

ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ - ФИЛИАЛ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ИБАЕВА ХАДИЖАТ АЛЬВИЕВНА

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

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
Шамилов Арнольд Алексеевич
доктор фармацевтических наук,
доцент

Пятигорск – 2026

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ <i>VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS L.</i>	19
1.1. Ботаническая характеристика черники кавказской.....	19
1.2. Химический состав черники кавказской.....	21
1.3. Фармакологические свойства черники кавказской.....	34
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1.....	50
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
2.1. Объекты исследования.....	51
2.2. Оборудование и реактивы.....	52
2.3. Выделение полисахаридов.....	56
2.4. Хроматографические методы.....	56
2.4.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография.....	56
2.4.1.1. Фенольные соединения.....	56
2.4.1.2. Антоцианы.....	57
2.4.1.3. Моносахариды.....	58
2.4.2. Газовая хроматография.....	60
2.4.3. Тонкослойная хроматография.....	61
2.4.4. Ионообменная хроматография.....	61
2.5. Спектрометрические методы.....	62
2.5.1. Спектрофотометрия в видимом диапазоне.....	62
2.5.2. Масс-спектрометрия.....	62
2.6. Физико-химические методы.....	63
2.6.1. Оптическая микроскопия.....	63
2.6.2. Вискозиметрия, кондуктометрия, поверхностная активность, гравиметрия и титрование.....	63
2.7. Фармакологические исследования.....	64
2.7.1. Нейропротекторное действие в условиях экспериментальной глаукомы у крыс.....	64
2.7.2. Антидиабетическая активность.....	65

2.8. Статистические методы.....	66
ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ И ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ ПЛОДОВ.....	67
3.1. Фенольные соединения черники кавказской и черники обыкновенной плодов.....	67
3.2. Антоцианы черники кавказской и черники обыкновенной плодов	70
3.3. Жирные и органические кислоты черники кавказской и черники обыкновенной плодов.....	74
3.4. Полисахариды черники кавказской и черники обыкновенной плодов	79
3.5. Элементный состав черники кавказской и черники обыкновенной плодов.....	90
3.6. Аминокислотный состав черники кавказской и черники обыкновенной плодов.....	97
3.7. Дубильные вещества черники кавказской и черники обыкновенной плодов.....	100
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3	102
ГЛАВА 4. ПОДЛИНОСТЬ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ ПЛОДОВ	105
4.1. Внешние признаки	105
4.2. Микроскопические признаки.....	107
4.3. Сравнительная характеристика плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной.....	110
4.4. Определение основной группы биологически активных соединений	119
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4	127
ГЛАВА 5. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ ПЛОДОВ....	129
5.1. Показатели качества	129
5.2. Количественное определение суммы антоцианов.....	130
5.3. Валидационная оценка	134
5.4. Определение режима сушки	139
5.5. Определение сроков годности	140
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5	143

ГЛАВА 6. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЛОДОВ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ И ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ	144
6.1. Нейропротекторное действие	144
6.2. Антидиабетическое действие	148
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 6	152
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	153
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	159
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	161
ПРИЛОЖЕНИЕ	178
Приложение 1. Инструкция по сбору и сушке черники кавказской плодов	178
Приложение 2. Акты внедрения результатов исследовательской работы....	184
Приложение 3. Основные структурные формулы черники кавказской и черники обыкновенной.....	196

ВВЕДЕНИЕ

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 гиполипидемической (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 наряду 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 – фенилпропаноиды – производные кофеилхинной и ферулоилхинной кислот, десять – флавоноиды – производные мирицетина, 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 Ташлицкому 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 (БИИ 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.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ *VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L.

1.1. Ботаническая характеристика черники кавказской

Род *Vaccinium* L. на территории Кавказа представлен двумя видами: черникой обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) и черникой кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.). Черника кавказская по пищевой и лекарственной ценности приравнивается к чернике обыкновенной [12].

Черника кавказская (*Vaccinium arctostaphylos* L.), черничник кавказский – кустарник или дерево высотой до 2-3 м. Стебли круглые, листья очередные, сидячие, 6-8 см длиной, продолговатой и яйцевидно-продолговатой формы, с мелкозубчатым краем, основание и верхушка листа сужены. Цветки в соцветиях – негустые кисти. Цветки на длинных цветоножках, кисти расположены в пазухах мелких яйцевидных листочков. Цветки с двойным околоцветником, венчик бело-красный, колокольчато-цилиндрический, из 5 лепестков почти сросшихся лепестков, венчик намного крупнее чашечки [44].

Фидарова А.Ч. с соавторами на территории Республики Северная Осетия–Алания провела ресурсные исследования, в ходе которых выявила, что черника кавказская преимущественно размножается вегетативно (подземными побегами), реже семенным способом [39]. При этом образующиеся клоны при вегетативном размножении занимают обширные площади. Черника кавказская только на территории Республики Северная Осетия-Алания образует около 1049 га зарослей, площадь плодоносящих зарослей составляет 249,5 (23,8%) га. Вегетация черники кавказской начинается в марте-апреле, цветение в облиственном состоянии - в мае-июне, массовое созревание плодов – в августе-сентябре. Сроки вегетации варьируют с градиентом над уровнем моря. На территории Северного Кавказа для данного вида характерно вторичное цветение [42]. Надземная часть черники кавказской чаще моложе ее подземной части; возраст побегов достигает до 20-25 лет, которые сменяют друг друга при сохранении и нарастании корневой системы. В генеративном состоянии в основном побеги пребывают в возрасте

7-15 лет [40]. Плотность вегетативных растений достигает 20000 шт/га, генеративных около 1000 шт/га. Количество семян достигает 20 млн. шт/га. Всхожесть семян в лабораторных условиях варьируется от 20 до 42% [41]. Биологическая урожайность варьируется от 250 до 800 кг/га. Биологические ресурсы вида достигают до 69 тонн [39, 41, 43].

Генетические исследования тандемных сателлитных повторов в геноме четырех видов рода *Vaccinium* L. провели Sultana N. с коллегами используя в анализе молодые свежие листья. Сателлитные повторы – участки ДНК, чаще не кодирующие белки, но представленные часто повторяющимися последовательностями нуклеотидов. Именно на таких участках возможны мутации, поэтому они могут быть маркерами определенных видов. В исследовании использовали листья черники обыкновенной и голубики обыкновенной с диплоидным набором хромосом, листья голубики высокорослой и черники кавказской с тетраплоидным набором хромосом, собранные в горах Качкар (г. Ризе, Турция) летом 2016-2018 гг. В работе описано распределение и частота встречаемости шести сателлитов. Данные, полученные в ходе исследований, можно использовать в качестве маркеров генома рода *Vaccinium* L. [122].

Ботанические исследования различных частей черники кавказской проводились Nickvar B. с соавторами [100]. Растение собрано в лесном районе Асалема на севере Ирана в августе 2000 г., авторы применяли оптическую и стереоскопическую микроскопию. Результаты показали, что органы черники кавказской имеют как розеточные, так и призматические кристаллы оксалата Са, а также кутикулизованные полигональные клетки, рыжеватые устьица, покровные и железистые трихомы [100].

Кроме описанных видов черник известна черника черемухолистная или черника мелколистная (*Vaccinium padifolium* Hochst. ex Steud.) – эндемик архипелага Мадейра. Представляет собой сильноветвистый полукустарник высотой до 6 метров, листья продолговатые длиной до 7 см, краснеющие осенью. Листья на коротких черешках, чашечка из 5 коротких и широких

листочков, цветки собраны в пазушные кисти, имеют изогнутые цветоножки, а также венчик колокольчатого вида, лепестки короткие, белого цвета с розовыми полосами. Плоды - ягоды сине-черного цвета. Плоды и сок из них используется при бронхолегочных заболеваниях, дизентерии, из плодов получают субстанции для производства офтальмологических препаратов [112].

Эндемик Сахалина, Курильских островов и Японии черника Смолла (*Vaccinium smallii* A.Gray) растет в хвойных и смешанных лесах, является листопадным кустарником до 1 метра высотой с продолговато-яйцевидными листьями до 6 см длиной, с нижней стороны по главной жилке опушены. Цветки в кистях на концах побегов, плоды – сине-черные ягоды до 7 мм в диаметре [94].

Черника тычиночная (*Vaccinium stamineum* L.) произрастает преимущественно в Северной Америке, отличается от других видов черник выступающими из венчика длинными желтыми тычиночными нитями, несущих трубчатые пыльники, и наличием столбика, которые превышает по длине тычинки. Растение представляет собой кустарник высотой до 3 метров, стебли имеют красноватую шелушащуюся кору, цветки в пазушных кистях, венчик белый, плоды до 1 см в диаметре, ягода зелёного или жёлтого цвета с фиолетовым оттенком [110].

1.2. Химический состав черники кавказской

Первые исследования фенольных соединений листьев и незрелых плодов черники кавказской проведены группой ученых Мжаванадзе В.В. и соавторами [21–28]. Обнаружены гликозиды кемпферола, кумарины, фенолокислоты и их производные.

В 2001 г. Chkhikvishvili I.D. и Kharebava G.I. определили содержание циклориевой и хлорогеновой кислот в трех растениях флоры Грузии, в том числе в листьях черники кавказской [71]. Преобладает в листьях хлорогеновая кислота, содержание которой определяли методом высокоэффективной

жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектором (ВЭЖХ-УФ). В коммерческих образцах листьев обнаружено 1,02% хлорогеновой кислоты и 0,14% цикориевой кислоты, в плодах – 0,16% хлорогеновой кислоты и 0,04% цикориевой кислоты. При этом в образце листьев авторов работы, которых подвергали консервации паром, обнаружено 14,21% хлорогеновой кислоты и 0,71% цикориевой кислоты [71].

В 2002 г. иранские ученые Nickavar В. и Amin Gh. выделили эфирное масло из цветущей надземной части черники кавказской в аппарате Клевенджера [102]. Состав эфирного масла определяли методом газовой хроматографии с масс-спектрометром (ГХ-МС). Ученые идентифицировали 26 соединений, среди которых мажорными были α -терпинеол (14,99%), линалоол (13,7%), транс- β -ионон (7,53%), тимол (6,54%) и гераниол (6,27%) [102].

В 2004 г. та же группа иранских ученых выделила из плодов черники кавказской дельфинидин-3-О- β -глюкозид, петунидин-3-О- β -глюкозид, мальвидин-3-О- β -глюкозид [101]. Для этого плоды экстрагировали смесью метанол-ледяная уксусная кислота-вода (70:2:28) методом мацерации. Далее проводили экстракцию этилацетатом профильтрованного и концентрированного извлечения. Разделение антоцианов в одной фракции проводили методом нисходящей бумажной хроматографии, структуру соединений из зон адсорбции определяли по УФ-, масс-спектрам и спектрам ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектры). Природу сахарных остатков определяли после кислотного гидролиза методом тонкослойной хроматографии [101].

Турецкие ученые Ayaz F.A. и др. в 2005 году определяли состав фенолокислот в плодах черники кавказской, собранных с разных частей кустов от шести популяций вблизи городов Гиресун, Трабзон, Ризе и Артвин, на северо-востоке Анталии (Турция) в августе 2001 и 2002 г.г. [59]. До анализа плоды хранились в контейнере со льдом при температуре ниже 5°C, затем их помещали в жидкий азот и хранили несколько дней при - 40°C до экстракции.

При экстракции плоды обрабатывали жидким азотом и извлекали 80% метанолом с добавлением антиоксиданта 2,6-ди-трет-бутил-*p*-крезол (ВНТ) с помощью электрического высокоскоростного блендера, фильтровали и концентрировали в вакууме. Анализ проводили методом ВЭЖХ-масс-спектрометрии. Идентифицировано 13 соединений: галловая, протокатеховая, *p*-гидроксибензойная, *m*-гидроксибензойная, гентизиновая, хлорогеновая, *p*-кумаровая, кофейная, феруловая, сиреневая, синапиновая, салициловая и транскоричная кислоты, где преобладает кофейная кислота в свободном и нерастворимом состоянии, связанной с эфиром и *p*-кумаровой кислотой в виде растворимого эфира и гликозида. Из них 7 – производные гидроксибензойной кислоты (ГБК), а 4-гидроксикоричной (ГКК). Суммарное содержание ГБК и ГКА в четырех выделенных фенольных фракциях составило 30,1 и 69,9% свободных кислот, 27,9 и 72,1% в эфирной фракции, 24,7 и 75,3% в гликозидной форме, 51,7 и 48,3% связанной эфирной формы соответственно. Следовательно, плоды можно использовать как источник фенольных кислот [59].

Гогмачадзе И.Д. с соавторами провели ресурсоведческие исследования на базе Кобулетской опытной станции лекарственных растений Института фармакохимии АН Грузии в течение трех лет [8]. Установлен объем возможных ежегодных заготовок листьев черники кавказской как сырья, альтернативного чернике обыкновенной. В воздушно-сухих листьях, высушенных при 50-60°C установили содержание суммы дубильных веществ – 14,5-25,8%, причем их содержание было стабильным в течение трех лет. Влажность сырья была 11,7-13,7% [8].

Lätti A.K. вместе с соавторами в 2009 году проанализировали антоциановый состав плодов черники кавказской, собранных на северо-востоке Анталии, в окрестностях городов Артвин, Ризе, Трабзон, Гюмюшхане, Орду в августе 2006, 2007 и 2008 г.г. [93]. Плоды выдерживали при температуре ниже 5°C до их полной лиофилизации до постоянной сухой массы и хранили в нейлоновых коробках, содержащих силикагель, в

морозильной камере (-20°C) до проведения анализа. Экстракцию проводили смесью из 10% растворителя А (ацетонитрил-метанол 85:15 по объему) и 90% растворителя В (8,5% водный раствор муравьиной кислоты). Идентификацию компонентов проводили методом ВЭЖХ с матрично-диодным детектором и масс-спектрометрией с ионизацией электрораспылением. По итогам исследований обнаружено 19 антоцианов, представленные пятью агликонами (дельфинидин, цианидин, петунидин, пеонидин и мальвидин), гликозилированных галактозой, глюкозой и арабинозой. Исследование впервые показало, что плоды *V. arctostaphylos* являются богатым источником антоцианов и их можно отличить от других сине-черных ягод *Vaccinium spp.* по их уникальному составу антоцианов, например, по высокой доле конъюгатов дельфинидина (41%) и глюкозидов (61%) в дополнение к дигликозидам, которые предварительно были идентифицированы как антоцианидиновые самбубиозиды [93].

Иранские ученые (Kianbakht S. и др.) спектрофотометрически определили содержание суммы антоцианов в полученном сухом остатке из водно-спиртового извлечения (спирт этиловый 70%) из воздушно-сухих плодов черники кавказской– 86,56 мг/10 г сухого остатка [89].

Грузинская группа ученых подобрала оптимальные условия экстракции антоцианов из плодов черники кавказской [45]. Экстрагентом предложено использовать спирт этиловый 40%, разбавленный кислыми гидрокарбонатно-натриевыми минеральными водами с содержанием борной кислоты с рН 3,5-4,5 и минерализацией до 15 мг/л [45].

В 2016 г. Таланов А.А. представил результаты определения состава плодов черники кавказской, собранной в окрестностях г. Сочи, методом ГХ-МС [38]. В метанольном извлечении обнаружено 29 соединений, среди которых мажорными были глицерин, яблочная и линолевая кислота, глюкоза, пальмитиновая и олеиновая кислоты, β -ситостерол, α -линоленовая и янтарная кислоты [38].

Иранские ученые Ravan A.P. и др. в 2017 году из воздушно-сухого сырья получали извлечение экстракцией 75% метанолом в течение 24 часов при комнатной температуре и периодическом перемешивании [109]. Далее извлечение инкубировали до полного высыхания. Содержание суммы фенольных соединений устанавливали методом Фолина-Чокальтеу, суммы флавоноидов – методом спектрофотометрии по реакции флавоноидов с алюминия хлоридом при длине волны 415 нм в пересчете на кверцетин. Содержание суммы фенольных соединений составило $48,5 \pm 1,43$ мг в пересчете на галловую кислоту в 100 г извлечения, суммы флавоноидов – $18,53 \pm 0,55$ мг в пересчете на кверцетин в 100 г извлечения [109].

Jooyandeh H. с соавторами выделили полисахариды из плодов черники кавказской, высушенных при 45°C [87]. Измельченные плоды экстрагировали спиртом этиловым 80% при 60°C на водяной бане в течение 2 часов для удаления спирторастворимых соединений (свободные сахара, жиры, пигменты), инактивации ферментов. Далее шрот экстрагировали водой несколько раз в ультразвуковой бане. Далее объединенное извлечение фильтровали и центрифугировали. Полисахариды осаждали тремя объемами спирта этилового 96%, выдерживали 48 часов при 4°C , центрифугировали, высушивали при 50°C до постоянного веса. Установлен молекулярный вес, после кислотного гидролиза трифторуксусной кислотой определен мономерный состав полисахаридов методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Функциональные группы были определены методом инфракрасной спектроскопии с Фурье преобразованием. Определены оптимальные условия ультразвуковой экстракции полисахаридов, при которой выход полисахаридов составил 13,61%, содержание белка в них – 2,05%, углеводов – 78,5%, урсонных кислот – 18,3%. Молекулярный вес полисахаридов составил 352 кДа. Методом ГХ-МС установлено присутствие L-арабинозы, D-галактозы, ксилозы, глюкозы и рамнозы (48,28%, 25,87%, 16,23%, 7,71% и 1,83% соответственно). Содержание антоцианов составило 10,16 мг/г сырья в пересчете на цианидин-3-глюкозид, фенольных соединений

- 0,43 мг/г сырья в пересчете на галловую кислоту, флавоноидов – 0,58 мг/г сырья в пересчете на кверцетин [87].

В 2019 году группа ученых (Mohtashami R и др.) получила сухой остаток водно-спиртового извлечения (спирт этиловый 70%, содержание сухого остатка 15%) из воздушно-сухих листьев черники кавказской [98]. В сухом остатке определяли содержание суммы фенольных соединений (метод Фолина-Чокалтеу в пересчете на галловую кислоту), флавоноидов (спектрофотометрия после реакции с алюминия хлоридом, в пересчете на рутин), антоцианов (спектрофотометрия, в среде хлористоводородной кислоты); определили так же содержание хлорогеновой кислоты и кверцетина методом ВЭЖХ в изократическом режиме. Сумма фенольных соединений составила $175 \pm 1,59$ мг/г сухого остатка в пересчете на галловую кислоту, сумма флавоноидов - $340 \pm 0,8$ мг/г в пересчете на рутин, сумма антоцианов – $0,738 \pm 0,005$ мг/г, хлорогеновой кислоты – $97,15 \pm 0,9$ мг/г, кверцетина – $22,36 \pm 0,5$ мг/г [98].

Группа ученых из Турции (Barut B. и др.) получила из воздушно-сухих плодов черники кавказской три извлечения экстракцией сырья спиртом этиловым, спиртом метиловым и водой [63]. Экстракцию проводили в течение 6 часов трижды, затем удаляли растворители при пониженном давлении до сухих остатков. Определяли содержание суммы фенольных соединений (реагент Фолина-Чокалтеу в пересчете на галловую кислоту), антоцианов (спектрофотометрия, в пересчете на цианидин-3-глюкозид), флавоноидов (спектрофотометрия после реакции с алюминия нитратом в пересчете на кверцетин). Наибольшее содержание всех групп фенольных соединений обнаружено в извлечении, полученном экстракцией спиртом этиловым: сумма фенольных соединений – 44,42 мг/г в пересчете на галловую кислоту; сумма антоцианов – 8,46 мг/г сухого веса в пересчете на цианидин-3-глюкозид [63].

Иранские ученые Mehrzadi S. и др. получали сухие остатки из извлечений при экстракции травы черники кавказской, каперсов колючих, расторопши пятнистой, секироплодника мечевидного, крапивы двудомной,

пажитника сенного, шиповника собачьего [95]. Сухой остаток стандартизировали по содержанию флавоноидов (спектрофотометрия после реакции с алюминия хлоридом в пересчете на кверцетин), суммы фенольных соединений (спектрофотометрия с реактивом Фолина-Чокалтеу в пересчете на галловую кислоту). Готовили капсулы с сухими остатками из растений. Сухая смесь остатков из выбранных растений содержала 177,28 мг/г суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин, суммы фенольных соединений– 99,20 мг/г в пересчете на галловую кислоту [95].

