2,25 ± 0,04 | 7,96 ± 1,16 |
| 24. | Cs | - | 0,17 ± 0,02 | - | - |
| 25. | As | - | - | 0,58 ± 0,1 | 1,57 ± 0,3 |
| 26. | Be | - | - | 0,277* | 0,087* |
| 27. | Cd | - | - | 0,24 ± 0,03 | 0,11 ± 0,01 |

Примечание: ЧК - черника кавказская; ЧО – черника обыкновенная; * - единичные данные

серебро, индий, сурьма, вольфрам, ртуть, таллий, висмут, уран.

Содержание тяжелых металлов не превышало предельно допустимые концентрации, установленные ГФ РФ XV издания.

Аминокислотный состав

В результате анализа плодов черники кавказской и черники обыкновенной установили количественное содержание сырого протеина (7,11% и 5,3% соответственно), суммы аминокислот (5,85% и 5,3% соответственно). Доминирующими среди аминокислот черники кавказской являются глутаминовая кислота (22,8% от общей суммы), аргинин (8,49% от общей

суммы), аспарагиновая кислота (10,94% от общей суммы), лейцин (6,98% от общей суммы), глицин (7,36% от общей суммы) и валин (5,09% от общей суммы); у черники обыкновенной глутаминовая кислота (22,56% от общей суммы), аспарагиновая кислота (10,09% от общей суммы), аргинин (10,43% от общей суммы), глицин (5,98% от общей суммы), лейцин (7,52% от общей суммы) и пролин (4,27% от общей суммы). Также в чернике обыкновенной замечены следы цистина, в отличие от черники кавказской (таблица 6).

Таблица 6 – Аминокислотный состав плодов черники кавказской и черники обыкновенной

| Черники кавказской плоды | | | Черники обыкновенной плоды | |
|--------------------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|
| № | Название аминокислоты | Содержание, % | Название аминокислоты | Содержание, % |
| 1 | Глутаминовая кислота (Glu) | 1,32±0,06 | Глутаминовая кислота (Glu) | 1,21±0,01 |
| 2 | Аргинин (Arg) | 0,61±0,01 | Аспарагиновая кислота (Asp) | 0,58±0,01 |
| 3 | Аспарагиновая кислота (Asp) | 0,59±0,02 | Аргинин (Arg) | 0,45±0,02 |
| 4 | Лейцин (Leu)* | 0,44±0,02 | Глицин (Gly) | 0,39±0,01 |
| 5 | Глицин (Gly) | 0,35±0,02 | Лейцин (Leu)* | 0,37±0,01 |
| 6 | Валин (Val)* | 0,31±0,01 | Пролин (Pro) | 0,34±0,01 |
| 7 | Аланин (Ala) | 0,30±0,01 | Валин (Val) | 0,27±0,01 |
| 8 | Фенилаланин (Phe) * | 0,28±0,01 | Серин(Ser) | 0,24±0,01 |
| 9 | Серин (Ser) | 0,25±0,01 | Аланин(Ala) | 0,22±0,01 |
| 10 | Пролин (Pro) | 0,25±0,01 | Изолейцин (Ile)* | 0,22±0,01 |
| 11 | Тирозин (Tyr) | 0,24±0,01 | Фенилаланин(Phe)* | 0,21±0,01 |
| 12 | Изолейцин (Ile)* | 0,22±0,01 | Треонин(Thr)* | 0,20±0,01 |
| 13 | Лизин (Lys)* | 0,22±0,01 | Лизин (Lys)* | 0,20±0,01 |
| 14 | Треонин (Thr)* | 0,18±0,01 | Тирозин (Tyr)* | 0,13±0,004 |
| 15 | Гистидин (His)* | 0,15±0,01 | Гистидин (His)* | 0,13±0,01 |
| 16 | Метионин (Met)* | 0,14±0,01 | Метионин (Met)* | 0,11±0,01 |
| 17 | | | Цистин (Cys) | 0,03±0,001 |
| Сумма аминокислот, % | | 5,85±0,20 | Сумма аминокислот, % | 5,30±0,22 |
| Сумма протеина, % | | 7,11±0,16 | Сумма протеина, % | 5,3±0,26 |