Группа российских ученых (Шамилов А.А. и соавторы) установили состав фенольных соединений листьев черники кавказской, высушенных конвективной сушкой при температуре 40°C в сушильном шкафу, в сравнении с листьями черники обыкновенной [117]. Методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектором (ДМД) и 3Q-детектором с ионизацией электрораспылением (ИЭР/МС) было обнаружено 11 соединений с преобладанием 5-кофеилхинной кислоты (105,32 и 226,85 мг/г сухого остатка в листьях черники кавказской и черники обыкновенной соответственно), среди флавоноидов основными были производные кверцетина [117].

В плодах черники мелколистной установлен состав компонентов эфирного масла методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором. Профиль терпеновых соединений включал цис-β-оцимен, транс-2-гексенол, цис-3-гексенол, β-мирцен, 1-гексанол, 2-гексенал, 2-гептанон, линалоол [108]. Также в плодах и листьях обнаружено высокое содержание фенольных соединений, среди которых мажорными являются производные дельфинидина, петунидина, мальвидина; 5-О-кофеилхинная, кофейная кислота, производные кумаровой кислоты, метилэллаговой кислоты, кверцетина и мирицетина, катехин, эпигаллокатехин [67, 80, 81].

Листья черники Смолла содержат кверцетин, кверцитрин, авикулярин, кверцетин-ксилорамнозид, кверцетин-3-арабинозид, гиперин, изокверцитрин, кофейную и хлорогеновую кислоты [94].

Плоды черники тычиночной накапливают стильбены, группу фенольных соединений, а именно ресвератрол, птеростильбен, пицеатанол, которые могут обуславливать противоопухолевое и антиоксидантное действие [110]. В плодах установлено содержание ресвератрола, цианидин-3-галактозида, цианидин-3-глюкозида, цианидин-3-арабинозида, пеонидин-3-глюкозида, кофейной и п-кумаровой кислот, кверцетин-3-галактозида, кверцетин-3-рамнозида, кемпферола [61, 62].

Основные структурные формулы БАС представлены в приложении 3.

Сравнительные сведения литературных данных о химическом составе плодов черники кавказской и фармакопейного вида - черники обыкновенной - представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительные сведения о химическом составе плодов черники кавказской и черники обыкновенной

Класс соединений	Черники кавказской плоды		Черники обыкновенной плоды	
	Соединение	Источник	Соединение	Источник
Флавоноиды (в т.ч. антоцианы)	Кемпферол	[21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 93, 101]	Мирицетингексозид	[55, 75, 99, 107, 121, 131, 135, 138, [34, 35, 55, 70, 72, 75, 99, 107, 121, 131, 135, 138]
	Кверцетин		Мирицетинпентозид	
	Дельфинидин-самбубиозид		Мирицетин-3-глюкуронид	
	Дельфинидин-арабинозид		Мирицетин-3-рамнозид	
	Дельфинидин-ксилозид		Ларицитрин-3-галактозид	
	Дельфинидин-галактозид		Ларицитрин-3-глюкозид	
	Дельфинидин-глюкозид		Ларицитрин-3-глюкуронид	
	Петунидин-глюкозид		Сирингетин-3-галактозид	
	Мальвидин-глюкозид		Сирингетин-3-глюкозид	
	Мальвидин-галактозид		Изорамнетин-3-арабинозид	
	Мальвидин-арабинозид		Изорамнетин-3-галактозид	
	Мальвидин-ксилозид		Изорамнетин-3-глюкозид	
	Цианидин-галактозид		Кверцетин-3-арабинозид	
	Цианидин-глюкозид		Кверцетин-3-рамнозид	
	Цианидин-арабинозид		Кверцетин-7-рамнозид	
	Пеонидин-галактозид		Кверцетин-3-галактозид	
	Пеонидин-глюкозид		Кверцетин-3-глюкуронид	
	Пеонидин-арабинозид		Кверцетин-3-глюкозид	
Пеонидин-ксилозид	Кверцетин-3-(6"-ацетил)-глюкозид			
	Кверцетин-3-пентозид			
	Кверцетин-3-рутинозид			
	Кемпферол-3-глюкозид			
	Кемпферол-3-глюкуронид			

			Кемпферол-3-(6"-ацетил)- глюкозид Кемпферол-3-рамнозид Катехин Эпикатехин Дельфинидин-3-глюкозид Дельфинидин-3-арабинозид Дельфинидин-3-галактозид Цианидин-3-глюкозид Цианидин-3-галактозид Петунидин-3-галактозид Петунидин-3-арабинозид Петунидин-3-глюкозид Пеонидин-3-галактозид Пеонидин-3-глюкозид Пеонидин-3-арабинозид Мальвидин-3-галактозид Мальвидин-3-арабинозид Мальвидин-3-глюкозид	
Простые фенолы, полифенолы			Ресвератрол	[54]
Кумарины	Сумма кумаринов	[21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28]	Умбелиферон Эскулетин	[54, 130, 132]
Фенолокислоты	Галловая кислота Протокатеховая кислота п-гидроксibenзойная кислота	[38, 59]	Дикофеилхинная кислота 4-О-кофеилхинная кислота транс-5-О-кофеилхинная кислота	[55, 75, 99, 107, 121,

	<p>м-гидроксibenзойная кислота Гентизиновая кислота Хлорогеновая кислота Кофейная кислота Феруловая кислота Салициловая кислота Транс-коричная кислота Сиреневая кислота Синаповая кислота п-кумаровая кислота</p>		<p>цис-5-О-кофеилхинная кислота Кофейная кислота Хлорогеновая кислота 3-п-кумарилхинная кислота 4-п-кумарилхинная кислота 5-п-кумарилхинная кислота Галловая кислота Эллаговая кислота Феруловая кислота Протокатеховая кислота Сиреневая кислота Ванилиновая кислота</p>	124, 131, 135, 138]
Эфирное масло	<p>α-терпинеол Линалоол Транс-β-ионон Тимол Гераниол</p>	[102]		
Моносахариды	<p>L-арабиноза D-галактоза Ксилоза Глюкоза Рамноза Сахароза</p>	[38, 87]	<p>Глюкоза Фруктоза Сукроза Ксилоза Галактоза Фукоза</p>	[85, 115]
Органические кислоты	<p>Молочная кислота Гликолевая кислота Левулиновая кислота Малоновая кислота Бензойная кислота</p>	[38]	<p>Щавелевая кислота Хинная кислота Шикимовая кислота Лимонная кислота Фумаровая кислота</p>	[106]

	Янтарная кислота Яблочная кислота Ксилоновая кислота Лимонная кислота			
Жирные кислоты	Пальмитиновая кислота Линолевая кислота Олеиновая кислота α -линоленовая кислота Стеариновая кислота Арахидоновая кислота Бегеновая кислота Лигноцериновая кислота Церотиновая кислота	[38]	Церотиновая кислота Каприновая кислота Лауриновая кислота Миристиновая кислота Пентадекановая кислота Пальмитиновая кислота Пальмитолеиновая кислота Стеариновая кислота Олеиновая кислота Линолевая кислота Линоленовая кислота Арахидоновая кислота Эйкозеновая кислота Арахидоновая кислота Бегеновая кислота	[106, 124, 128, 129]
Стероиды	β -ситостерол β -ситостерол-24(28)-ен Кампестерол	[38]	Ситостерол	[73]
Терпеноиды	β -амирин	[38]	α -амирин β -амирин Олеаноловая кислота Урсоловая кислота β -каротин Зеаксантин	[66, 73, 84]

			β -криптоксантин Лулеол Монотропеин Дигидромонотропеин Генипозидовая кислота Деацетиласперулозидная кислота	
--	--	--	--	--

1.3. Фармакологические свойства черники кавказской

Российские ученые Абидов М. и его коллеги провели четырехнедельное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование влияния экстракта из листьев черники кавказской на уровень глюкозы натощак, С-реактивный белок и аминотрансферазы плазмы при сахарном диабете II типа [52]. Испытуемые перорально принимали 300 мг экстракта 3 раза в день за 15-30 минут до еды. По окончании исследования выявили снижение вышеперечисленных показателей и дополнительно обнаружено противовоспалительное действие [52].

Feshani A.M. с соавторами в 2011 году исследовали воздушно-сухие измельченные плоды черники кавказской, собранные в провинции Ардебиль на северо-западе Ирана [79]. Плоды экстрагировали спиртом этиловым 96% при комнатной температуре 12 часов, далее удаляли экстрагент и после лиофилизации получали 19% суммы экстрактивных веществ. Этот остаток использовали в эксперименте с аллоксан-диабетическими самцами крыс Wistar. Остаток вводили двумя способами подкожно и перорально. При подкожном введении исследовали влияние извлечения на уровень постпрандиальной глюкозы крови (ПГК) через 1, 3, 5, 8 и 24 часа после однократного введения дозы. Препаратом сравнения была акарбоза (20 мг/кг), через 48 часов проводили пероральный глюкозотолерантный тест. Затем ПГК измеряли в конце 1, 2 и 3 недель после ежедневного перорального приема извлечения (200 и 400 мг/кг) в течение 3 недель. Препаратом сравнения был метформин в дозе (100 мг/кг). При пероральном приеме исследовали ингибирующую активность извлечения на α -глюкозидазу кишечника крыс, а также на активность кишечных ферментов мальтазы и сахаразы. В конце периода лечения оценивали экспрессию матричной РНК глюкозного транспортера глюкозы и инсулина в сердце и поджелудочной железе, изменения профилей липидов плазмы и активности антиоксидантных ферментов. Наблюдали усиление экспрессии генов транспортера глюкозы и

инсулина. Результаты позволили установить, что плоды черники кавказской являются мощным антидиабетическим средством, способным снижать уровень постпрандиальной глюкозы крови при его остром (снижение на 18%) и хроническом (35%) повышенном уровне; оказывать антиоксидантное действие на фоне повышения активности супероксиддисмутазы (57%), глутатионпероксидазы (35%) и каталазы (19%) крови и снижать уровень триглицеридов на 47%. По исследованиям *in vitro* выявлено ингибирующее действие извлечения на активность кишечных ферментов мальтазы и сахаразы на 47% и 56% соответственно [79].

Иранские ученые Kianbakht S. и др. в 2013 г. провели клинические испытания капсул с водно-спиртовым извлечением из воздушно-сухих плодов черники кавказской (содержание экстракта в капсуле – 350 мг) [89]. В исследовании принимали участие по 37 человек в двух группах испытуемых: группа, получающая капсулы с экстрактом из плодов черники кавказской, и группа, получающая плацебо-капсулы. В течение двух месяцев группы получали по 1 капсуле каждые 8 часов. В начале и в конце исследования проводили измерение содержания глюкозы в крови после 12-часового голодания, постпрандиальный уровень глюкозы через 2 часа после приема пищи, уровень гликированного гемоглобина, креатинина, уровень печеночных ферментов аспартат-аминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Обнаружено снижение уровня глюкозы как после голодания, так и после приема пищи через 2 часа, а также уровня гликированного гемоглобина. Влияния на ферменты печени не установлено, побочных эффектов также не обнаружено [89].

Другая группа иранских ученых (Ghorbani A. и соавторы) в том же году представили результаты влияния на развитие диабета смеси из лекарственных растений, в том числе из воздушно-сухих плодов черники кавказской [83]. У крыс индуцировали сахарный диабет инъекцией стрептозотоцином (55 мг/кг). Группа с индуцированным диабетом получала в составе диеты 15% от гранулированного рациона смесь из лекарственных растений в течение

месяца. В начале, через 2 дня и в конце эксперимента производили измерение уровня глюкозы в крови через 16 часов голодания, уровня сывороточных триглицеридов, общего холестерина, уровня печеночных ферментов аспартат-аминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Не обнаружено влияния на печеночные ферменты, наблюдали снижение уровня глюкозы, потребления воды и объема мочи, уровня триглицеридов и холестерина [83].

Kianbakht S. и др. продолжили изучение влияния капсул с водно-спиртовым экстрактом из воздушно-сухих плодов черники кавказской на уровень холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой и высокой плотности, креатинина и печеночных ферментов - аспартат-аминотрансферазы и аланинаминотрансферазы [91]. Две группы пациентов состояли из 40 человек каждая и получали по 1 капсуле с экстрактом или плацебо-капсулу каждые 8 часов в течение двух месяцев. Капсулы с испытуемым экстрактом способствовали снижению уровня холестерина на 27,6%, триглицеридов – на 19,2% , липопротеидов низкой плотности – на 26,3%, но повышали уровень липопротеидов высокой плотности на 37,5%, не влияли на уровень печеночных ферментов, креатинина без выраженных побочных эффектов [91].

В 2014 г. группа иранских ученых Soltani R и др. изучила на 54 пациентах влияние капсул с водно-спиртовым извлечением (спирт этиловый 70%, стандартизированное содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-гликозид 45 ± 2 мг) на жировой обмен [119]. В исследовании участвовали две группы – по 27 человек в испытуемой группе и плацебо-группе. Каждая группа получала во время еды капсулы с извлечением из плодов черники кавказской или капсулы-плацебо. В начале и через 4 недели приема капсул проводили измерение следующих параметров у пациентов: общее содержание холестерина натошак, триглицеридов, липопротеидов низкой и высокой плотности, содержание высокочувствительного С-реактивного белка, малонового диальдегида. В результате установлено снижение содержания общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов

низкой плотности, малонового диальдегида в группе, получавшей капсулы с суммой антоцианов; не наблюдали влияния на концентрацию липопротеидов высокой плотности и С-реактивного белка. Таким образом, плоды черники кавказской могут быть рекомендованы в составе диеты при дислипидемии и для профилактики развития атеросклероза [119].

Ученые Salehi N.A. и др. провели опрос в городах Шираз и Феса в провинции Фарс, Иран, среди представителей традиционной травяной медицины («Attarri») о применяемых растениях для лечения сахарного диабета. Было опрошено 50 травников, собрано 39 образцов растений, которые далее были идентифицированы. Из 39 видов 28 являются представителями флоры Ирана. Наиболее часто рекомендуемыми растениями была и черника кавказская (18 травников из 50 рекомендовали плоды, цветки и семена для лечения сахарного диабета [113].

Другая группа иранских ученых (Mirfeizi M. и др.) в 2015 году провела тройное слепое рандомизированное клиническое исследование с участием 105 пациентов с сахарным диабетом второго типа [96]. Участников делили на три группы: группа плацебо из 45 человек (1000 мг/день, капсулы с крахмалом); группа из 30 человек, получавшая капсулы с корицей (1000 мг/день; в капсуле содержался образец сырья, стандартизированный по содержанию эфирного масла с содержанием 91% коричневого альдегида); группа из 30 человек, получавшая капсулы с черникой кавказской (100 мг/день; плоды стандартизированы по содержанию антоцианина в 1 г порошка). Прием капсул продолжался 3 месяца, утром и вечером после еды. В начале и в конце исследования проводили забор крови у пациентов после 10-12 часового голодания и через 2 часа после приема пищи, измеряли содержание глюкозы натощак, сывороточного инсулина, гликозилированного гемоглобина, триглицеридов, общего холестерина, липопротеидов низкой и высокой плотности. Установлено, что в начале исследования во всех группах у пациентов были схожие биохимические показатели. Отмечено значительное снижение содержания глюкозы через 2 часа после приема пищи и индекса

инсулинорезистентности в группе, получавшей капсулы с черникой кавказской, в сравнении с группой плацебо. В группе, получавшей капсулы с корицей, отмечено снижение индекса массы тела [96].

Другая группа иранских ученых (Asgary S. и др.) в 2016 г. изучили влияние суммы антоцианов, полученных из плодов черники кавказской (сбор в августе 2013 года в лесах Асалема в Иране), на сывороточные факторы воспаления при атеросклерозе в клинических испытаниях на 46 пациентах [57]. Пациенты принимали капсулы с содержанием экстракта из воздушно-сухих плодов черники кавказской 500 мг (0,8 мг суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид) дважды в день во время еды в течение месяца. Группа плацебо получала капсулы с содержанием кальция фосфата трехосновного 500 мг. В крови измеряли содержание интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухолей (ФНО- α), С-реактивного белка, молекул клеточной адгезии 1-го типа и молекул адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа. Установлено, что экстракт из плодов черники кавказской снижает уровень ИЛ-6, но сопоставимо с динамикой снижения в группе плацебо. Не отмечено значимого снижения уровня остальных факторов воспаления. При этом авторы считают, что приём более высоких доз экстракта в течение более длительного периода может снижать содержание факторов воспаления в крови у пациентов с гиперлипидемией [57].

Гепатопротекторные и антиоксидантные свойства черники кавказской установили иранские ученые Ravan A.P. и др. в 2017 году на модели крыс, которым вводили 1 мл/кг четыреххлористого углерода внутривентриально [109]. Из воздушно-сухого сырья получали извлечение экстракцией 75% метанолом в течение 24 часов при комнатной температуре и периодическом перемешивании. Далее извлечение инкубировали до полного высыхания. Проверяли антиоксидантную активность в опыте с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом в сравнении с L-аскорбиновой кислотой, которая составила $IC_{50}=108,35$ мкг/мл против $IC_{50}=127,7$ мкг/мл для аскорбиновой кислоты. Оптимальная концентрация извлечения с выраженной антиоксидантной

активностью – 250 мкг/мл. Животных делили на 6 групп по 5 особей в каждой: группа нормального контроля – вводили через зонд физиологический раствор в течение недели, далее инъекция внутривенно оливкового масла через час после зонда на 8, 9 и 10 день; группа гепатотоксического контроля – вместо инъекции оливкового масла животным вводили четыреххлористый углерод (разведение 1 к 1 с оливковым маслом); группа 3 и 4 получали 200 и 400 мг/кг соответственно извлечения неделю, далее как у остальных животных инъекция оливкового масла. Группы 5 и 6 получали извлечение как группы 3 и 4, но на 8, 9 и 10 день им вводили четыреххлористый углерод (смесь с оливковым маслом). Через день после последней инъекции у животных отбирали образцы крови для получения сыворотки, а также фрагмент печени для гистологического и биохимического анализа. В сыворотке крови измеряли содержание щелочной фосфатазы, аспартат аминотрансферазы, аланин аминотрансферазы, общего и прямого билирубина, γ -глутамилтрансферазы, общего белка и альбумина колориметрическим методом. Также измеряли параметры антиоксидантной системы печени: содержание малонового диальдегида, способность плазмы крови восстанавливать железо, содержание глутатиона, глутатион пероксидазы, каталазы, а также содержание гидроксипролина. В результате эксперимента установлено дозозависимое влияние извлечения из черники кавказской на индуцированное четыреххлористым углеродом повреждение печени, которое выражается в поглощении свободных радикалов, ингибировании перекисного окисления липидов, повышении антиоксидантной активности [109].

Jooyandeh H. с соавторами выделили полисахариды из плодов черники кавказской, высушенных при 45°C, определили антиоксидантную активность с ДФПГ-реактивом, способность поглощать гидроксильные радикалы. Установлена антимикробная активность на следующих бактериальных культурах в порядке снижения антибактериальной активности: *B. panis*, *S. aureus*, *Sh. dysenteriae*, *E. coli*. Антиоксидантная активность повышалась в

эксперименте сДФПГ при увеличении концентрации полисахаридов до 15 мг/мл [87].

Bayrami A. с соавторами синтезировали наночастицы цинка оксида, полученные при смешивании спиртового извлечения из воздушно-сухих плодов черники кавказской (экстракция спиртом этиловым 96% в течение 72 часов), воды и порошка цинка нитрата при комнатной температуре и перемешивании [65]. В смесь добавляли натрия гидроксид до рН 10, помещали в микроволновую печь на 15 минут, далее центрифугировали, очищали водой и спиртом этиловым, сушили при 60°C в течение 24 часов. Параллельно получали чистые наночастицы оксида цинка для сравнения. Далее проверяли влияние наночастиц цинка оксида с извлечением из плодов черники кавказской на развитие диабета у крыс. Были определены характеристики полученных частиц различными физико-химическими методами. Диабет индуцировали инъекцией аллоксана моногидрата (170 мг/кг), животных делили на 6 групп: 1 – животные без диабета, получавшие изотонический раствор натрия хлорида; 2 – животные с диабетом, получавшие физиологический раствор; 3 – животные с диабетом, получавшие инсулин (10 МЕ/кг); 4 – животные с диабетом, получавшие синтетические частицы оксида цинка (8 мг/дл); 5 – животные с диабетом, получавшие извлечение из плодов черники кавказской (150 мг/дл); 6 – животные с диабетом, получавшие частицы оксида цинка с извлечением из плодов черники кавказской, растворенные в физ. растворе (8 мг/дл). Эксперимент проходил 16 дней, в течение которых испытуемые препараты вводили ежедневно внутрибрюшинно. По окончании эксперимента отбирали образец крови из сердца и измеряли содержание глюкозы натощак, липопротеидов высокой плотности, триглицеридов, холестерина, инсулина. Установлено снижение всех показателей в группе 6, наиболее значительно снижалось содержание холестерина. При этом уровень глюкозы снижался, а содержание ЛПВП повышалось сходно во всех группах, получавших лечение [65].

Далее эти ученые получили наночастицы цинка оксида, цинка оксида с водным извлечением из воздушно-сухих плодов черники кавказской, из оксида цинка и оксида меди (5% и 10%) с водным извлечением из воздушно-сухих плодов черники кавказской, и сравнивали их антибактериальную активность на культурах *S. aureus* и *E. coli*. Установлено, что наибольшее антибактериальное действие оказали наночастицы Zn/CuO (10%) в присутствии извлечения из плодов черники кавказской, ингибируя в большей степени рост *E. coli* [97].

Mohtashami R. и др. получили сухой остаток водно-спиртового извлечения (спирт этиловый 70%, содержание сухого остатка 15%) из воздушно-сухих листьев черники кавказской [98]. Далее ученые получали желатиновые капсулы с содержанием сухого остатка 350 мг, также получали капсулы плацебо. Было проведено двойное слепое плацебо-контролируемое исследование с участием 100 пациентов с гипертензией и сахарным диабетом 2 типа, которые трижды в день получали испытуемые капсулы в течение 2 месяцев. В начале и в конце исследования проводили измерение артериального давления, уровня глюкозы натощак, через 2 часа после приема пищи, гликозилированного гемоглобина, общего холестерина, липопротеидов низкой и высокой плотности, триглицеридов, креатинина, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы. Наблюдали снижение всех показателей по окончании эксперимента, при этом содержание ЛПВП увеличивалось [98].

Группа турецких ученых Balci N. выделили из свежих плодов черники кавказской глутатион S-трансферазу, которая является ферментом антиоксидантной системы растений, способным связывать различные токсины [60]. Были определены оптимальные условия среды, в которых активность фермента наибольшая, а также ингибирующая активность различных пестицидов на фермент [60].

Антигипертензивное действие Kianbakht S. и др. проверяли у группы из ста пациентов, которых делили на две группы: группа 1 получала капсулы с

400 мг сухого остатка водно-спиртового извлечения из воздушно-сухих плодов черники кавказской трижды в день в течение трех месяцев; 2-я группа получала плацебо капсулы [90]. У пациентов измеряли артериальное давление, индекс массы тела, объем талии, проводили общий анализ крови, уровень аспартат аминотрансферазы, аланин аминотрансферазы, щелочной фосфатазы, содержание азота в крови, уровень креатинина. Обнаружили мягкое снижение артериального давления без изменения остальных параметров и выраженных побочных эффектов [90].

Barut В. и др. из Турции получили из плодов черники кавказской три извлечения, полученные экстракцией сырья спиртом этиловым, спиртом метиловым и водой [63]. Ученые также определили антиоксидантную активность в опыте с ДФПГ, хелатирования ионов железа, железовосстанавливающей способности. Все извлечения проявляли антиоксидантную активность, наиболее выражена она была также у сухого остатка извлечения, полученного экстракцией плодов черники кавказской спиртом этиловым. Далее определяли способность ингибировать α -глюкозидазу, участвующую в расщеплении олигосахаров до глюкозы в кишечнике, и кинетику этого процесса (препарат сравнения – акарбоза), а также ДНК-защитные свойства извлечения против окислительного разрушения ДНК под действием OH^\cdot (реактив Фелтона, состоящий из сульфата железа и перекиси водорода) на модели плазмидной ДНК pBR322. Наиболее активно ингибировал α -глюкозидазу остаток из этанольного извлечения ($\text{IC}_{50}=0,301$ мг/мл), а также предотвращал разрыв суперспиральной плазмидной ДНК. На модели мышей, которым вводили формалин для индукции воспаления, проверяли противовоспалительную активность в сравнении с диклофенаком (10 мг/кг). Остаток этанольного извлечения вводили в дозах 100 и 300 мг/кг перорально в течение трех дней как наиболее активную из испытуемых субстанций. При этом через два часа после индуцирования отека формалином в дозе 300 мг/кг этанольный остаток снизил выраженность воспаления так же, как и диклофенак [63].

Иранская группа ученых Bayrami A.A и его коллеги в 2019 году продолжили изучение активности наночастиц цинка оксида с сухим остатком из водного извлечения из воздушно-сухих листьев черники кавказской [64]. Наночастицы получали смешиванием цинка нитрата с водой (частицы сравнения без извлечения из листьев черники кавказской) или водным раствором сухого остатка из водного извлечения из листьев черники кавказской с последующей обработкой ультразвуком и в микроволновой печи. Были определены физические параметры полученных частиц, антидиабетическая (на модели аллоксанового диабета у крыс), антибактериальная (на культурах *S. aureus*, *E. coli*), фотокаталическая (на модели родамина определяли, насколько экстракт в составе частиц оксида цинка способен увеличивать окислительную способность последнего) активность. При определении антидиабетической активности животных делили на 6 групп, сравнивая эффект в группе, получавшей инсулин (10 МЕ/кг), наночастицы оксида цинка в физ. растворе (10 мг/дл), экстракт из листьев черники кавказской (150 мг/дл), наночастицы цинка оксида с экстрактом (8 мг/дл в физ. растворе). Испытуемые препараты вводили внутривенно ежедневно в течение 16 дней. У животных определяли после эксперимента показатели крови: уровень глюкозы натощак, триглицеридов, ЛПВП, общего холестерина и инсулина. Во всех испытаниях частицы цинка оксида с растительным остатком черники показали положительную динамику изучаемых тестов [64].

Турецкий ученый Pehlivan N. экстрагировал воздушно-сухие плоды черники кавказской трижды спиртом этиловым, далее диметилсульфоксидом до получения сухого остатка, который далее растворял в воде для определения способности защищать проростки кукурузы от окислительного стресса при росте в соленом грунте. Установлено улучшение роста саженцев при поливе их водой с сухим экстрактом из плодов черники кавказской [105].

В 2019 г. иранский коллектив Vazm M.A. и др. провели исследование *in vivo* на мышцах на наличие у водно-спиртового (спирт этиловый 70%) из

плодов черники кавказской, высушенных в темном месте при температуре 60°C, защитного и антиоксидантного действия на ткань яичек мышей с измерением параметров спермы на модели повреждения яичек под действием оксиметолонa (5 мг/кг) [53]. Плоды в исследование брали высушенные при 60°C в темном месте, которые экстрагировали спиртом этиловым 70% в течение 72 часов, затем профильтрованное извлечение упаривали до сухого остатка при 50°C. Полученный сухой остаток вводили животным в дозах 100, 200 и 400 мг/кг с разницей в 2 часа с введением оксиметолонa. Эксперимент проводили 50 дней. Далее проводили измерение уровня тестостерона в сыворотке крови, отбор спермы для подсчета количества сперматозоидов, их подвижность, жизнеспособность, проводили гистологический анализ придатков яичек, уровня мочевины в крови, уровень перекисного окисления липидов в яичках, железовосстанавливающей способности крови, а также экспрессию генов p53, каспазы-3, Вах и Bcl-2 (проапоптотические факторы) после выделения РНК. Установлено, что сухой остаток из плодов черники кавказской снижает уровень тестостерона, повышает уровень лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормона, улучшает параметры спермы и придатков яичек, снижает экспрессию p53, каспазы-3, Вах, повышает экспрессию Bcl-2. При этом снижается уровень мочевины в крови, повышается железовосстанавливающая способность, уровень малонового диальдегида [53].

Следующий вариант клинических испытаний Mehrzadi S. В 2021 году был проведен с комбинацией из нескольких лекарственных растений, которые традиционно используются в Иране при сахарном диабете [95]. Получали сухие остатки из извлечений при экстракции сырья черники кавказской, каперсов колючих, расторопши пятнистой, секироплодника мечевидного, крапивы двудомной, пажитника сенного, шиповника собачьего. Растительные капсулы, капсулы плацебо и метформин (1000 мг/день) получали 150 пациентов, разделенные на три группы по приему типа капсул. Эксперимент

проходил 3 месяца, в начале и в конце которых проводили измерение глюкозы натощак, гликозилированного гемоглобина, общего холестерина, ЛПНП и ЛПВП, триглицеридов, содержание мочевины в крови, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, креатинина. Уровень глюкозы измеряли на 0, 1, 2, 3, 5, 7, 14, 30, 45, 60, 75 и 90 день. Установлено, что при диабете второго типа разработанная композиция из лекарственных растений, в том числе с черникой кавказской, снижает уровень глюкозы натощак, гликированного гемоглобина, холестерина в сравнении с группой плацебо и на схожем уровне с метформином. Не отмечено гепатотоксического, нефротоксического и гастротоксического действия от приёма капсул с растительной композицией [95].

Другая группа иранских ученых синтезировала частицы серебра с растительным экстрактом – водным извлечением из воздушно-сухих плодов черники кавказской [88]. Смешивали различные концентрации водного извлечения и нитрата серебра при комнатной температуре в ротационном шейкере. Выпавший осадок частиц отделяли и промывали дистиллированной водой, частицы сушили при 50°C 2 часа. Проводили исследование структуры полученных частиц методами УФ-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа, ИК-спектроскопии с Фурье преобразованием. Проверяли антибактериальную активность в сравнении с раствором нитрата серебра, водным извлечением из плодов черники кавказской (отрицательный контроль), гентамицином и стрептомицином (положительный контроль) на культурах грам-положительных штаммов *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis* и грам-отрицательные *E. coli* и *Salmonella enteritidis*. Антибактериальный эффект был более выражен в отношении грам-положительных штаммов [88].

В 2022 году иранские ученые Gharbavi M. и др. синтезировали наночастицы селена с экстрактом из плодов черники кавказской, замороженные при температуре -20°C и затем высушенные в темном месте

при температуре 60°C, которые получают правильной сферической формы с подходящим дзета-потенциалом, что говорит об устойчивости частиц и их биосовместимости. Параметры частиц были описаны с использованием различных физических методов. Также на культуре клеток 4T1 (рак легких) была установлена концентрация полуингибирования $IC_{50}=84,19\pm 25,96$ мкг/мл после лечения в течение 72 часов. При этом отмечена низкая токсичность и экологичность получения подобных препаратов [82].

Группа российских ученых (Шамилов А.А., Оленников Д.Н., Поздняков Д.И., Бубенчикова В.Н., Гарсия Э.Р., Ларский М.В.) в 2016 году установили наличие нейропротекторной активности на модели перманентной фокальной ишемии головного мозга на самках крыс при введении им сухих остатков из водно-спиртовых извлечений (спирт этиловый 70%) из листьев черники кавказской и черники обыкновенной, препаратом сравнения был стандартизированный экстракт гинкго билоба EGB761 (35 мг/кг) [117]. Сухой остаток из водно-спиртового извлечения из воздушно-сухих листьев черники вводили перорально один раз в сутки в течение трех дней после индуцированной ишемии. После трех дней оценивали скорость кровотока в головном мозге, размеры зоны некроза, количество активных продуктов по реакции с тиобарбитуровой кислотой, а также активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, цитохром-с-оксидазы, сукцинатдегидрогеназы. Установлена превалирующая активность сухого остатка из листьев черники кавказской в сравнении с сухим остатком из листьев черники обыкновенной и экстрактом гинкго билоба [117].

В 2023 г. Saliani N. с соавторами измерили показатели печени на модели крыс с диабетом, индуцированным инъекцией аллоксана (120 мг/кг): уровень инсулина, свободных жирных кислот, фактора некроза опухолей, активных форм кислорода, адипонектина (гормон жировой ткани белковой природы, регулирующий уровень глюкозы и расщепление жирных кислот) [114]. Измеряли активность печеночной глюкокиназы, глюкозо-6-

фосфатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатазы, фруктозо-1,6-бифосфатазы в печени. Проведено также измерение экспрессии генов субстрата 1 рецептора инсулина (IRS-1), транспортера глюкоза 2 (GLUT-2), рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором гамма (Pparg), белка 1, связывающего регуляторный элемент стерина (Srebp1c). Также проведена гистологическая оценка состояния печени и уровень экспрессии гена miR-27b – некодируемых небольших молекул РНК в эндотелиальных клетках сосудов, гиперэкспрессия которых повышает ангиогенез. Извлечение из воздушно-сухих плодов черники кавказской получали экстракцией их этанолом трижды в течение 12 часов, далее концентрировали извлечение. Животные получали по 400 мг/кг веса сухого остатка из плодов черники кавказской перорально в течение 42 дней. В результате испытаний обнаружено снижение уровня свободных жирных кислот, фактора некроза опухолей, активных форм кислорода, повышение активности глюкокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, концентрации гликогена, и снижение активности глюкозо-6-фосфатазы, фруктозо-1,6-бифосфатазы. Сухой остаток из плодов черники кавказской повышал экспрессию IRS-1, Glut-2, снижал – Pparg и Srebp1c. Улучшалась экспрессия miR-27b, а также гистологическое состояние печени в сравнении с группой без терапии диабета [114].

Плоды черники мелколистной, замороженные при температуре -80°C и свежие, могут использоваться в пищевом рационе при сахарном диабете и артериальной гипертензии, а также нейродегенеративных заболеваниях с высокой антиоксидантной активностью [67, 80, 81, 108, 112, 120].

В исследовании [137] определяли ингибирующее действие извлечений из свежих плодов черники Смолла и черники мелколистной на дифференциацию клеток лейкемии человека. Более выраженное действие обнаружено для плодов черники Смолла. Подобное исследование было проведено с соками из плодов 43 растений в северной части Японии, при этом

выраженные цитотоксические свойства проявил сок из плодов черники Смолла [136].

Противоопухолевое и антиоксидантное действие извлечений из замороженных при температуре -80°C плодов черники тычиночной Wang S.Y в 2007 году были доказаны на культурах клеток рака легких и лейкемии человека, при этом обнаружена способность водного извлечения из плодов черники тычиночной ингибировать пролиферацию клеток и индуцировать апоптоз клеток, а также поглощать свободные радикалы и ингибировать активность активаторного белка 1 (AP-1) и ядерного фактора каппа-би (NF- κ B) [134].

Сравнительные данные об основных видах фармакологической активности плодов черники кавказской и черники обыкновенной представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительные сведения о фармакологической активности плодов черники кавказской и черники обыкновенной

Черники кавказской плоды		Черники обыкновенной плоды	
Вид активности	Источник	Вид активности	Источники
Антидиабетическая	[52, 64, 65, 79, 83, 89, 95, 96, 114]	Антидиабетическая	[74,135]
Гипохолестеринемическая	[57, 64, 65, 91, 96, 98, 119]	Гипохолестеринемическая	[92, 107]
Противовоспалительная	[52,63, 114]	Противовоспалительная	[116, 118]
Антиоксидантная	[53, 63, 79,87,109, 114]	Антиоксидантная	[29, 107, 133]
Гепатопротекторная	[109]	-	
Антибактериальная	[87, 88, 97]	Антибактериальная	[86, 127]
Гипотензивная	[90, 98]	-	

Нейропротекторная	[117]	-	
Противоопухолевая	[82]	Противоопухолевая	[76, 126]
-		Диуретическая	[33]
-		Кардиопротекторная	[58]
-		Улучшение зрения	[30, 103, 111]

Таким образом, у черники кавказской и черники обыкновенной некоторые виды фармакологической активности, согласно литературным данным, являются идентичными, такие как Антидиабетическая, гипохолестеринемическая, противовоспалительная, антиоксидантная, антибактериальная и противоопухолевая. Отличительными активностями для черники кавказской являются гепатопротекторная, гипотензивная и нейропротекторная; для черники обыкновенной – диуретическая, кардиопротекторная и улучшение зрения.

Исходя из литературных данных таблицы 2 можно предположить, что черника кавказская может использоваться наряду с фармакопейным видом – черникой обыкновенной.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1

Исходя из литературных данных сделаны следующие выводы:

1. Черника кавказская – крупный кустарник высотой до 3 метров, произрастает на территории Ирана и Турции, на Кавказе. В России на территории Республики Северная Осетия-Алания проводились ресурсосведческие исследования черники кавказской. Установлено, что растение легко размножается вегетативно с помощью подземных побегов.

2. Химический состав плодов черники кавказской и черники обыкновенной имеет схожий профиль и представлен в основном фенольным комплексом. Однако компонентный состав фенольных соединений и других метоболитов плодов черники кавказской изучен недостаточно.

3. Извлечения из плодов черники кавказской в эксперименте демонстрируют высокий фармакологический потенциал в качестве источника БАС при различных патологиях. Субстанции из плодов черники кавказской и черники обыкновенной проявляют схожие виды фармакологической активности: противовоспалительная, антиоксидантная, антибактериальная, антидиабетическая, гипохелестеренемическая и противоопухолевая активность.

4. Плоды черники кавказской могут рассматриваться как дополнительный источник БАС к фармакопейному виду ЛРС – «черники обыкновенной плодов». Полученные данные свидетельствуют о необходимости детального, химического и фармакологического исследования плодов черники кавказской, в том числе в сравнении с плодами черники обыкновенной, с последующей разработкой методик определения подлинности и качества плодов черники кавказской для внесения в проект ФС «Черники кавказской плоды».

5. Новый вид сырья – плоды черники кавказской могут рассматриваться не только как дополнительный источник БАС, но и как самостоятельная субстанция для получения эффективных Российских импортозамещающих препаратов.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектом исследования были плоды черники кавказской и образец плодов черники обыкновенной. Плоды черники кавказской заготавливали в фазу массового плодоношения. Сведения о месте и дате сбора представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Образцы плодов черники кавказской и черники обыкновенной, используемые в исследовании

№	Место сбора	Дата сбора
Черники кавказской плоды		
1	северо-западный склон горы Фишт, Республика Адыгея	сентябрь 2021
2	гора Кизельбек, село Соленое, Псебайский район, Краснодарский край	конец августа 2021
3	северный берег озера Голубое, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	сентябрь 2021 г.
4	берег реки Пшихашха, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	сентябрь 2021 г.
5	окрестности Карачаевска, Карачаевский район, Карачаево-Черкесская Республика	сентябрь 2021 г.
Черники обыкновенной плоды		
1	«ФитоФарм», г. Анапа	Серия 031021

Видовую принадлежность собранных образцов подтверждал заведующий Перкальского дендрологического парка Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН, ведущий специалист БИН РАН по флоре Кавказа, канд. биол. наук Шильников Дмитрий Сергеевич.

Сырье собирали в фазу плодоношения, сушили воздушно-теневым способом, а также методами конвективной и инфракрасной (ИК) сушки.

2.2. Оборудование и реактивы

В работе использовали реактивы класса чистоты «чистый для анализа» и «химически чистый». Титрованные, буферные растворы, растворы индикаторов готовили согласно методик ГФ РФ XIV и XV изд. [10, 11].

В работе использовали стандартные образцы представленные в таблице 4.

Таблица 4 – Сведения о стандартных образцах веществ

Наименование СО	Производитель	Lot, CAS
Цианидин-3-О-глюкозид	Sigma Aldrich	CAS 7084-24-4
D-глюкуроновая кислота	Macklin Biochemical Co., Ltd.	C13184543
Галактуроновая кислота		TGYSW210407-1
Глюкоза		TGYSW210221-1
Манноза		TGYSW210405-1
Ксилоза		TGYSW210216-1
Рамноза		TGYSW210326-1
Фруктоза		TGYSW210217-1
Галактоза		TGYSW210308-1
Арабиноза		TGYSW210315-1

Эксперименты проводили на следующем поверенном оборудовании (таблица 5).