Обозначения: * - незаменимые аминокислоты

Дубильные вещества

Методом перманганатометрии в образцах плодов черники кавказской установлено содержание дубильных веществ от 3,19±0,13% до 6,70±0,23%. Сопоставимые результаты были получены для черники обыкновенной плодов – 4,21±0,19%.

2. Подлинность черники кавказской плодов

Внешние признаки

Диагностически значимыми внешними признаками плодов черники кавказской являются наличие остатка чашечки на верхней части плодов в виде заметной сильно выступающей кольцевой оторочки, окружающей вздутый диск с остатком столбика в центре. Многочисленные семена мелкие, около 2 мм в длину вытянутой формы, неравнобокие, заостренные с обоих концов (рисунок 4).

Микроскопические признаки

Диагностически значимыми признаками плодов черники кавказской являются многочисленные друзы оксалата вдоль проводящих пучков и в паренхиме в перикарпии,

каменистые клетки в виде склереид и брахисклереид в перикарпии. Окраска антоциановыми соединениями наблюдается в клетках паренхимы мезокарпия и в эпидермисе семенной кожуры (рисунок 5).

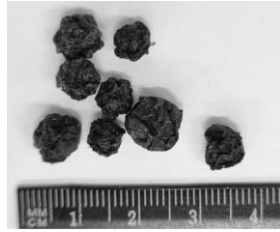


Рисунок 4 – Внешний вид цельных плодов черники кавказской

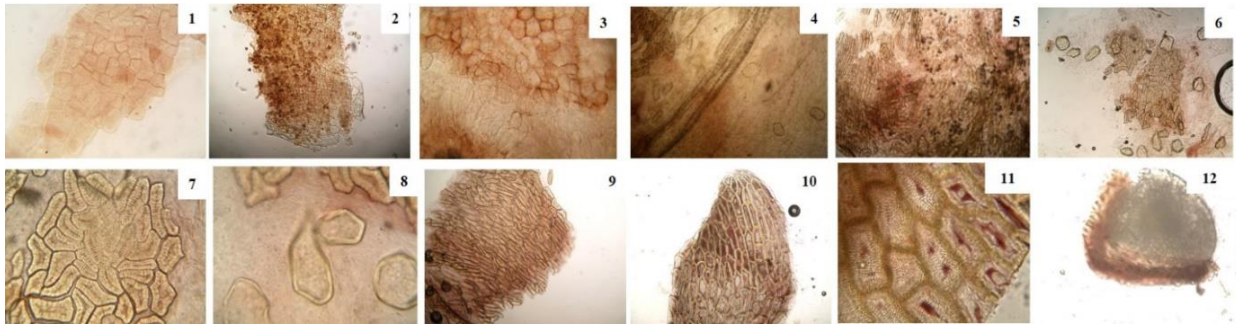


Рисунок 5 – Черники кавказской плоды: 1-2 - эпидермис плода (ув. x100); 3 – мезокарпий плода (ув. x400); 4 – фрагмент перикарпия с проводящими пучками с тяжами друз оксалата кальция, склереидами и брахисклереидами (ув. x100); 5-6 – мезокарпий с друзами оксалата кальция, склереидами и брахисклереидами (ув. x100); 7 – склереиды мезокарпия (ув. x400); 8 – брахисклереиды мезокарпия (ув. x400); 9 – склереиды мезокарпия (ув. x100); 10-11 – склерефицированные клетки семенной кожуры (ув. x100 и x400 соответственно); 12 – поперечный срез семени с эндоспермом (ув. x100)

Отличительными чертами плодоножек черники кавказской являются ребристая структура в поперечном сечении, наличием одноклеточных или двухклеточных волосков, развитым до трех слоев колленхимным слоем, сильно пигментированным гиподермальным слоем и наличием вторичных проводящих элементов в виде небольшого пучка в коровой части (рисунок 6).