Таблица 5 – Оборудование и приборы, применяемые в исследовании

Наименование	Модель, производитель, страна	Характеристики	Программное обеспечение
Весы аналитические	ЛВ 210-А (ООО «Сартогосм», Россия)	Наибольший предел взвешивания – 210 г, дискретность – 0,0001 г.	-
Спектрофотометр	СФ-2000 (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Россия).	Спектральный диапазон 190-1100 нм	сканирование для спектрофотометра СФ-

			2000 (версия 4.06)
Масс-спектрометр	Agilent Technologies 7900 (Agilent Technologies, США)	Высокочастотный генератор плазмы	Agilent® Masshunter®
Жидкостный хроматограф	LCMS-8050 (Shimadzu, Columbia, MD, США)	Детекторы: диодно-матричный (ДМД) и 3q-детектор с ионизацией электрораспылением (ИЭР/МС) Колонка: ProntoSIL-120-5-C18 AQ размером 75×2 мм, Ø 5 мкм; (Metrohm AG, Herisau, Швейцария)	LabSolutions (Shimadzu, Япония)
	Agilent 1260 (Agilent Technologies, США)	Детекторы: спектрофотометрический (245 нм) Колонка: Gemini NX-C18 размером 150×4,6 мм, Ø 5 мкм, с размером пор 110 Å (Phenomenex, США)	МультиХром (версия 1.5, ООО «Амперсенд», Россия)
	Agilent 1200 (Agilent Technologies, США)	Детекторы: диодно-матричный УФ-детектор Колонка: Luna C18(2) 4,6×250 мм, Ø 5 мкм (Phenomenex, США)	МультиХром (версия 1.5, ООО «Амперсенд», Россия)
Газовый хроматограф	Agilent 7890B (Agilent Technologies, США)	Детекторы: масс-спектрометрический Колонка с полиэтиленгликолем Innowax длиной 30 м, Ø 0,25 мм,	Agilent® Masshunter®

		толщиной фазы 0,25 мкм	
Анализатор аминокислот	AAA 400 (ООО «INGOS», Лабораторные приборы, Чехия)	Детекторы: фотометрический (440 и 570 нм) Колонка: нержавеющая для гидролизатов 4,0×150 мм; нержавеющая для свободных аминокислот 3,9×450 мм	CHROMuLAN -Open Chromatography Station (версия 0.91)
Системы микроволновой подготовки проб	Milestone ETHOS UP (Milestone™ Srl, Италия)	Мощность двух магнетронов 2000 Вт, непрерывный и пульсирующий режимы подачи микроволн	Easy CONTROL
Сушильный шкаф	ШСУ-М (ОАО «Электроприбор», Россия)	Объем до 10 л, диапазон температур 85-130°C	-
Инфракрасный сушильный шкаф	Универсал СД-4Т (ОАО «Проммаш», Россия)	Загрузка до 140 кг, диапазон температур 25-70°C	Встроенное
Муфельная печь	МИМП-3М (ЗАО «МИУС», Россия)	Диапазон температур 100-1150°C. Объем камеры – 3 л	Встроенное
Кондуктометр	Эксперт-002 (Эконикс-Эксперт, Россия)	Датчик погружного типа, диапазон от 0,01 мкСм/см до 200 мСм/см, измерение общей минерализации в мг/л и г/л, удельного сопротивления в Ом, кОм. Мом, указание температуры в °С	Встроенное

рН-метр	Hanna Edge 2002-02 (HANNA Instruments Inc., Венгрия)	Диапазон измерений от -2 до 16 рН, калибровка по 3 и 5 точкам, разрешение 0,001 и 0,01 рН	Встроенное
Вортекс	V-1 plus, ООО «Биосан», Латвия	Два режима работы: импульсный и непрерывный, до 3000 об/мин, объем ротора – 50 мл	-
Центрифуга	SIGMA 2-16P («Сигма Лаборцентрифуген ГмбХ», Германия)	Мощность 240 Вт, максимальная вместимость 4x100 мл, максимальная скорость 15000 об/мин, минимальная скорость 100 об/мин	-
Испаритель ротационный	Qyre-2A (QiyuIndustrial (Shanghai) Co., Ltd.)	Диапазон регулирования скорости 20-120 об/мин, емкость испарения 20 мл/мин, степень вакуума 399,9 Па (3 мм рт. Ст.), нагрев водяной бани до 100°	-
Микроскоп	Микромед 1 (вар. 3-20) (ООО «Наблюдательные приборы» Россия)	Тринокулярный, увеличение 40-10000 крат, возможно до 1600/2000 крат), 4 объектива, широкопольные окуляры 10/18, межзрачковое расстояние 48-75 мм	-
Видеоокуляр	Levenhuk-C310 NG (КНР)	Максимальное разрешение 2048x1536, число	Levenhuk ToupView

		мегапикселей 3, размер пикселя 3,2х3,2, чувствительный элемент 1/2" CMOS	
Микротом	Thermo Scientific HM325	Лезвие Thermo Scientific HM325 Ultra Microtome Blade 34°/80	-

При разработке методики оценки подлинности плодов черники кавказской использовали хроматографические пластины марки Sorbfil (ООО «ИМИД», Россия) ПТСХ-П-А-УФ и ПТСХ-АФ-А-УФ размером 100×100 мм (подложка полимерная и алюминиевая соответственно).

2.3. Выделение полисахаридов

Две фракции полисахаридов – ВРПС и ПВ – выделяли после предварительной экстракции сырья петролейным эфиром в аппарате Сокслета до обесцвечивания новых порций экстрагента. Далее высушенный шрот экстрагировали спиртом этиловым 70% трижды в соотношении 1:100. Далее ВРПС выделяли экстракцией шрота водой после удаления паров спирта, для выделения ПВ шрот после выделения ВРПС экстрагировали смесью аммония оксалата и щавелевой кислоты 1:1 (0,5% водные растворы) [5, 47].

2.4. Хроматографические методы

2.4.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография

2.4.1.1. Фенольные соединения

Извлечение: 40 мг измельченного воздушно-сухого сырья (размер частиц 2 мм) экстрагировали 1 мл спирта этилового 70% в ультразвуковой бане (50 кГц) 40 минут при 35°C, далее извлечение центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 минут, фильтровали через мембранный фильтр с размером отверстий 0,45 мкм.

Анализ фенольного профиля проводили на жидкостном хроматографе LCMS-8050, соединенном с диодно-матричным детектором (ДМД) и Зq-детектором с ионизацией электрораспылением и масс-детектором (ИЭР/МС), используя колонку ProntoSIL-120-5-C18 AQ. Условия ВЭЖХ: подвижная фаза, элюент А – 0.5% муравьиная кислота в воде, элюент В – 0.5% муравьиная кислота в ацетонитриле; программа градиента: 0–5 мин 11–18% В, 5–9 мин 18% В, 9–10 мин 18–20% В, 10–16 мин 20% В, 16–20 мин 20–100% В, 20–24 мин 100% В, 20–30 мин 100–11% В; вводимый объем пробы – 1 мкл; скорость потока – 150 мкл/мин, температура колонки – 35°C; диапазон сканирования спектров поглощения – 200–600 нм. Условия ИЭР-МС: режим ионизации – электрораспыление; температура интерфейса ИЭР – 300°C; температура линии десольватации – 250°C; температура нагревательного блока – 400°C; скорость газа-распылителя (N₂) – 3 л/мин; скорость газа-нагревателя (воздух) – 10 л/мин; давление газа, используемого для диссоциации, индуцируемой соударением (CID gas, Ar) – 270 кПа; скорость Ar – 0.3 мл/мин; напряжение на капилляре – 3 кВ; диапазон сканирования масс (m/z) 100–1900 [117].

Расчет содержания компонентов проводили по площади пика на хроматограмме, используя коммерческие стандартные образцы или вещества, ранее выделенные и очищенные из других объектов.

2.4.1.2. Антоцианы

Извлечение с добавлением кислоты хлористоводородной: около 1,0 г (точная навеска) измельченного воздушно-сухого сырья (размер частиц 2 мм) помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70% с содержанием хлористоводородной кислоты концентрированной 1%. Колбу закрывали пробкой и взвешивали с точностью до ± 0,01 г, затем присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 мин., затем охлаждали до комнатной температуры, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли

недостающий экстрагент. Центрифугировали аликвоту 30 мин. при 14000 об/мин.

Извлечение без добавления кислоты хлористоводородной: около 1,0 г (точная навеска) измельченного воздушно-сухого сырья помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70%. Колбу закрывали пробкой и устанавливали в ультразвуковую баню на 30 мин., затем помещали в термостат с температурой 70°C, периодически встряхивая, на 3 часа. Центрифугировали аликвоту 30 мин. при 14000 об/мин.

Анализ проводили на хроматографе Agilent 1200 с диодно-матричным УФ-детектором и колонкой Luna C18(2) в градиентном режиме с использованием трех подвижных фаз (ПФ): ПФ А – вода, ПФ В – ацетонитрил, ПФ С – 1% трифторуксусная кислота в воде. Скорость ПФ была 1,0 мл/мин, температура в колонке - 25°C, объемом вводимой пробы – 1 мкл, время регистрации и анализа – 30 и 46 минут соответственно. Детектирование пиков на хроматограмме проводили с помощью УФ-детектора при 520 нм. Градиентный режим элюирования: 85-0% ПФ А, 5-90% ПФ В, 10% ПФ С; 30-33 минута: 50-0% ПФ А, 40-90% ПФ В, 10% ПФ С; 33-38 минута: 0% ПФ А, 90% ПФ В, 10% ПФ С; 38-41 минута: 0-85% ПФ А, 90-5% ПФ В, 10% ПФ С; 41-46 минута: 85% ПФ А, 5% ПФ В, 10% ПФ С.

Соотнесение компонентов осуществляли на основании литературных данных [32]. В изучаемых объектах определяли содержание компонентов методом внутренней нормализации в %.

2.4.1.3. Моносахариды

Мономерный состав полисахаридных фракций устанавливали после гидролиза 25 мг ВРПС и ПВ. При этом ВРПС выдерживали в среде 72% серной кислоты (0,25 мл) при комнатной температуре 30 мин с периодическим перемешиванием, далее в смесь добавляли 2,75 мл воды очищенной и выдерживали закрытый флакон при 100 °С 2 ч. Фракцию ПВ гидролизировали в

3 мл 2 М раствора трифторуксусной кислоты при 100 °С 8 ч. Далее каждую смесь охлаждали до комнатной температуры. Гидролизат объемом 1,5 мл отбирали в пробирку типа Эппендорф и центрифугировали в течение 10 мин при 14000 об./мин (ВРПС) или 2 мл гидролизата центрифугировали в течение 15 мин при 6000 об./мин (ПВ). Далее надосадочную жидкость объемом 1 мл переносят в другую пробирку типа Эппендорф, добавляют твердый кальция карбонат до рН 6,5–7,0, суспензию с необходимым рН центрифугируют в течение 1 мин при 14000 об./мин (ВРПС) или 1 мл надосадочной жидкости концентрируют под вакуумом до удаления остатков трифторуксусной кислоты с постепенным добавлением метанола, сухой остаток растворяют в 1 мл воды очищенной и нейтрализуют твердым кальция карбонатом до рН 6,5–7,0 при необходимости, центрифугируют 1 мин при 14000 об./мин (ПВ).

Для предколоночной дериватизации отбирают 50 мкл супернатанта и помещают в пробирку типа Эппендорф объемом 5 мл, добавляют 50 мкл 0,6 М раствора натрия гидроксида, 100 мкл 0,5 М раствора ФМП, перемешивают смесь на Вортексе персональном V-1 Plus и выдерживают в термостате при 70 °С в течение 60 мин. Смесь охлаждают до комнатной температуры и нейтрализуют 120 мкл 0,3 М раствора хлористоводородной кислоты, доводят нейтрализованную смесь до 1 мл водой очищенной. Добавляют 1 мл хлороформа, энергично встряхивают, после расслоения отделяют органический слой, повторяют еще дважды очистку хлороформом. Водный остаток центрифугируют в течение 5 мин при 4000 об./мин, фильтруют через шприцевой фильтр диаметром 0,45 мкм.

Хроматографический анализ полученного извлечения проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1260 в колонке Gemini NX-C18 размером 150 × 4,6 мм, 5 мкм, с размером пор 110 Å. Условия анализа: скорость потока – 0,6 мл/мин, температура колонки – 30 °С, объем инъекции – 10 мкл, детектор спектрофотометрический при длине волны 245 нм. Режим анализа градиентный: 0–35 мин 88→83% А + 12→17% Б; 35–36 мин 83→80% А +

17→20% Б; 36–45 мин 80% А + 20% Б; 45–46 мин 80→88% А + 20→12% Б; 46–65 мин 88% А + 12% Б.

Стандартные образцы маннозы, рамнозы, глюкуроновой, галактурановой кислот, глюкозы, ксилозы, галактозы и арабинозы в количестве 3 мг гидролизуют в 3 мл 1 М раствора серной кислоты в течение 2 ч при 100 °С (ВРПС) или в 3 мл 2 М раствора трифторуксусной кислоты в течение 8 ч при 100 °С (ПВ), далее нейтрализуют гидролизаты, дериватизацию и хроматографический анализ проводят аналогично испытуемым фракциям.

Расчет количественного содержания моносахаридов в % проводили по формуле 1:

$$X = \frac{S_x \cdot a_0 \cdot 3 \cdot 100}{S_0 \cdot a_x \cdot 3} \quad (1)$$

где S_x – площадь пика каждого из моносахаридов на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика каждого из моносахаридов на хроматограмме стандартного раствора;

a_x – навеска каждого испытуемого образца, мг;

a_0 – навеска стандартного образца каждого из моносахаридов соответственно, мг [68, 123].

2.4.2. Газовая хроматография

Жиры и органические кислоты

Около 50,0 мг (точная навеска) измельченного воздушно-сухого сырья (размер частиц 2 мм) помещали в пробирки типа Эппендорф объемом 2 мл, добавляли 10 мкл раствора внутреннего стандарта гексадекана (50 мкг вещества) и 1,0 мл метилирующего агента (12% раствор трифторида бора в метаноле). Смесь оставлял на 8 часов при 65°С в герметично закрытой пробирке. Далее смесь центрифугировали 5 минут при 10000 об/мин, отбирали 0,5 мл надосадочной жидкости в емкость объемом 20 мл, добавляли 1 мл воды, 1,5 мл дихлорметана, перемешивали и экстрагировали на шейкере пр 560

об/мин 10 минут. Далее отбирали 2 мкл дихлорметанового слоя для ввода в хроматограф ГХ-МС Agilent 7890В, снабженном колонкой Innovax. Условия анализа: газ-носитель – гелий; скорость потока газа – 1,0 мл/мин; температурная программа (50;0)(4;250;0); температура испарителя - 250°C; детектирование – масс-селективный детектор; метод ионизации – электронный удар 70 эВ [4].

Расчет содержания метиловых эфиров жирных кислот, в том числе гидроксильированных кислот, был проведен методом внутренней нормализации с исключением пиков остальных компонентов извлечения. Расчет содержания остальных компонентов так же проведен методом внутренней нормализации с исключением пиков эфиров жирных кислот. Содержание каждого компонента рассчитано относительно внутреннего стандарта гексадекана.

2.4.3. Тонкослойная хроматография

Разделение суммы антоцианов при разработке методики оценки подлинности плодов черники кавказской проводили методом тонкослойной восходящей хроматографии, подбирая следующие оптимальные условия анализа: объем пробы извлечения, состав ПФ, тип подложки хроматографической пластины.

Валидацию методики проводили по показателям: специфичность, робастность, воспроизводимость [10, 11, 49].

2.4.4. Ионообменная хроматография

Анализ аминокислотного состава плодов черники проводили, получая водное извлечение из воздушно-сухих плодов хлористоводородной кислотой с последующим осаждением азотсодержащих соединений, окислением и кислотным гидролизом для получения суммы свободных и связанных кислот. Анализ конечного фильтрата проводили в аминокислотном анализаторе с

пост-колоночной дериватизацией аминокислот нингидрином и детектировании окрашенных производных при 570 нм [47].

2.5. Спектрометрические методы

2.5.1. Спектрофотометрия в видимом диапазоне

Разработку методики количественного определения суммы антоцианов после определения методом ВЭЖХ маркерного компонента проводили с водно-спиртовым извлечением после подбора оптимальных условий экстракции сырья черники кавказской (соотношение сырье/экстрагент, тип экстрагента, продолжительность экстракции). Измерение оптической плотности извлечений проводили на спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне длин волн 300-700 нм [10, 11].

2.5.2. Масс-спектрометрия

Элементный анализ

По 1,0 г (точная навеска) измельченных плодов (размер частиц 2 мм) или золы общей помещали в емкости для микроволнового разложения, добавляли по 10 мл азотной кислоты концентрированной и выдерживали согласно программному режиму в микроволновой системе MilestoneEthosUp. После окончания минерализации и охлаждения образцов растворы фильтровали в мерные колбы объемом 25 мл, доводили до метки водой очищенной и проводили анализ минерального состава на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой AgilentTechnologies 7900. Условия анализа: мощность высокочастотного генератора плазмы составляла 1500 Вт, скорость потока плазменного газа аргона – 15 л/мин, скорость потока газа-распылителя аргона – 1,0 л/мин, скорость ввода пробы – 0,10 об/мин, количество повторов анализа пробы – 5, время интегрирования – 0,1 с. Промывку между анализами разных проб проводили 0,005 М раствором бромата калия в 2% растворе азотной кислоты. Расчет содержания каждого элемента проводили по уравнению калибровочной кривой, содержание тяжелых металлов и мышьяка проводили

по интенсивности излучения по соответствующим атомным единицам массы (а.е.м.): мышьяк – 75; кадмий – 111; ртуть – 202; свинец – 208 [6, 51].

2.6. Физико-химические методы

2.6.1. Оптическая микроскопия

Для определения подлинности сырья черники кавказской проводили исследование микроскопических признаков воздушно-сухих плодов, которые измельчали и кипятили в 2,5% водном растворе натрия гидрокарбоната согласно ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [10]. Микроскопические признаки наблюдали на микроскопе Микромед 1 (вар. 3-20) и фотографировали с помощью видеоокуляра Levenhuk-C310 NG.

2.6.2. Вискозиметрия, кондуктометрия, поверхностная активность, гравиметрия и титрование

Вискозиметрия

Определение молярной массы полисахаридных фракций и изоэлектрической точки (ИЭТ) проводили на вискозиметре Оствальда по описанным ранее методикам [50].

Кондуктометрия

Определение способности полисахаридов проникать через клеточные мембраны устанавливали в опыте жидкость-жидкостной экстракции полисахаридов из водного раствора в этилацетатный и измерении сопротивления водного раствора до и после экстракции [50]. Измерение проводили на кондуктометре «Эксперт-002».

Поверхностная активность

Наличие поверхностной активности для водных растворов ВРПС и ПВ устанавливали по уменьшению поверхностного натяжения с помощью сталагмометра Траубе и прибора Ребиндера [50].

Гравиметрия

Определение содержания жирного масла в образцах плодов черники кавказской и черники обыкновенной проводили по методике 1 согласно ОФС.1.5.3.0014 «Определение содержания жирных масел в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» [11].

Определение показателей качества (влажности, золы общей, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, содержания экстрактивных веществ) проводили согласно методикам ГФ РФ [10, 11].

Титрование

Содержание суммы дубильных веществ определяли согласно методике ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XIV издания методом окислительно-восстановительного титрования перманганатом калия (метод 1) [10].

2.7. Фармакологические исследования

Фармакологические испытания выполнены в соответствии с международными этическими нормам обращения с лабораторными животными, представленными в Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes, September 22, 2010 [77].

2.7.1. Нейропротекторное действие в условиях экспериментальной глаукомы у крыс

Извлечение: 5 г измельченных плодов черники помещали в колбу вместимостью 500 мл и добавляли 250 мл спирта этилового 70% с содержанием хлористоводородной кислоты концентрированной 1%, колбу помещали на кипящую водяную баню и выдерживали 1 час. Полученное водно-спиртовое извлечение фильтровали через бумажный фильтр и сгущали

при помощи ротационного испарителя (QYRE-2A) при температуре не выше 40°C (насос 2НВР-5ДМ УХЛ4.2; разряжение 0,85-0,92 атм.) до густого экстракта.