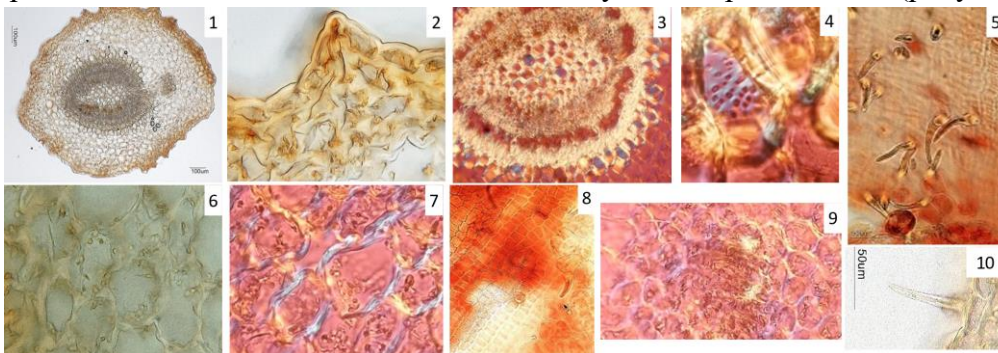


Рисунок 6 – Черники кавказской плодоножка: 1 – Форма поперечного сечения плодоножки ЧК (x100); 2 - Ребро плодоножки ЧК на поперечном сечении с колленхимой углового типа (x1000); 3 - центральный цилиндр плодоножки в поляризационном микроскопе λ-светофильтр (x100); 4 - Склереиды флоэмы в поляризационном микроскопе λ-светофильтр (x1000); 5 - опушение из простых одноклеточных волосков на поверхности плодоножек ЧК (x400); 6 - Основная паренхима коровой части из клеток с зернистым протопластом. Окраска раствором Люголя (x1000); 7- Основная паренхима коровой части из клеток с зернистым протопластом в поляризационном микроскопе λ-светофильтр (x1000); 8 - эпидермальные клетки с устьичными аппаратами плодоножек ЧК (x400); 9 - Вторичный пучок в поляризационном микроскопе λ-светофильтр (x400); 10 - простой одноклеточный волосок на эпидерме плодоножки ЧК (x400).

Определение основной группы биологически активных веществ

Пробоподготовка извлечения была аналогична методике оценки подлинности и качества в разделе «Количественное определение». На основе данных антоцианового состава в качестве маркерного соединения выбран цианидин-3-гликозид. Опробовано 10 составов подвижных фаз, из которых оптимальное разделение от сопутствующих соединений при значении коэффициента подвижности (R_f) в диапазоне 0,4-0,8 получено в системе муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65). Оптимальный объем наносимой пробы составил 10 мкл (рисунок 7).

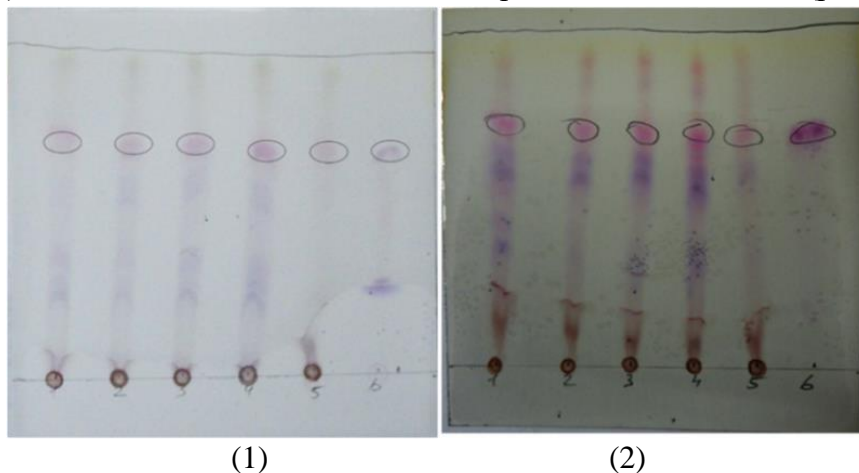


Рисунок 7 – Хроматограммы на пластинке ПТСХ-П-А (1) и ПТСХ-АФ-А (2) извлечений из черники кавказской плодов: 1 – гора Фишт, Республика Адыгея; 2 – Карачаевск, КЧР; 3 – река Пшихашха, Республика Адыгея; 4 – озеро Голубое, Республика Адыгея; 5 – Псебайский район, Краснодарский край; 6 – СО цианидин-3-гликозид (0,01% раствор)

Методика была валидирована по параметрам «специфичность» (совпадение со значением R_f СО цианидин-3-гликозида и значение R_s в диапазоне 0,8-1,2), «робастность» (стабильность результатов при времени насыщения камеры парами подвижной фазы 30 минут), «воспроизводимость» (стабильные результаты при использовании хроматографических пластинок с алюминиевой и полимерной подложкой и проведении эксперимента разными аналитиками). Методика была апробована на 5 образцах плодов черники кавказской.

3. Оценка качества черники кавказской плодов

При измерении основных показателей качества в пяти образцах плодов черники кавказской получены следующие результаты: влажность цельного сырья колеблется от 7,16% до 12,13 % (установлен предел влажности не более 13%); зола общая цельного сырья колеблется от 1,00% до 2,14% (установлен предел золы общей не более 3%); зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, цельного сырья колеблется от 0,29% до 0,67% (установлен предел золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, не более 1%). По содержанию примесей установлены следующие параметры: других частей растений (листья, кусочки стеблей) в исследуемых образцах цельного сырья содержалось в пределах 0,04-0,19 % (установлен предел не более 0,25%); плодов недозревших, твердых или пригоревших в исследуемых образцах цельного сырья содержалось в пределах 0,20-0,78 % (установлен предел не более 1%); органической примеси в исследуемых образцах цельного сырья содержалось в пределах 0,65-1,41 % (установлен предел не более 2%); минеральной примеси в исследуемых образцах цельного сырья содержалось в пределах 0,07-0,19 % (установлен предел не более 0,3%). Оптимальным экстрагентом, при использовании которого извлекается наибольшее количество веществ,

является спирт этиловый 70%, при этом установлен показатель содержания экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70% - не менее 33%.

Установлены оптимальные условия пробоподготовки извлечения для количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид методом спектрофотометрии.

Специфичность методики при валидационной оценке подтвердили по совпадению максимумов светопоглощения извлечений из плодов черники кавказской и серии разведений раствора СО цианидин-3-глюкозида (рисунок 8).