Предварительно оценивали острую токсичность анализируемого густого экстракта. Исследование выполняли согласно ГОСТ 34557-2019 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении. Метод «вверх и вниз» [9]. Класс токсичности определяли согласно классификации опасности химической продукции Согласованной на глобальном уровне системе классификации и маркировки химических веществ, 2019 г.

Глаукому у крыс моделировали инъекцией микрошариков из полистирола (3,6×10⁶ гранул/мл; 10 мкл/инъекция) в переднюю камеру глаза. Анализируемый густой экстракт из плодов черник вводили в течение 4-х недель [104]. В эксперименте использовали 60 крыс-самцов линии Wistar массой 210-230 грамм, разделенных на группы: ЧК – животные, получающие густой экстракт из плодов черники кавказской; ЧО – животные, получающие густой экстракт из плодов черники обыкновенной, НК – негативный контроль, Интакт – интактные животные. Оценивали изменение активности сукцинатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы (СОД) и цитратсинтазы, содержание активных продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой – активными продуктами (ТБК-АП) в мозговой ткани.

2.7.2. Антидиабетическая активность

Извлечение: из воздушно-сухих плодов получали густой экстракт (экстрагент – спирт этиловый 70%, содержащий 1% кислоты хлористоводородной концентрированной). Для этого измельченные воздушно-сухие плоды (размер частиц 2 мм) экстрагировали спиртом этиловым 70%, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, в соотношении 1:50 в течение 1 часа при нагревании на

водяной бане при 70°C. Далее извлечение фильтровали через бумажный фильтр, концентрировали в ротационном испарителе при пониженном давлении и температуре не выше 40°C до густого экстракта.

Антидиабетическую активность устанавливали на 60 крысах самцах линии Wistar массой 240-260 грамм. Сахарный диабет второго типа индуцировали путем внутрибрюшинной инъекции животным стрептозотоцина в дозе 35 мг/кг при поддержании высококалорийной диеты с повышенным содержанием жиров (61,6% жиров, 18,1% белка и 20,3% углеводов) при энергетической потребности в 5,1 ккал/г массы тела животного. Через четыре недели отбирали животных с концентрацией глюкозы в крови выше 16 ммоль/л [69]. Группам сравнения вводили метформин («Сиофор», Берлин-Хеми, Германия) в дозе 200 мг/кг [78] и дапаглифлозин («Форсига» Астра-Зенека, Россия) в дозе 1,5 мг/кг [56] перорально. Испытуемый густой остаток вводили в дозе 1/50 от максимально введенной дозы. Сравнение проводили с группами интакта (ИН) и негативного контроля (НК). Продолжительность введения густого экстракта и препаратов сравнения составляла 4 недели, каждую неделю проводили измерение концентрации глюкозы в крови и моче, объем диуреза. Процедуры забора крови и мочи, получения сыворотки крови, измерения концентрации глюкозы в крови и моче проводили по методикам Сергеева Е.О. 2023 года [37].

2.8. Статистические методы

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики, используя программный комплекс «StatPlus 7.0» (AnalystSoft Inc., США, лицензия 16887385), также ГФ РФ XV (ОФС.1.1.0013) [11]. Полученные данные были проверены на нормальность распределения согласно критерию Шапиро-Уилка. Для сравнения групп средних применяли параметрические методы ANOVA с пост-тестом Ньюмена-Кейлса и непараметрические методы статического анализа – тест Крускалла-Уоллиса [11]. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ И ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ ПЛОДОВ

В ходе исследования научных статей об изученности химического состава плодов черники кавказской было выявлено, что объем работ был незначителен и на территории Российской Федерации исследования проводились во второй половине XX века [21, 22]. Позднее исследования плодов черники обыкновенной проводились группой ученых Самарской школы (под руководством заслуженного деятеля науки РФ, доктора фармацевтических наук, профессора Куркина В.А.) [19, 20, 33, 34, 35].

В главе представлены результаты сравнительного исследования химического состава плодов черники кавказской (образец 1, таблица 3, раздел 2.1) и черники обыкновенной.

3.1. Фенольные соединения черники кавказской и черники обыкновенной плодов

Профиль фенольных соединений, полученный методом ВЭЖХ-ДМД-ИЭР-МС (раздел 2.4.1.1), представлен 15 соединениями для черники кавказской (рисунок 1) и 13 компонентами для черники обыкновенной (рисунок 2), пять из которых – фенилпропаноиды и их конъюгаты, а именно 4-*O*-кофеилхинная кислота (криптохлорогеновая кислота), 1-*O*-кофеилглюкозид, 5-*O*-кофеилхинная кислота (неохлорогеновая кислота), кофейная кислота, 5-*O*-ферулоилхинная кислота. Результаты по содержанию представлены в таблице 6.

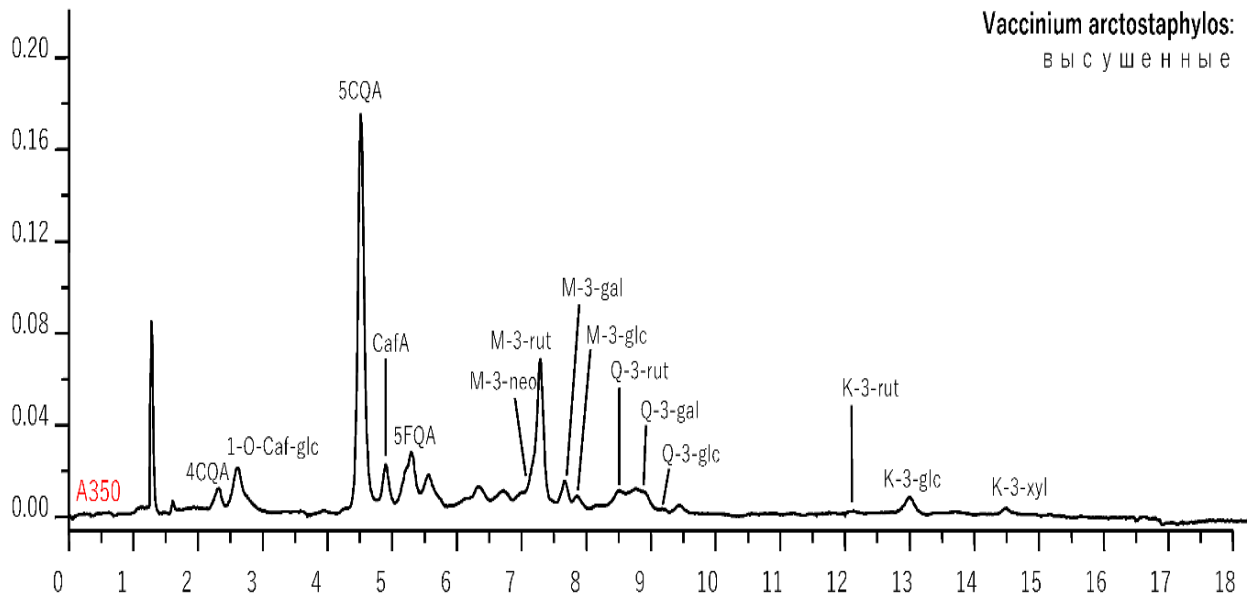


Рисунок 1 – Хроматограмма извлечения из плодов черники кавказской (экстрагент: спирт этиловый 70% (расшифровка обозначений соединений в таблице 6)).

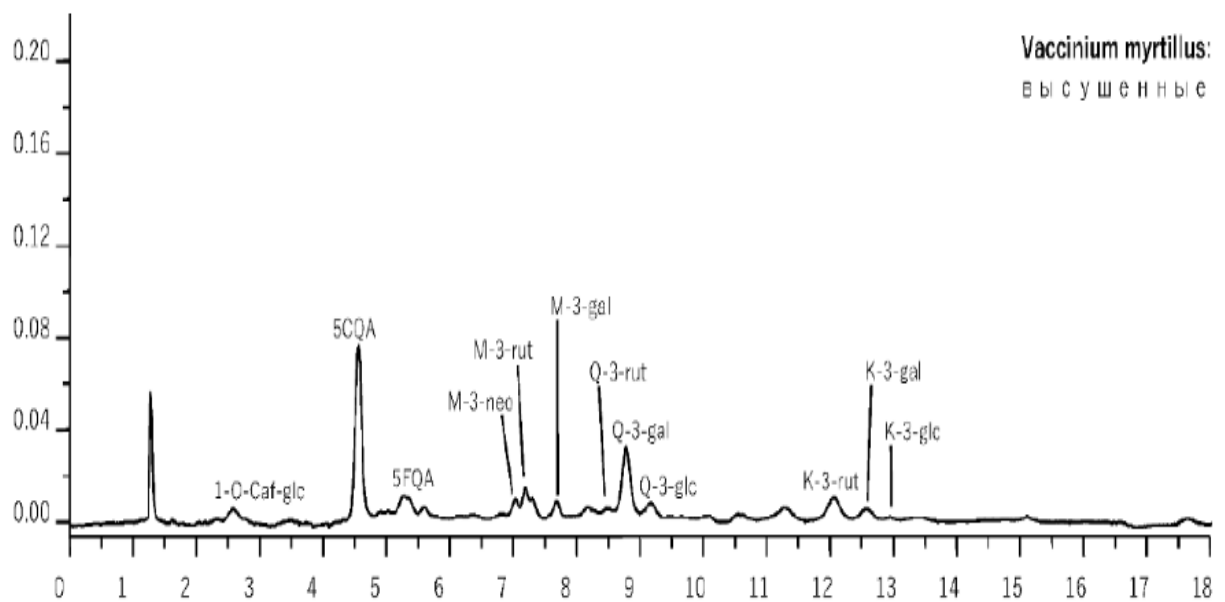


Рисунок 2 – Хроматограмма извлечения из плодов черники обыкновенной (экстрагент: спирт этиловый 70%, расшифровка обозначений соединений в таблице 6).

Таблица 6 – Содержание фенольных соединений в плодах черники кавказской и черники обыкновенной в пересчете на воздушно-сухое сырье

№	Соединения	<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-нео)	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

Полученные данные свидетельствуют, что фенольный комплекс плодов черники кавказской и черники обыкновенной представлен фенольными соединениями: фенолпропаноиды основной из которых является 5-кофеилхинная кислота (хлорогеновая кислота), флавоноиды представлены монозидами кверцетина, кемпферола и мирицетина основным из которых мирицетин-3-рутинозид для черники кавказской и кверцетин-3-галактозид для черники обыкновенной.

Процесс экстракции и наличие в извлечениях компонентов контролировали с помощью метода ВЭЖХ. Результаты анализа демонстрировали, что все соединения известны и были ранее описаны при изучении других видов рода *Vaccinium* L. Это явилось основанием для того, чтобы не выделять препаративно вещества из анализируемых нами видов ЛРС.

3.2. Антоцианы черники кавказской и черники обыкновенной плодов

При первом способе пробоподготовки (с добавлением хлористоводородной кислоты) (раздел 2.4.1.2) извлечений из плодов черники кавказской и черники обыкновенной нами обнаружены четыре агликона: дельфинидин, цианидин и смесь мальвидина и пеонидина (рисунок 3-4, таблица 7). Основным по содержанию компонентом в сумме антоцианов в обоих извлечениях является цианидин (35,4% в плодах черники кавказской и 31,4% в плодах черники обыкновенной).

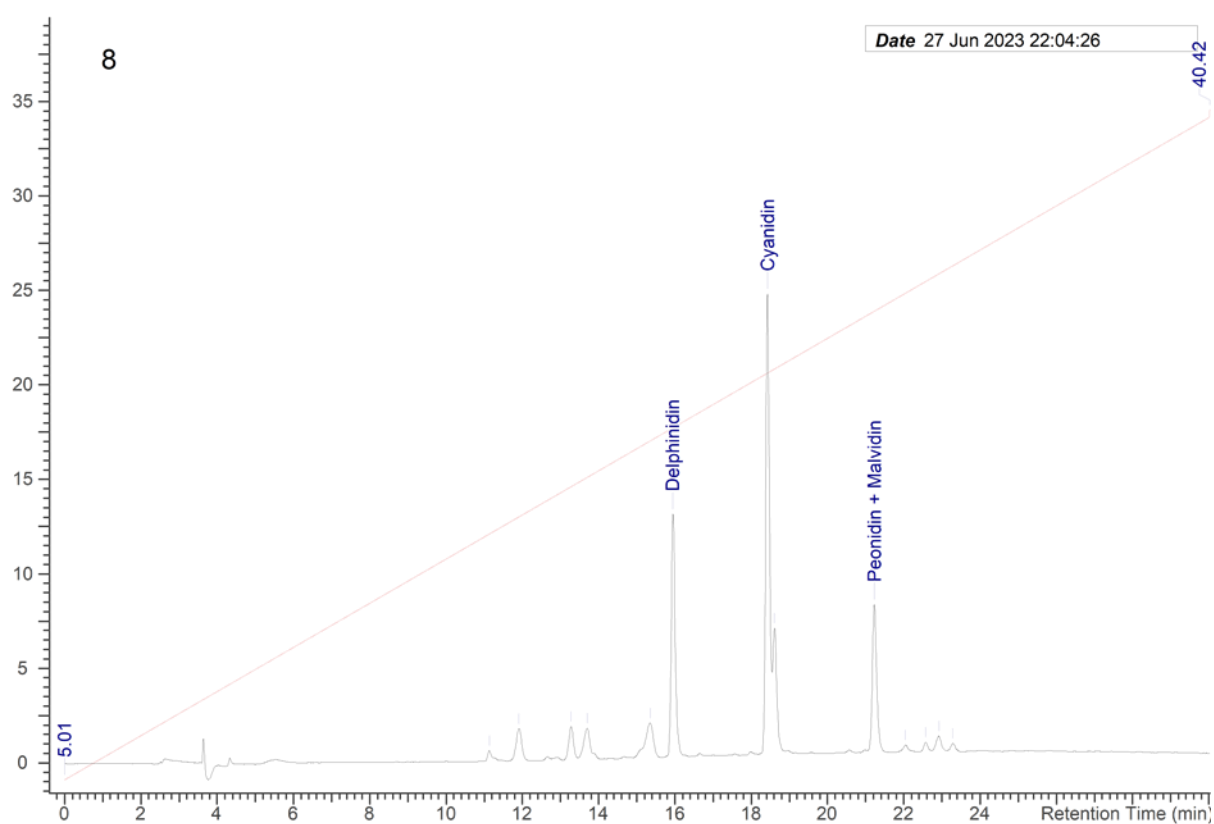


Рисунок 3 – Хроматограмма извлечения из плодов черники кавказской (экстрагент: спирт этиловый 70% с содержанием хлористоводородной кислоты концентрированной 1%)

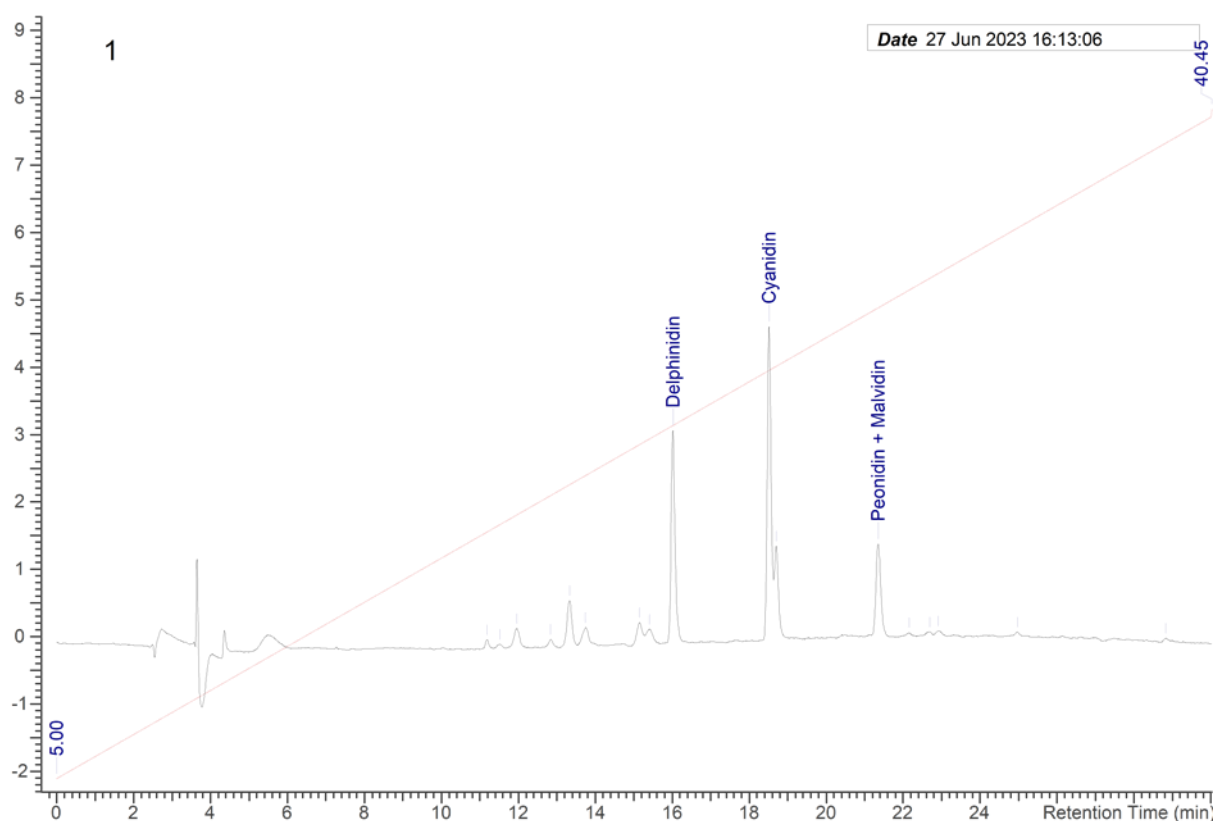


Рисунок 4 – Хроматограмма извлечения из плодов черники обыкновенной (экстрагент: спирт этиловый 70% с содержанием хлористоводородной кислоты концентрированной 1%)

При втором способе пробоподготовки (раздел 2.4.1.2) (экстрагент: спирт этиловый 70%) обнаруживаются 9 антоцианов в плодах черники обыкновенной, среди которых преобладают цианидин-3-глюкозид (16,7%), дельфинидин-3-галактозид (12,9%) и дельфинидин-3-глюкозид (12,89%). В плодах черники кавказской обнаружены 8 антоцианов, в том числе мальвидин-3-глюкозид (22,2%), дельфинидин-3-глюкозид (13,7%), петунидин-3-галактозид (8,9%) и цианидин-3-глюкозид (4,8%). В извлечениях из плодов обоих видов черник обнаружена неразделенная смесь цианидин-3-галактозида и дельфинидин-3-арабинозида (рисунок 5, 6, таблица 7). Последовательность выхода пиков и их относительное содержание сопоставляли с литературными данными, что позволило достоверно идентифицировать компоненты полученных извлечений [32].