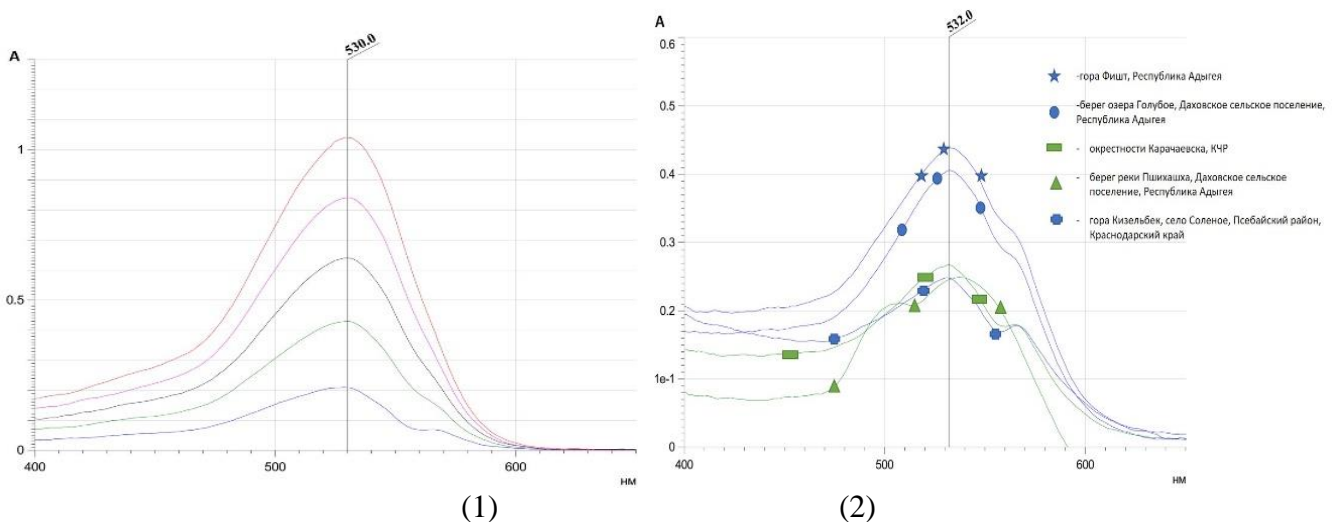


Рисунок 8 – Спектры серии разведений растворов СО цианидин-3-глюкозида (1) и извлечений из плодов черники кавказской из разных мест естественного произрастания (2)

Разработанная методика соответствует параметру «линейность» ($y=0,0475x-0,0005$, $R=0,99$), «прецизионность» при относительной ошибке определения 3,82% и значениях относительного стандартного отклонения от 1,71% до 3,63%; методика является правильной, так как не отягощена систематической ошибкой (критерий Стьюдента, $t_{\text{выч}} < t_{\text{таб}}(P, f)$, так как $0,41 < 2,31$).

Валидированная методика была апробована на пяти образцах плодов черники кавказской. Содержание суммы антоцианов было в пределах от 0,65% до 1,10%, поэтому установлен предел содержания суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид – не менее 0,5%.

Методика была использована для установления оптимального режима сушки плодов черники кавказской для консервации суммы антоцианов – при конвективной сушке не выше 40°C содержание суммы антоцианов составило $0,91 \pm 0,03\%$, при воздушно-теневого сушке – $1,10 \pm 0,04\%$.

В образцах сырья плодов черники кавказской на протяжении 36 месяцев измеряли основные показатели качества (влажность, зольность, экстрактивные вещества, содержание суммы антоцианов). Плоды могут храниться при оптимальных условиях (темное проветриваемое помещение при контролируемой влажности воздуха в группе хранения лекарственного растительного сырья «плоды») в течение двух лет.

4. Сравнительная оценка фармакологической активности плодов черники кавказской и черники обыкновенной

Нейропротекторное действие

При оценке нейропротекторной активности установлено увеличение активности сукцинатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы и цитратсинтазы в тканях мозга крыс при

пероральном введении им в течение 4-х недель густых экстрактов извлечений из плодов черники кавказской и черники обыкновенной в дозе 100 мг/кг. Более выраженное действие оказывали остатки, полученные после экстракции сырья спиртом этиловым 70%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной. Концентрация тиобарбитуровая кислота – активные продукты в мозге крыс уменьшилась на 38,3% и 35,4% ($p < 0,05$ оба показателя) в группах животных, получавших густые экстракты из плодов черники кавказской и черники обыкновенной соответственно, полученные с добавлением кислоты, сравнении с группой негативного контроля животных.