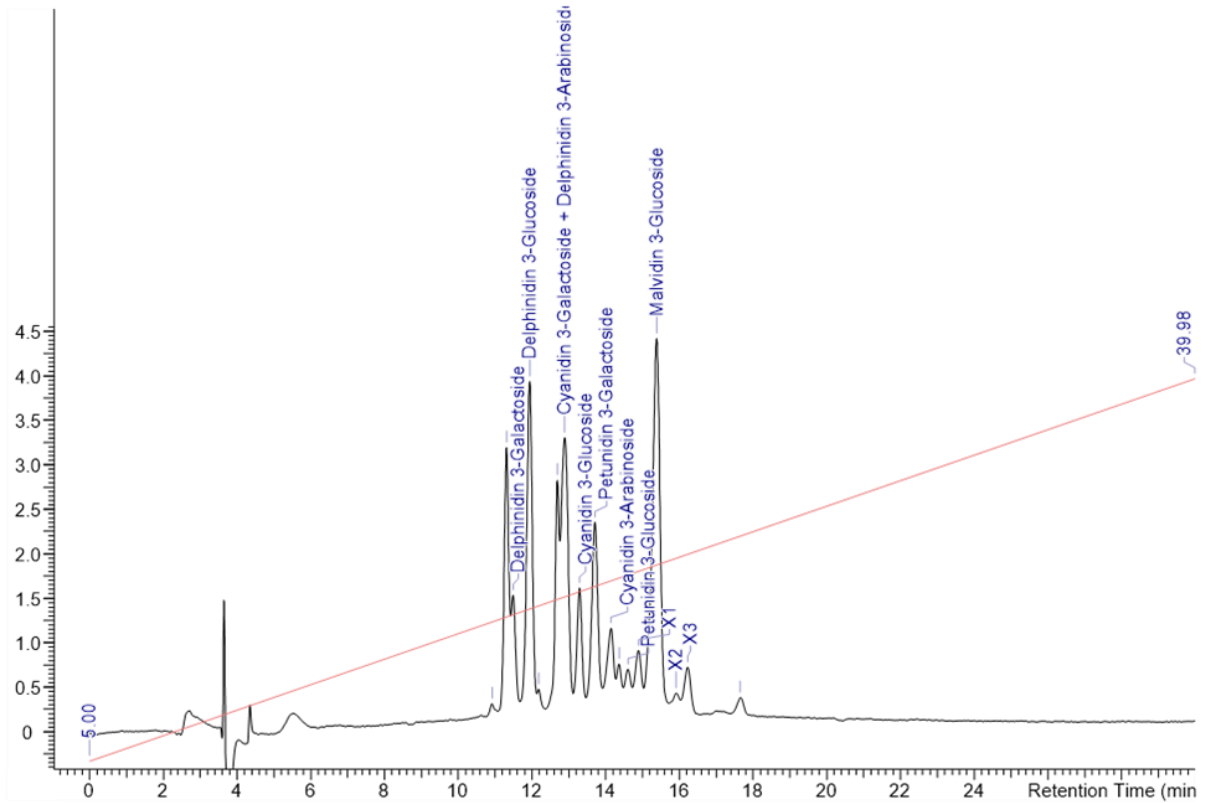


Рисунок 5 – Хроматограмма извлечения из плодов черники кавказской (экстрагент: спирт этиловый 70%)

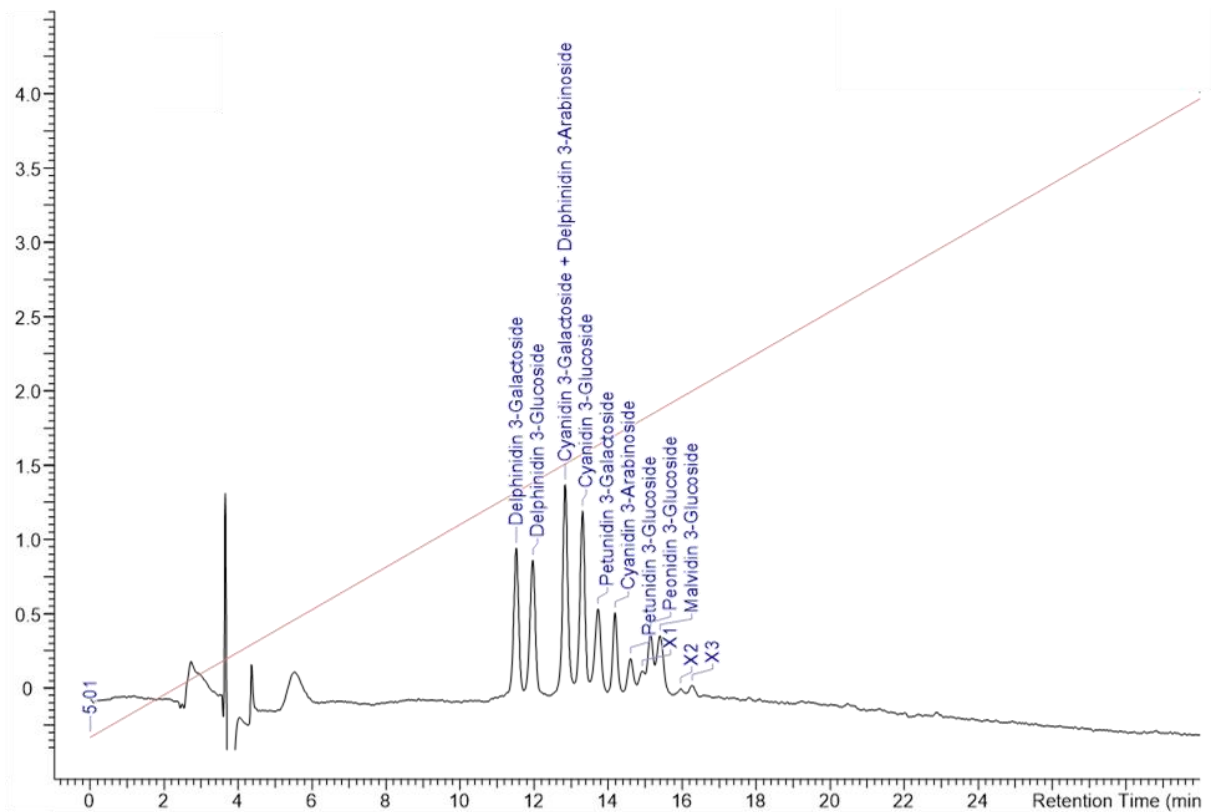


Рисунок 6 – Хроматограмма извлечения из плодов черники обыкновенной (экстрагент: спирт этиловый 70%)

Таблица 7 – Результаты определения антоцианового состава в плодах черники кавказской (ЧК) и черники обыкновенной (ЧО) в пересчете на воздушно-сухое сырье

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

Исходя из экспериментальных данных видно, что при использовании для экстракции антоцианов из плодов черники кавказской и черники обыкновенной метода 1 (с добавлением хлористоводородной кислоты 1% по объему) на хроматограмме обнаруживались агликаны, при использовании метода 2 (без добавления хлористоводородной кислоты 1% по объему) обнаруживались гликозиды антоцианов. Антоциановый состав черники кавказской и черники обыкновенной в высушенных плодах имел идентичный профиль на ВЭЖХ хроматограммах, отличие наблюдалось в количественном содержании каждого компонента [13].

3.3. Жирные и органические кислоты черники кавказской и черники обыкновенной плодов

В плодах черники кавказской методом газовой хроматографии (раздел 2.4.2) обнаружено 11 жирных кислот, среди которых доминирующими являются пальмитиновая (29,3% от суммы пиков 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 8) [16].

Хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот из плодов черники кавказской и черники обыкновенной представлены на рисунках 7, 8.

Таблица 8 – Жирнокислотный состав плодов черники кавказской и черники обыкновенной в пересчете на воздушно-сухое сырье

№	Наименование соединения	Черника кавказская		Черника обыкновенная	
		Содержание, мг/кг	Доля от суммарного содержания жирных кислот, %	Содержание, мг/кг	Доля от суммарного содержания жирных кислот, %
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	-	-

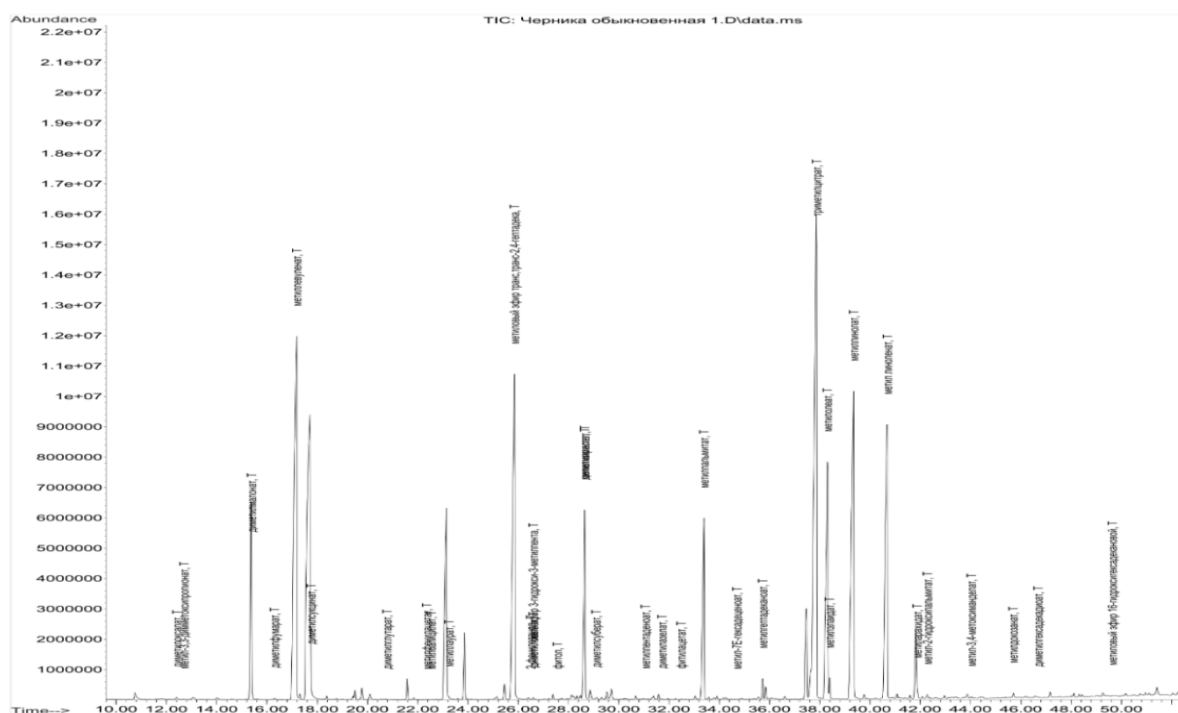


Рисунок 8 – Хроматограмма метилированного извлечения в области выхода метиловых эфиров жирных кислот: из плодов черники обыкновенной

В дихлорметановых извлечениях обнаружены, кроме пиков растворителя и метиловых эфиров жирных кислот, другие компоненты: в плодах черники кавказской идентифицировано 18 соединений, доминирующими по содержанию являются лимонная (73,7% от суммы других соединений, кроме жирных кислот), леулиновая (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%), леулиновая (27,1%), транс,транс-2,4-гептадиеновая (22,9%), яблочная (7,6%) кислоты (таблица 9) [16].

Таблица 9 – Компоненты дихлорметанового извлечения плодов черники кавказской и черники обыкновенной, за исключением растворителя и жирных кислот в пересчете на воздушно-сухое сырье

№	Наименование соединения	Черника кавказская		Черника обыкновенная	
		Содержание, мг/кг	Доля от суммарного содержания органических кислот, %	Содержание, мг/кг	Доля от суммарного содержания органических кислот, %
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.	Пироглициновая 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-метилпентандионовая 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

По данным литературы плоды черники обыкновенной содержат жирное масло и покрыты восковым налетом [38], в связи с чем целесообразным является определение суммарного содержания жирных масел (липофильной фракции) согласно методике 1 ОФС.1.5.3.0014 "Определение содержания жирных масел в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения" [11] (таблица 10).

Таблица 10 – Содержание жирного масла в плодах черники кавказской (1-5) и черники обыкновенной (6) с метрологическими характеристиками

Образец	n	f	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	t(P, f)	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$
1. северо-западный склон горы Фишт, Республика Адыгея	6	5	6,07	0,251 2	0,102 5	2,57	0,26	4,08
2. гора Кизельбек, село Соленое, Псебайский район, Краснодарский край	6	5	6,38	0,247 8	0,101 2	2,57	0,26	4,34
3. северный берег озера Голубое, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	6	5	5,53	0,238 6	0,097 4	2,57	0,25	4,53

4. берег реки Пшихашха, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	6	5	6,69	0,196 2	0,080 1	2,57	0,21	3,08
5. окрестности Карачаевска, Карачаевский район, Карачаево-Черкесская Республика	6	5	5,46	0,205 7	0,084 0	2,57	0,22	3,95
6. черника обыкновенная «ФитоФарм», г. Анапа	6	5	5,74	0,257 1	0,105 0	2,57	0,27	4,70

Исходя из данных таблицы 10 максимальное содержание жирных масел накапливается в плодах черники кавказской образец № 4 ($6,69 \pm 0,21\%$), минимальное в образце 5 ($5,46 \pm 0,22\%$), содержание жирных масел в плодах черники обыкновенной составляло $5,74 \pm 0,27\%$, что было сопоставимо с кавказским видом.

3.4. Полисахариды черники кавказской и черники обыкновенной плодов

По методике, описанной в разделе 2.3. нами было выделено из плодов черники кавказской $2,70 \pm 0,10\%$ ВРПС и $0,67 \pm 0,03\%$ ПВ (образец 1, таблица 3, раздел 2.1), и $3,62 \pm 0,14\%$ ВРПС и $1,82 \pm 0,08\%$ ПВ из черники обыкновенной плодов.

Далее методом ВЭЖХ (раздел 2.4.1.3) нами идентифицированы пики моносахаридов на хроматограммах испытуемых растворов ВРПС и ПВ после гидролиза, время удерживания которых сравнивали с временами удерживания пиков на хроматограмме смеси стандартных образцов моносахаридов (рисунок 9). В составе ВРПС из плодов черники кавказской после гидролиза обнаружены манноза, рамноза, галактуроновая кислота, глюкоза, ксилоза, галактоза и арабиноза, при этом основными по содержанию являются

арабиноза и галактоза. В ВРПС плодов черники обыкновенной найдена также глюкуроновая кислота, основными моносахарами являются галактоза и арабиноза (таблица 11, рисунки 10 и 11). Пектиновые вещества из плодов черники кавказской состоят маннозы, рамнозы, глюкуроновой и галактуроновой кислот, глюкозы, ксилозы, галактозы, арабинозы, основными по содержанию являются галактуроновая кислота и галактоза, в ПВ из плодов черники обыкновенной идентифицированы те же моносахара, доминирующими являются галактуроновая кислота и галактоза (таблица 11, рисунки 12 и 13).

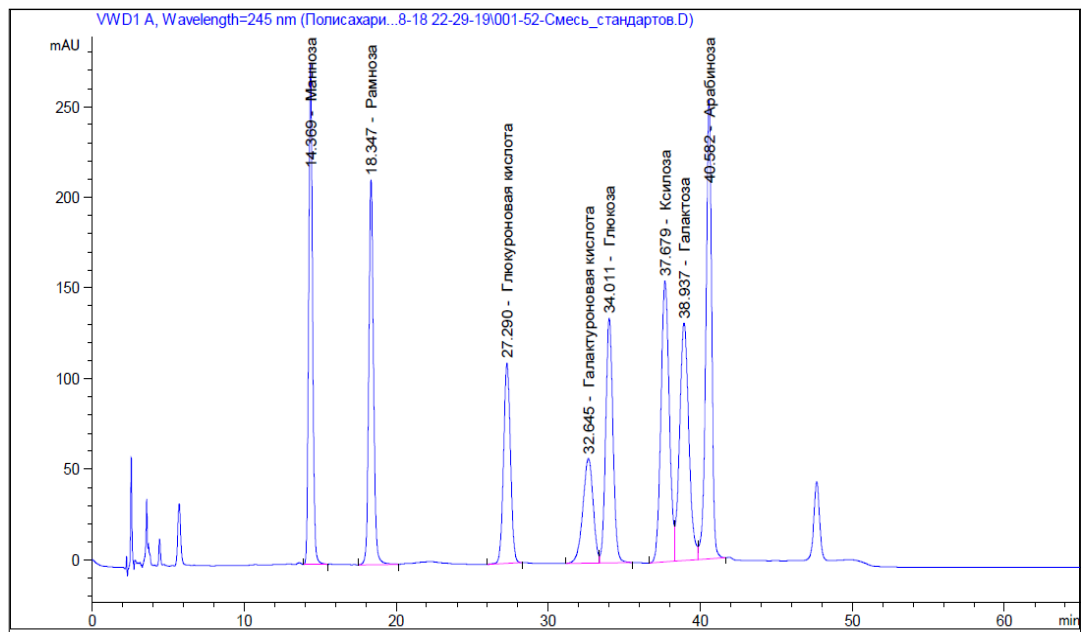


Рисунок 9 – Хроматограмма раствора смеси стандартных образцов моносахаридов

Таблица 11 – Содержание моносахаридов в полисахаридных фракциях, выделенных из плодов видов черники в пересчете на воздушно-сухое сырье, %

Образец	Манноза	Рамноза	Глюкуроновая кислота	Галактуроновая кислота	Глюкоза	Ксилоза	Галактоза	Арабиноза
Черника кавказская (плоды) ВРПС	0,07±0,01	0,03±0,01	–	0,73±0,03	0,60±0,02	0,76±0,03	1,45±0,04	1,83±0,07
Черника обыкновенная (плоды) ВРПС	0,03±0,01	0,19±0,01	0,41±0,02	0,16±0,01	0,90±0,03	1,15±0,05	5,12±0,12	3,55±0,09
Черника кавказская (плоды) ПВ	0,42±0,02	1,00±0,04	1,89±0,06	8,90±0,14	0,89±0,03	0,48±0,02	3,86±0,08	1,95±0,07
Черника обыкновенная (плоды) ПВ	0,14±0,01	1,78±0,06	1,53±0,05	14,11±0,16	0,73±0,03	0,48±0,3	4,60±0,10	1,08±0,05

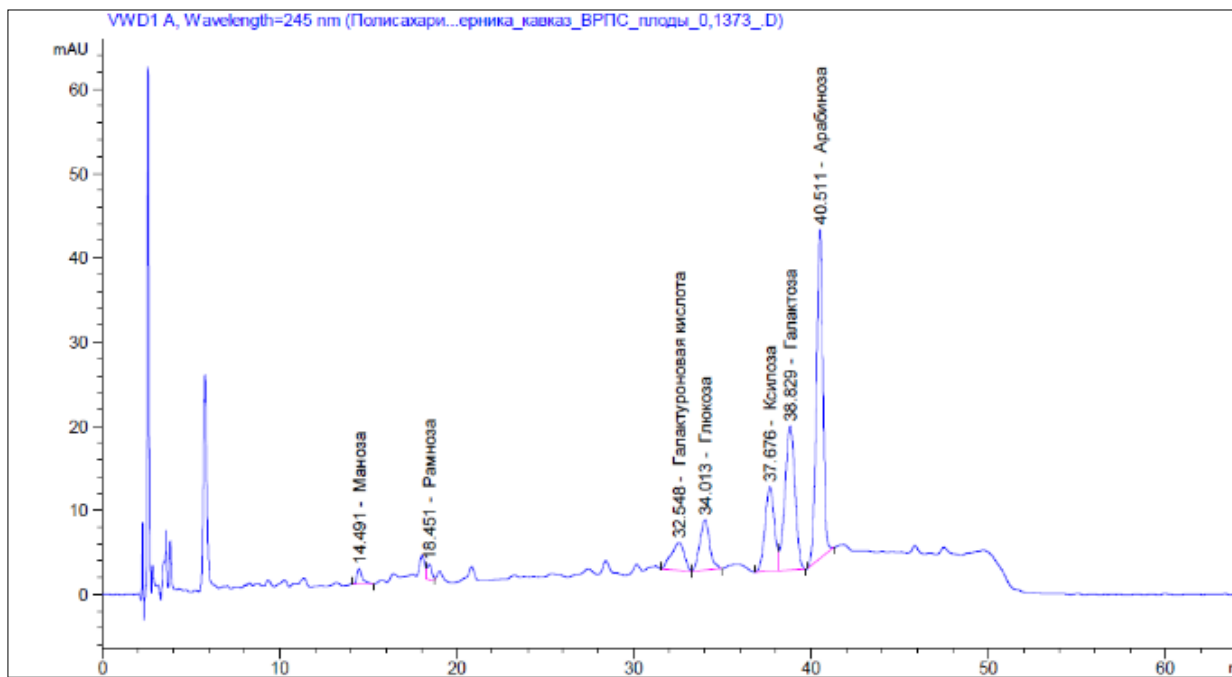


Рисунок 10 – Хроматограмма испытуемого гидролизованного раствора ВРПС из плодов черники кавказской