Противодиабетическое действие

В условиях экспериментального сахарного диабета в группе животных, получающих густой экстракт (экстрагент - спирт 70%, содержащий 1% хлористоводородной кислоты концентрированной) из плодов черники кавказской было отмечено снижение уровня глюкозы на 29,61% ($p < 0,05$) на 4-ю неделю эксперимента. При этом содержание глюкозы в моче увеличилось в сравнении с группой негативного контроля на 25,87% ($p < 0,05$), как и в группе, получавшей дапаглифлозин. Диурез увеличился на 2-й неделе на 15,52% ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Научные данные о степени изученности химического состава и фармакологической активности плодов черники кавказской позволяют сделать вывод о необходимости более детального фитохимического анализа плодов черники кавказской и перспективы разработки нормативного документа на новый вид ЛРС – «Черники кавказской плоды»;

2. Проведен сбор плодов черники кавказской из пяти мест естественного произрастания на территории Северного Кавказа, для которых определен оптимальный режим сушки с консервацией ведущей группы БАС (антоцианов). Рекомендуются естественная воздушно-теневая сушка или искусственная конвективная сушка в сушильном шкафу при температуре не выше 40°C.

3. Впервые проведен комплексный, сравнительный фитохимический анализ плодов черники кавказской и черники обыкновенной получены и идентифицированы:

➤ Фенольные соединения: обнаружены фенилпропаноиды, а именно производные кофеилхинной и ферулоилхинной кислоты, флавоноиды, преимущественно производные мирицетина (для черники кавказской) и кверцетина (для черники обыкновенной); в том числе антоцианов, доминирующими среди которых являются мальвидин-3-глюкозид и дельфинидин-3-глюкозид, и их агликонов с доминирующим компонентом – цианидином. Установлено количественное содержание дубильных веществ в плодах черники кавказской, которое колебалось от 3,19 до 6,70 % в пересчете на танин, а для черники обыкновенной плодов – 4,21 %;

➤ Жирные кислоты: преобладают насыщенная пальмитиновая кислота, а также ненасыщенные линолевая, линоленовая и олеиновая кислоты. Мажорными по содержанию для плодов черники обыкновенной являются пальмитиновая, линолевая, линоленовая, олеиновая и миристиновая кислоты.

➤ Профиль органических кислот: большая доля лимонной, леулиновой, транс,транс-2,4-гептадиеновой кислот. Для плодов черники обыкновенной доминировали - лимонная, леулиновая, транс,транс-2,4-гептадиеновая и яблочная; 16 аминокислот, в плодах черники обыкновенной – 17-я аминокислота цистин, доминирующей является глутаминовая;

➤ Минеральные элементы: в ЛРС и золе установлено наибольшее содержание калия, фосфора и кальция, марганца, бария и рубидия;

➤ Моносахаридный состав полисахаридных фракций: ВРПС (2,70% и 3,62% соответственно) и ПВ (0,67% и 1,82% соответственно), основными по количественному содержанию в ВРПС плодов черники являются галактоза и арабиноза, в ПВ – галактуроновая кислота и галактоза. Рассчитаны физико-химические параметры полисахаридных фракций. Наибольшую молярную массу имеют ВРПС из плодов черники обыкновенной (МВРПС = 11263.82 г/моль) и ПВ из плодов черники кавказской (МПВ = 12289.95 г/моль). Макромолекулы ВРПС и ПВ находятся в электронейтральном состоянии при значении рН среды меньше 7. Молекулы не влияют на поверхностное натяжение на границе двух фаз, но при этом обладают проникающей способностью между гидрофильной и липофильной средами. Полученные результаты для черники кавказской были сопоставимы с фармакопейным видом – черникой обыкновенной;

4. Впервые установлены показатели подлинности плодов черники кавказской:

➤ Внешние и микроскопические признаки, в том числе в сравнении с плодами черники обыкновенной. Плоды черники кавказской имеют большие размеры всех диагностических признаков, при этом к отличительными можно отнести большее количество и размеры друз оксалата кальция в паренхиме, при этом в виде обкладки вдоль проводящих пучков более мелкие.