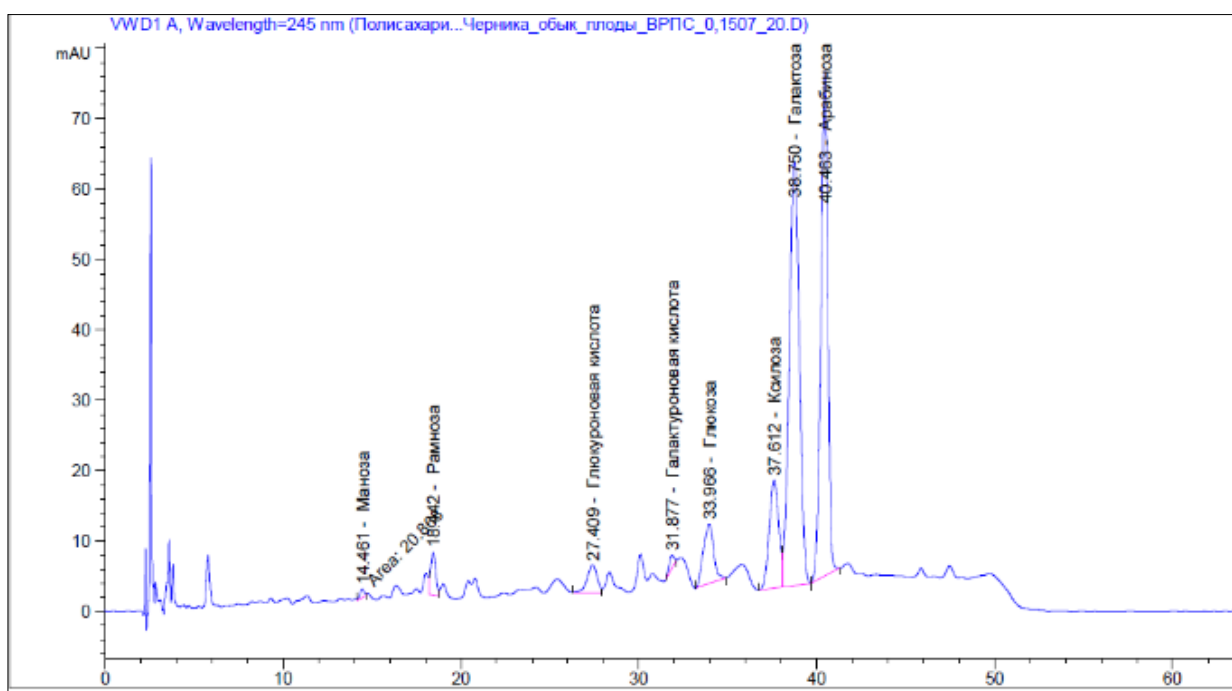


Рисунок 11 – Хроматограмма испытуемого гидролизованного раствора ВРПС из плодов черники обыкновенной

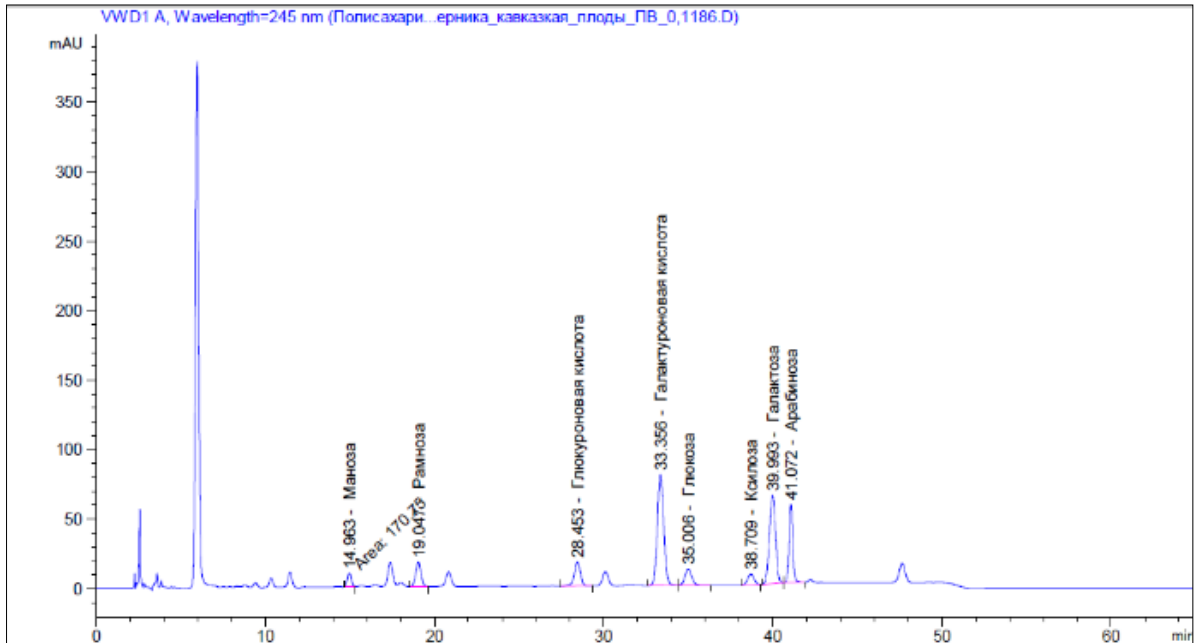


Рисунок 12 – Хроматограмма испытуемого гидролизованного раствора ПВ из плодов черники кавказской

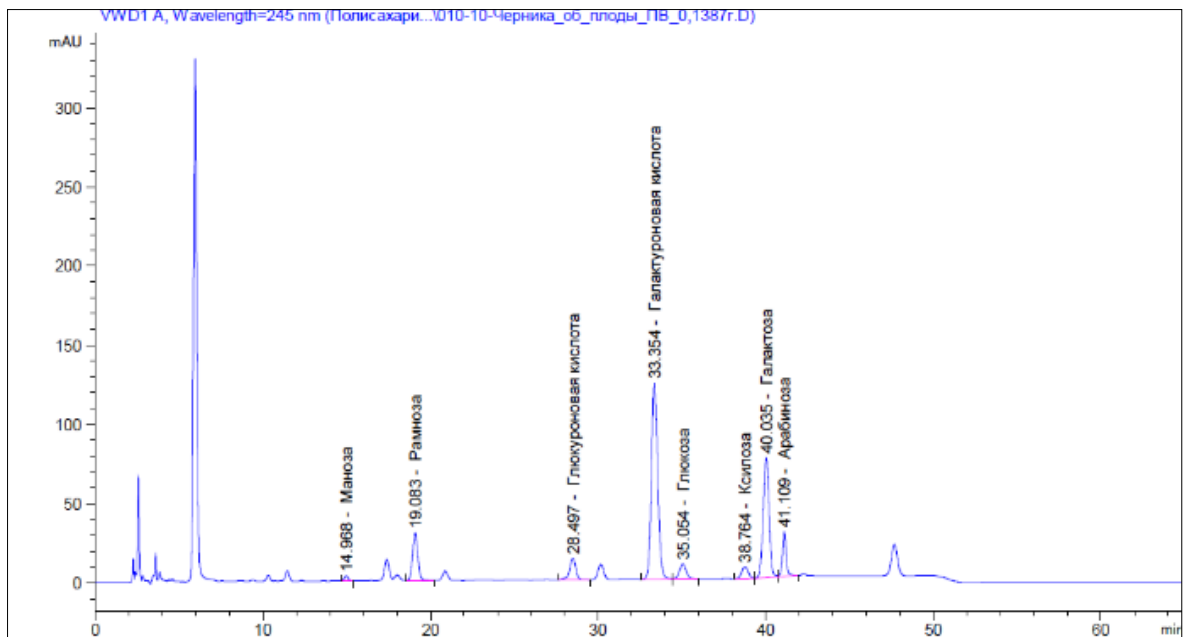


Рисунок 13 – Хроматограмма испытуемого гидролизованного раствора ПВ из плодов черники обыкновенной

При измерении и расчете параметров полученных полисахаридных фракций установлено, что молярная масса ВРПС плодов черники обыкновенной в 17 раз больше, чем у черники кавказской. Это свойство может быть использовано при разработке лекарственной формы с пролонгированным

действием, в которой ВРПС могут выступать в качестве транспортеров лекарственного вещества.

Аналогично была определена молярная масса пектиновых веществ, выделенных из плодов черники. При этом молярная масса ПВ плодов черники кавказской в 3 раза больше, чем у черники обыкновенной.

Экспериментальные и расчетные данные представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Вязкость водных растворов фракций полисахаридов, выделенных из плодов черники кавказской и черники обыкновенной (температура 21°C)

№	Концентрация С, %	Время истечения t, с	$\eta_{отн}$	$\eta_{уд}$	$\eta_{пр}$	Характеристическая вязкость $[\eta]$	Молярная масса М, г/моль
<i>ВРПС черники кавказской</i>							
H ₂ O	–	24,72	–	–	–	0,0267	662,11
1	0,2	25,09	1,02	0,02	0,07		
2	0,4	26,82	1,09	0,09	0,21		
3	0,6	28,78	1,16	0,16	0,27		
4	0,8	31,33	1,27	0,27	0,33		
5	1,0	34,64	1,40	0,40			
<i>ВРПС черники обыкновенной</i>							
H ₂ O	–	24,72	–	–	–	0,8006	11263,82
1	0,2	29,07	1,18	0,18	0,81		
2	0,4	33,49	1,35	0,35	0,82		
3	0,6	37,46	1,52	0,52	0,79		
4	0,8	44,02	1,78	0,78	0,90		
5	1,0	46,47	1,88	0,88	0,81		
<i>ПВ черники кавказской</i>							
H ₂ O	–	24,72	–	–	–	0,8889	12289,95
1	0,2	30,26	1,22	0,22	1,10		
2	0,4	38,82	1,57	0,57	1,40		
3	0,6	48,36	1,96	0,96	1,57		
4	0,8	62,58	2,53	1,53	1,88		

5	1,0	76,16	3,08	2,08	2,05		
<i>ПВ черники обыкновенной</i>							
H ₂ O	–	24,72	–	–	–	0,2175	3802,38
1	0,2	25,73	1,04	0,04	0,20		
2	0,4	27,26	1,10	0,10	0,25		
3	0,6	28,34	1,15	0,15	0,24		
4	0,8	29,00	1,17	0,17	0,21		
5	1,0	30,76	1,24	0,24	0,24		

Водные растворы ВРПС и ПВ проводят электрический ток, в связи, с чем их относят к полиэлектролитам, которые используются как ионообменники ПАВ, структурообразователи, загустители и др. [7, 36]. Макромолекулы высокомолекулярных веществ (ВМВ) содержат кислотные и основные группы, поэтому относятся к полиамфолитам, обладающим изоэлектрическим состоянием (ИЭС) при необходимом рН, которое называется изоэлектрической точкой (ИЭТ). ИЭС характеризуется одинаковым количеством ионизированных основных и кислотных групп и отсутствием заряда, при котором макромолекулы принимают глобулярную конформацию. В таком состоянии резко меняются свойства: вязкость уменьшается, набухание и растворимость снижаются. Вследствие чего ИЭТ относится к одним из основных характеристик полиамфолитов. Макромолекулы ВРПС и ПВ включают в себя больше диссоциирующих кислотных групп, чем основных – они более сильные кислоты, чем основания, из-за чего их ИЭТ предположительно меньше 7 [46]. Результаты экспериментов представлены в таблице 13.

Полученные результаты подтверждают электронейтральное состояние полисахаридных комплексов при рН меньше 7. Более низкое значение рН, при котором установлена ИЭТ полисахаридных фракций, связано с высоким содержанием галактуроновой и глюкуроновой кислоты, особенно в ПВ.

Таблица 13 – Определение ИЭТ водорастворимых полисахаридов, выделенных из плодов черники кавказской и черники обыкновенной (температура 21 °С)

№	1	2	3	4	5	6	H ₂ O
V _{CH₃COOH} , мл	9,7	9,2	7,8	5,2	2,6	1,0	–
V _{CH₃COONa} , мл	0,3	0,8	2,2	4,8	7,4	9,0	–
pH раствора	3,2	3,7	4,2	4,7	5,2	5,7	–
<i>ВРПС черники кавказской</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	24,15	24,5 7	24,4 3	24,8 6	24,7 7	25,6 8	24,7 2
Относительная вязкость $\eta_{отн}$	0,97	0,99	0,98	1,01	1,00	1,04	–
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	3,2						
<i>ВРПС черники обыкновенной</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	28,92	31,47	28,99	29,14	28,80	29,47	24,72
Относительная вязкость $\eta_{отн}$	1,17	1,27	1,17	1,18	1,16	1,19	–
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	5,2						
<i>ПВ черники кавказской</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	29,72	33,11	29,30	29,92	29,93	29,18	24,72
Относительная вязкость $\eta_{отн}$	1,20	1,34	1,19	1,21	1,21	1,18	–
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	4,2						
<i>ПВ черники обыкновенной</i>							
Время истечения <i>t</i> , с	25,19	25,65	25,42	25,64	25,86	25,69	24,72
Относительная вязкость $\eta_{отн}$	1,02	1,04	1,03	1,04	1,05	1,04	–
Изоэлектрическая точка (ИЭТ)	3,2						

Большинство природных полисахаридов и пектиновых веществ обладают поверхностной активностью, определяющей их применение. Нами экспериментально доказано, что ВРПС и ПВ из плодов черники кавказской и черники обыкновенной относятся к поверхностно неактивным веществам (ПНАВ) (результаты эксперимента находятся в пределах погрешности измерения). В ходе эксперимента установлен одинаковый характер истечения

из сталагмометра серии растворов полисахаридов и растворителя – воды, а также одинаковый уровень поднятия жидкости в приборе Ребиндера.

Результаты расчета коэффициентов распределения и степени ассоциации полисахаридов и пектиновых веществ, выделенных из плодов черники кавказской и черники обыкновенной, представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Экспериментальные данные и результаты определения коэффициента распределения и степени извлечения полисахаридных фракций, выделенных из плодов черники кавказской и черники обыкновенной

№	C ₀ , %	R ₀ , Ом/см	R ₁ , Ом/см	C ₁	C ₂	lg C ₁	lg C ₂	K _{граф}	n	K	α, %
<i>ВРПС черника кавказская</i>											
1	0,1	7987	8380	0,10	0,005	- 1,02	- 2,33	1,31	0,48	1,27	43
2	0,2	4249	4588	0,19	0,02	- 0,73	- 1,83			1,42	
3	0,3	3375	3917	0,26	0,04	- 0,58	- 1,38			1,21	
4	0,4	2673	3120	0,34	0,06	- 0,46	- 1,24			1,37	
									K _{сред}	1,32	
<i>ВРПС черника обыкновенная</i>											
1	0,1	20114	21166	0,10	0,01	- 0,99	- 2,27	0,49	0,30	0,49	66
2	0,2	8310	13202	0,14	0,08	- 0,86	- 1,09			0,29	
3	0,3	7610	9684	0,26	0,07	- 0,59	- 1,16			0,57	
4	0,4	4669	5915	0,34	0,09	- 0,46	- 1,04			0,70	
									K _{сред}	0,51	
<i>ПВ черника кавказская</i>											
1	0,10	3652	4414	0,08	0,02	- 1,07	- 1,76	1,50	0,72	1,53	40
2	0,20	2265	2919	0,16	0,05	- 0,80	- 1,34			1,45	
3	0,31	1700	2248	0,23	0,07	- 0,64	- 1,13			1,49	
4	0,41	1392	1868	0,30	0,10	- -	- -			1,54	

						0,52	0,98				
									К _{сред}	1,50	
<i>ПВ черника обыкновенная</i>											
1	0,1	3420	4037	0,09	0.02	-	-	2,61	0,82	2,70	28
2	0,2	1689	2091	0,16	0.04	-	-			2,40	
3	0,3	1342	1651	0,25	0.06	-	-			2,65	
4	0,4	1237	1531	0,33	0.08	-	-			2,71	
									К _{сред}	2,61	

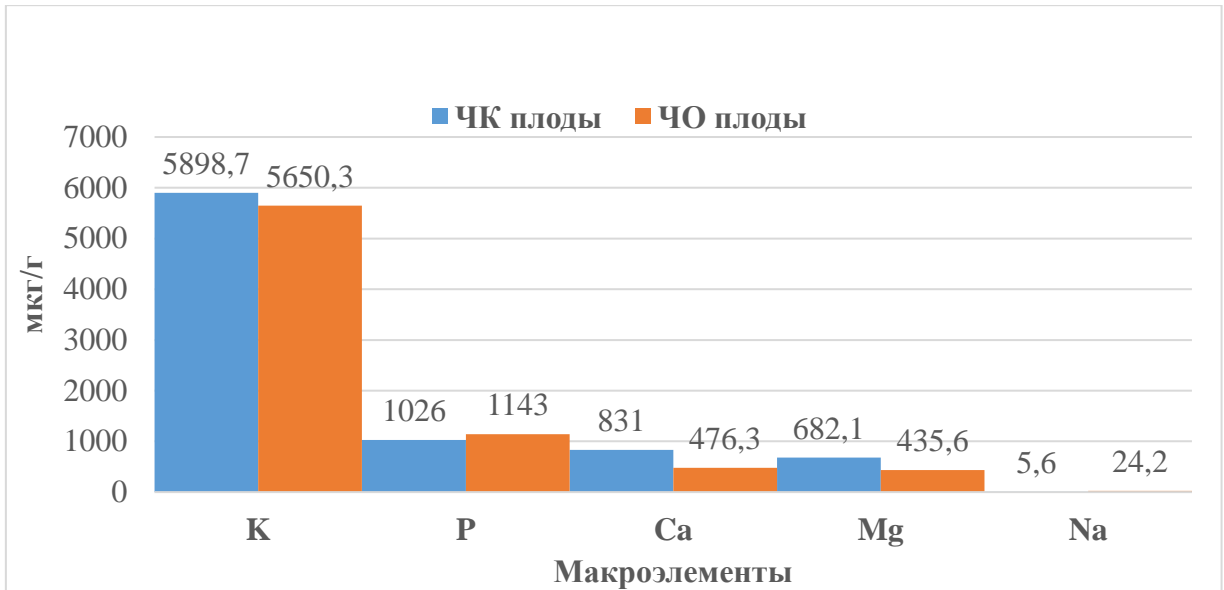
Коэффициенты распределения, рассчитанные по уравнению закона распределения Нернста, сопоставимы с найденными графически, что говорит о достоверности полученных результатов. Таким образом, наилучшей проникающей способностью обладают ВРПС из плодов черники обыкновенной (коэффициент распределения составил 0,51, степень извлечения 66%) и ПВ из плодов черники кавказской (коэффициент распределения составил 1,5, степень извлечения 40%) [17].

3.5. Элементный состав черники кавказской и черники обыкновенной плодов

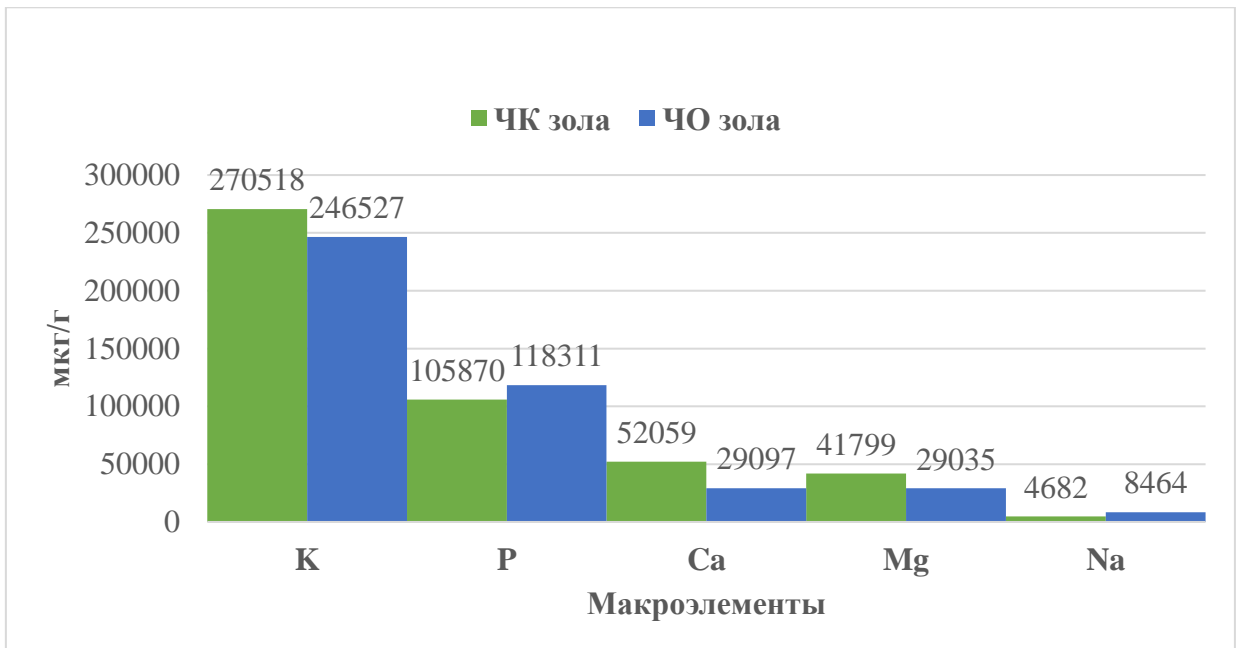
Методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (раздел 2.5.2) в воздушно-сухих плодах и золе общей в двух видах черники обнаружены следующие элементы (таблица 15), которые разделили на макро-, микроэлементы и прочие элементы (рисунки 14-16).