➤ Сравнительный анализ петиолярной анатомии плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной позволил выявить отличительные признаки - ребристая структура в поперечном сечении, наличие одноклеточных или двухклеточных волосков, развитый до трех слоев колленхимный слой, сильно пигментированный гиподермальный слой и наличие вторичных проводящих элементов в виде небольшого пучка в коровой части.

➤ Предложена и валидирована методика определения основной группы биологически активных веществ – антоцианов – с определением основного компонента цианидин-3-глюкозида методом тонкослойной хроматографии. При этом анализ, возможно, проводить в один цикл пробоподготовки: одно извлечение, полученное экстракцией измельченного сырья до 2 мм спиртом этиловым 70%, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, можно использовать для определения основной группы биологически активных веществ методом ТСХ и количественного определения. Анализ методом ТСХ рекомендуется проводить в системе растворителей муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65), используя хроматографические силикагелевые аналитические пластинки на полимерной или алюминиевой основе. Объем пробы испытуемого извлечения, наносимый на пластинку, составляет 10 мкл, объем раствора СО цианидин-3-глюкозида – 10 мкл; время насыщения хроматографической камеры – 30 минут. При этом на хроматограмме испытуемого раствора могут наблюдаться 3-4 зоны адсорбции розовой или сине-фиолетовой окраски в видимом свете.

5. Впервые установлены и обоснованы показатели качества плодов черники кавказской, а именно влажность – не более 13%, зола общая – не более 3%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70%, – не менее 33%; посторонние примеси: другие части растения – не более 0,25%, плоды недозревшие, твердые или пригоревшие – не более 1%, органическая примесь – не более 2% и минеральная примесь – не более 0,3%.

6. Впервые разработана и валидирована методика количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид методом спектрофотометрии в плодах черники кавказской. Установлен нижний предел содержания суммы антоцианов на основе результатов анализа пяти образцов плодов черники кавказской из разных мест естественного произрастания – не менее 0,5% суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид. В одном образце сырья в

течение трех лет контролировали показатели качества для установления срока годности сырья, который составляет 2 года;

7. Густые экстракты из плодов черники кавказской и черники обыкновенной оказывают нейропротекторное и гипогликемическое действие в условиях экспериментальных моделей глаукомы и стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета соответственно. Механизмы действия, посредством которых реализуются целевые виды активности, могут быть связаны с нормализацией антиоксидантного статуса клеток (нейропротективный эффект) и повышением выведения глюкозы почками (гипогликемическое действие).

8. Впервые на основании комплексных фармакогностических исследований разработан проект фармакопейной статьи на перспективный вид ЛРС «Черники кавказской плоды».

9. Таким образом, на основе комплексного фитохимического исследования выявлены дальнейшие перспективы, научно обоснована целесообразность использования плодов черники кавказской наряду с фармакопейным видом ЛРС «Черники обыкновенной плоды».

Рекомендации

Разработанные методики в результате комплексного фармакогностического исследования плодов черники кавказской могут быть использованы в учебном и научном процессе, что подтверждается актами внедрения в учебный процесс по дисциплинам «Фармакогнозия», «Фармакология», а также в научный процесс кафедр фармацевтических факультетов ВУЗов.

Результаты исследования использованы при разработке инструкции по заготовке и сушке плодов черники кавказской. Разработан проект фармакопейной статьи «Черники кавказской плоды», представленный в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Результаты исследования также изложены в виде патента на изобретение РФ (заявка № 2025121507/20(050601) от 04.08.2025).

Перспективы дальнейшей разработки

Результаты комплексного исследования плодов черники кавказской выявили схожесть химического состава и фармакологической активности сырья двух видов черники (черники обыкновенной и черники кавказской), что открывает перспективу для разработки единого проекта фармакопейной статьи, допускающей к заготовке оба близкородственных вида. Полученные результаты, в свою очередь, позволят использовать сырье черники кавказской наряду с черникой обыкновенной для производства уже зарегистрированных лекарственных растительных препаратов и БАДов, что будет способствовать реализации программы импортозамещения и обеспечению фармацевтической промышленности России отечественным доступным сырьем для разработки безопасных и эффективных растительных препаратов для коррекции глаукомы и сахарного диабета 2-го типа.

Результаты фармакогностического исследования, определения основных групп БАС и их доминирующих компонентов позволяют совершенствовать существующие фармакопейные методики, а также разрабатывать и/или модифицировать методики анализа для впервые введенных проектов ФС на новый вид сырья. Результаты исследований, направленных на расшифровку химического профиля основных групп БАС и их компонентного состава, являются основополагающими для формирования методологии их получения, что в свою очередь, открывает перспективы для технологических и фармакологических исследований, результатом которых станет расширения ассортимента эффективных отечественных препаратов растительного происхождения.

Перспективным аспектом представленного исследования, описанного в данной диссертационной работе, является установление критериев и разработка норм качества «Черники кавказской плоды».

Результаты доклинических исследований по выявлению новых видов активности для сырья черники кавказской и черники обыкновенной открывают дальнейшие перспективы к проведению клинических испытаний, а также расширению перечня показаний к медицинскому применению исследуемых видов ЛРС.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ибаева, Х.А. Определение некоторых показателей качества и содержания дубильных веществ в плодах черники кавказской / Х.А. Ибаева, А.А. Шамилов, Е.Р. Гарсия // Университетская наука: сборник трудов. – Курск: 2022. – С. 50-52.
2. Ибаева, Х.А. Сравнительная характеристика физико-химических свойств полисахаридов, выделенных из плодов черники кавказской и черники обыкновенной / Х.А. Ибаева [и др.] // Химия растительного сырья. – 2024. - № 4. – С. 89-99.
3. Ибаева, Х.А. Элементный состав плодов черники кавказской и черники обыкновенной / Х.А. Ибаева [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27, № 11. – С. 85-89.
4. Ибаева, Х.А. Первичные метаболиты плодов черники кавказской и черники обыкновенной / Х.А. Ибаева, А.А. Шамилов // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2024. - № 4. – С. 95-101.
5. Ибаева, Х.А. Внешние и микроскопические признаки плодов черники кавказской и черники обыкновенной / Х.А. Ибаева [и др.] // Фармация - 2025. - № 7. – С.13-18.
6. Ибаева, Х.А. Антоциановый профиль и нейропротекторное действие плодов черники кавказской и черники обыкновенной в условиях экспериментальной глаукомы у крыс / Х.А. Ибаева [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2025. – Т. 28, № 9. – С.70-79.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БАС – биологически активные соединения
 БИН РАН – ботанический институт российской академии наук
 ВРПС – водорастворимые полисахариды
 ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
 ВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектором и $3q$ -детектором с ионизацией электрораспылением и масс-детектором
 ГФ РФ – Государственная Фармакопея Российской Федерации
 ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектором
 ИЭР/МС – ионизация электрораспыления с масс-спектрофотометрическим детектором
 ЛРП – лекарственные растительные препараты
 ЛРС – лекарственное растительное сырье
 ПВ – пектиновые вещества
 ПТСХ-АФ-Ф-УФ – пластовая тонкослойная хроматография на аналитической основе с ультрафиолетовым люминофором
 ПТСХ-П-А-УФ – пластовая тонкослойная хроматография на полимерной основе с ультрафиолетовым люминофором
 СО – стандартный образец
 ТБК-АП - 2-тиобарбитуровая кислота
 ТСХ – тонкослойная хроматография
 ДМД - диодно-матричный детектор
 ФС – фармакопейная статья
 ЧК – черника кавказская
 ЧО – черника обыкновенная