Таблица 15 – Минеральный состав плодов и золы черники кавказской и черники обыкновенной

№	Элемент	Содержание, мкг/г			
		Плоды		Зола	
		ЧК	ЧО	ЧК	ЧО
<i>Макроэлементы</i>					
1.	К	5898,7 ± 14,0	5650,3 ± 11,3	270518 ± 33	246527 ± 69
2.	Р	1026,0 ± 17,7	1143,0 ± 9,5	105870 ± 44	118311 ± 13
3.	Са	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					

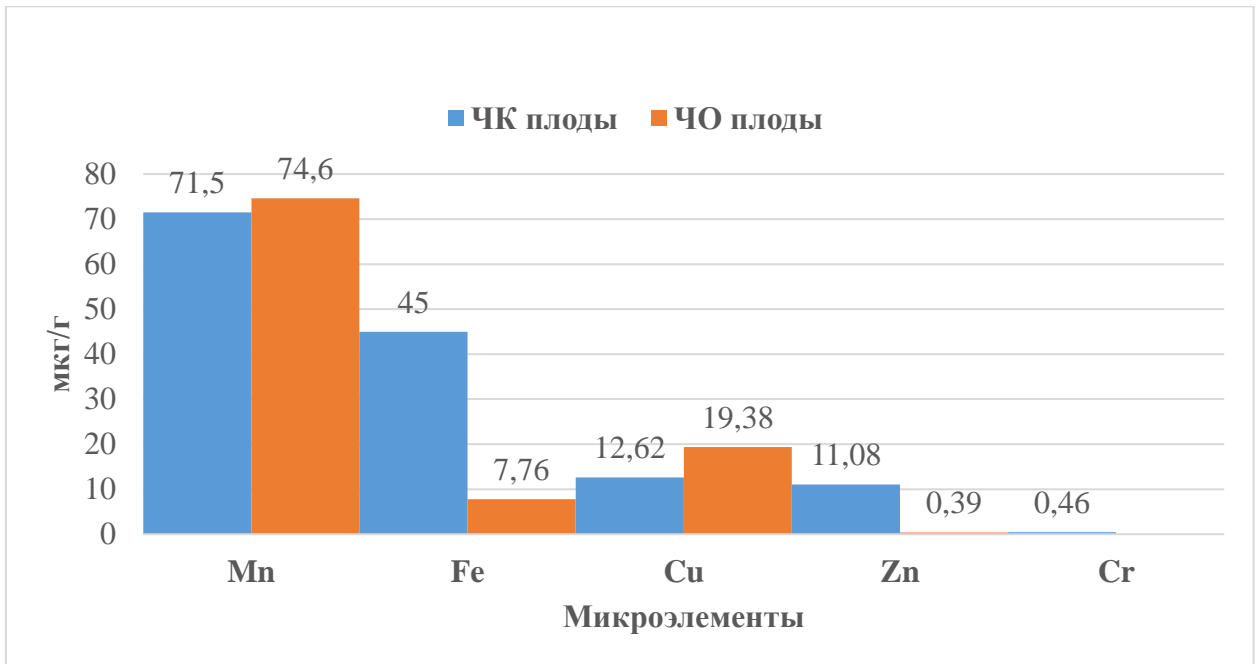


(1)

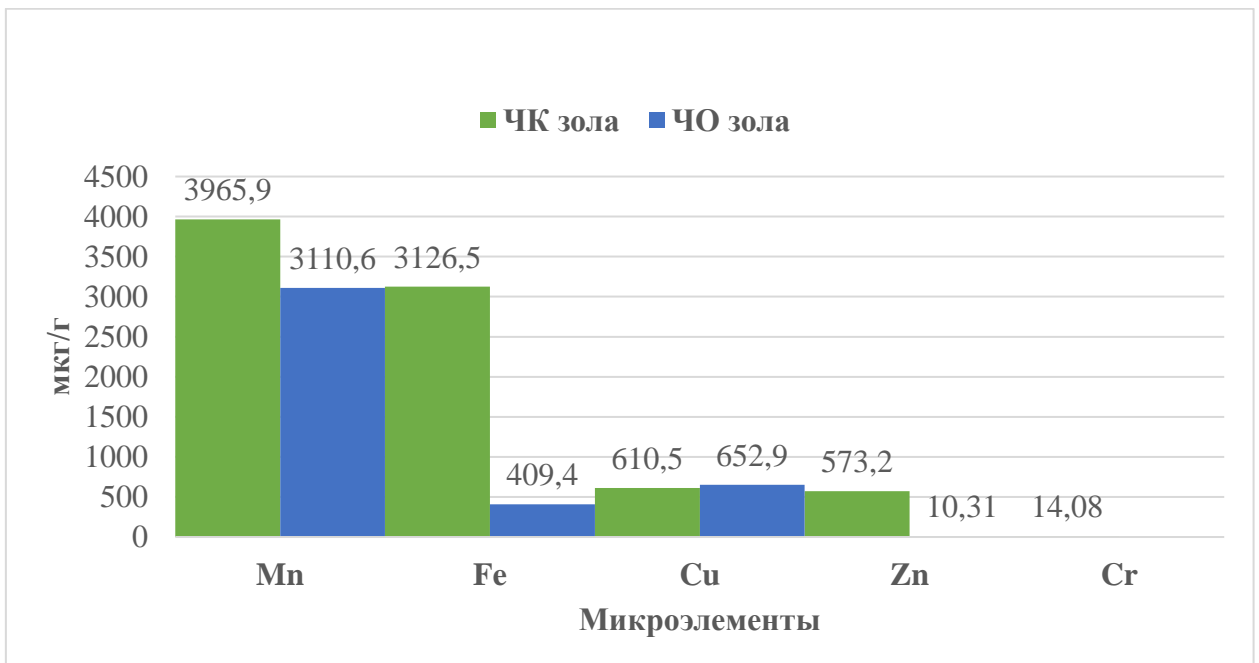


(2)

Рисунок 14 – Содержание макроэлементов в плодах (1) и золе (2) черники кавказской и черники обыкновенной

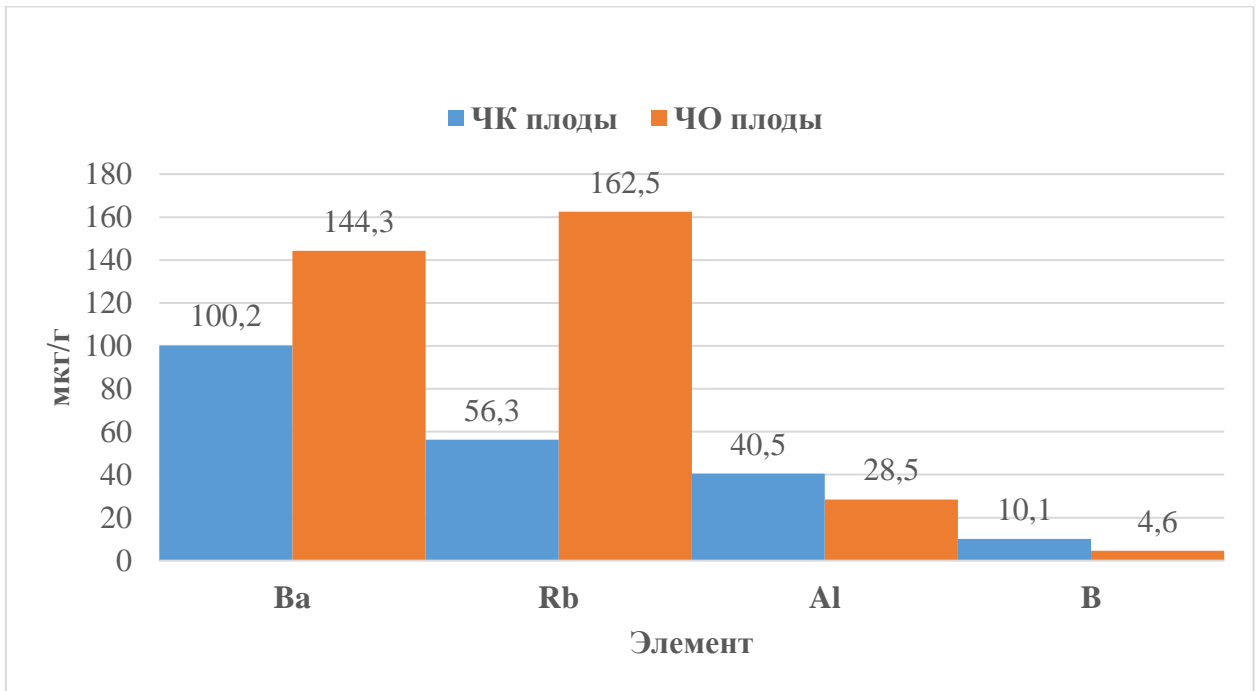


(1)

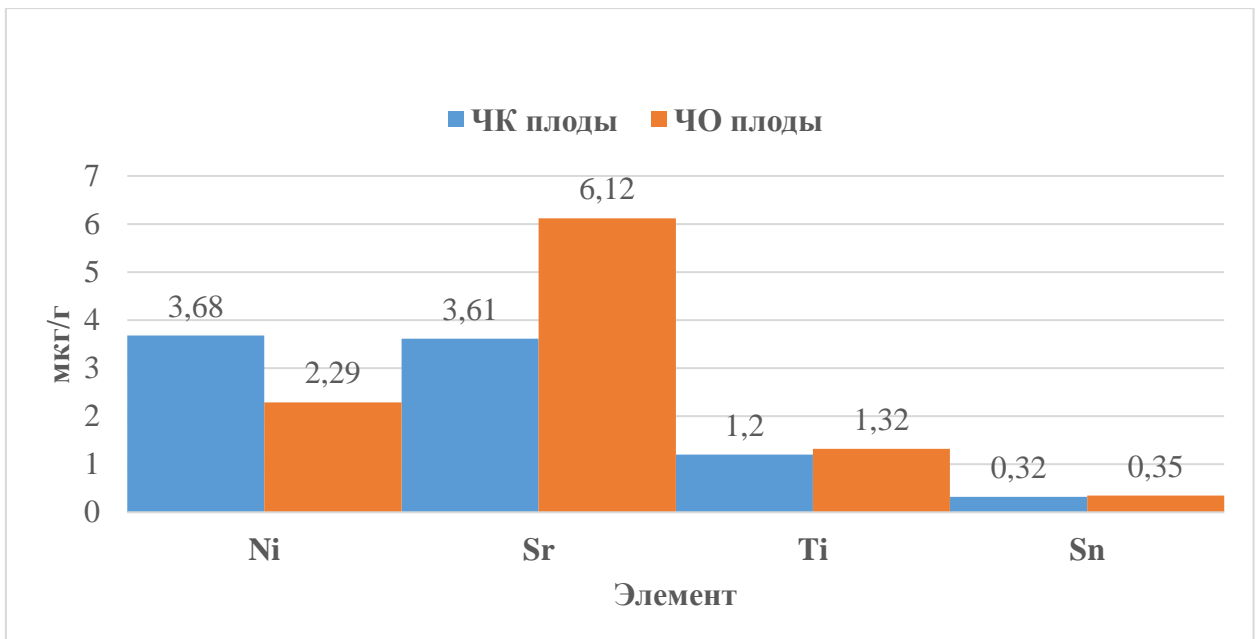


(2)

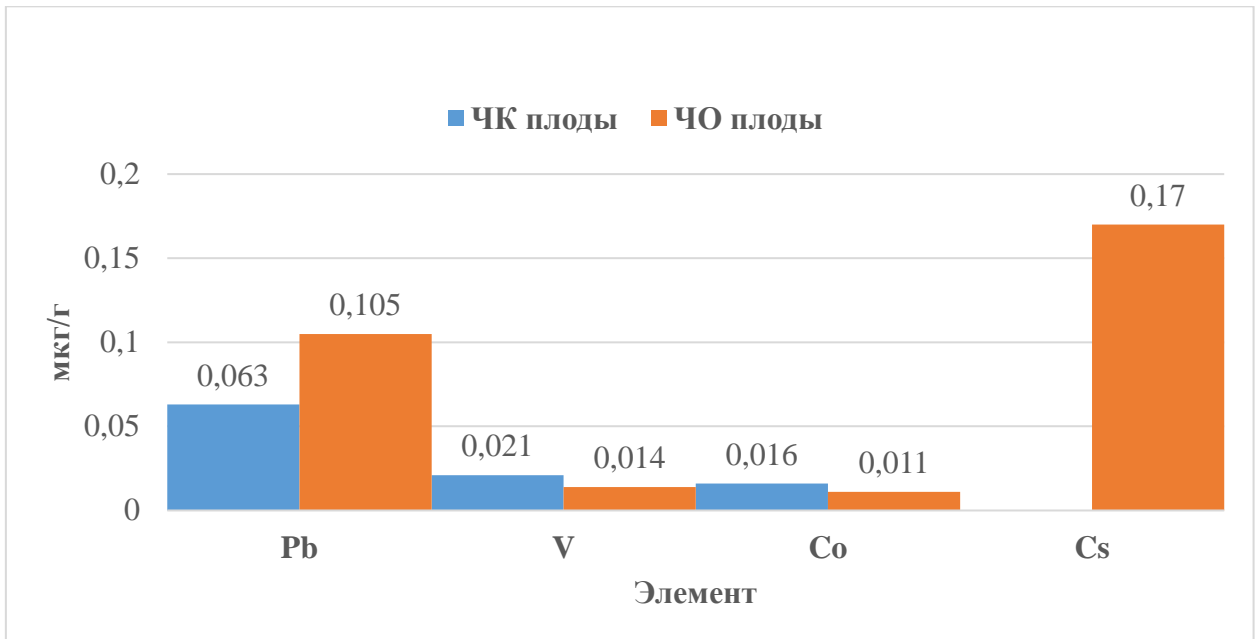
Рисунок 15 – Содержание микроэлементов в плодах (1) и золе (2) черники кавказской и черники обыкновенной



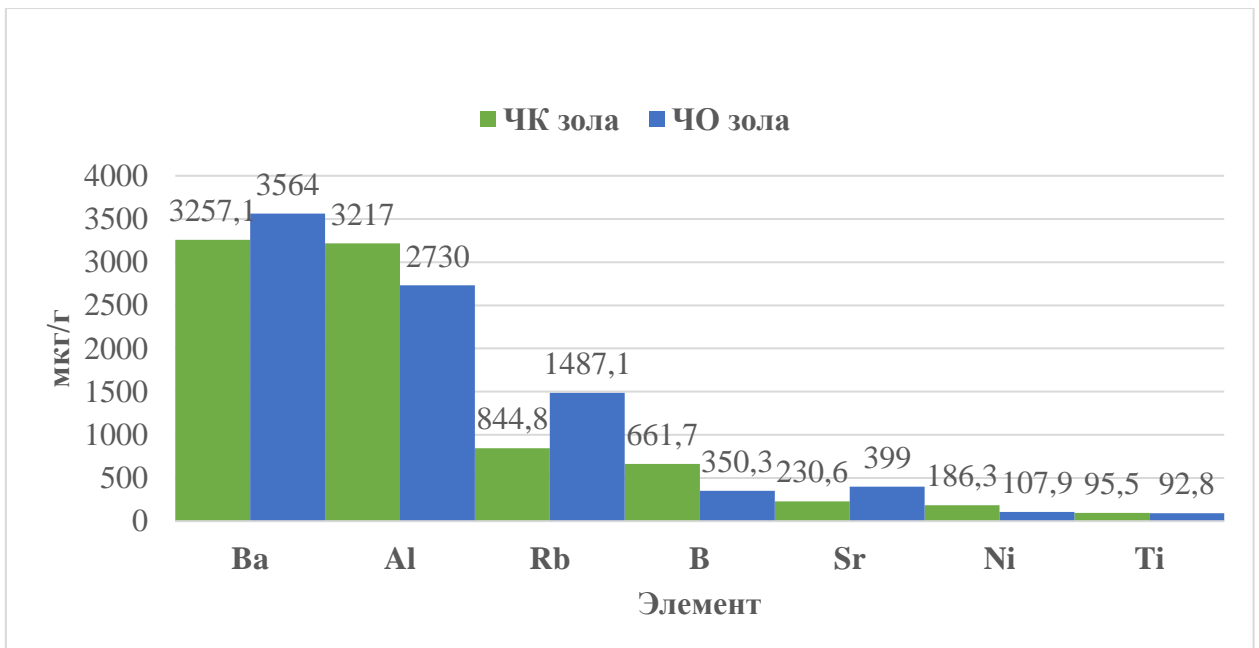
(1)



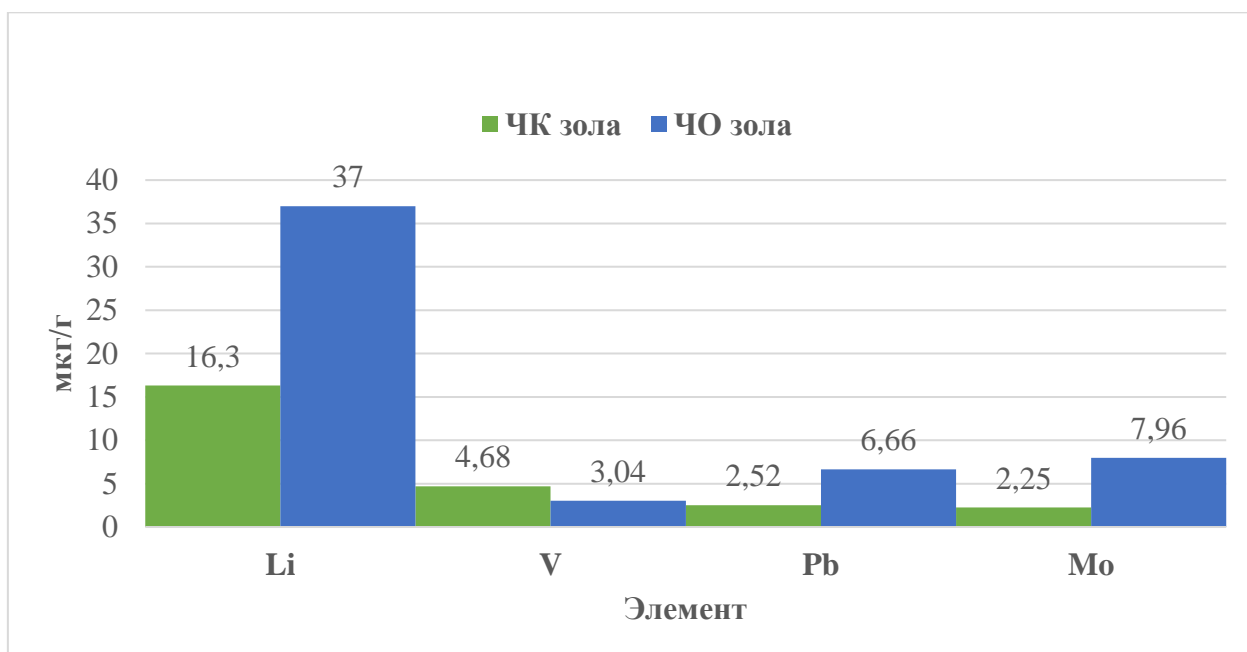
(2)



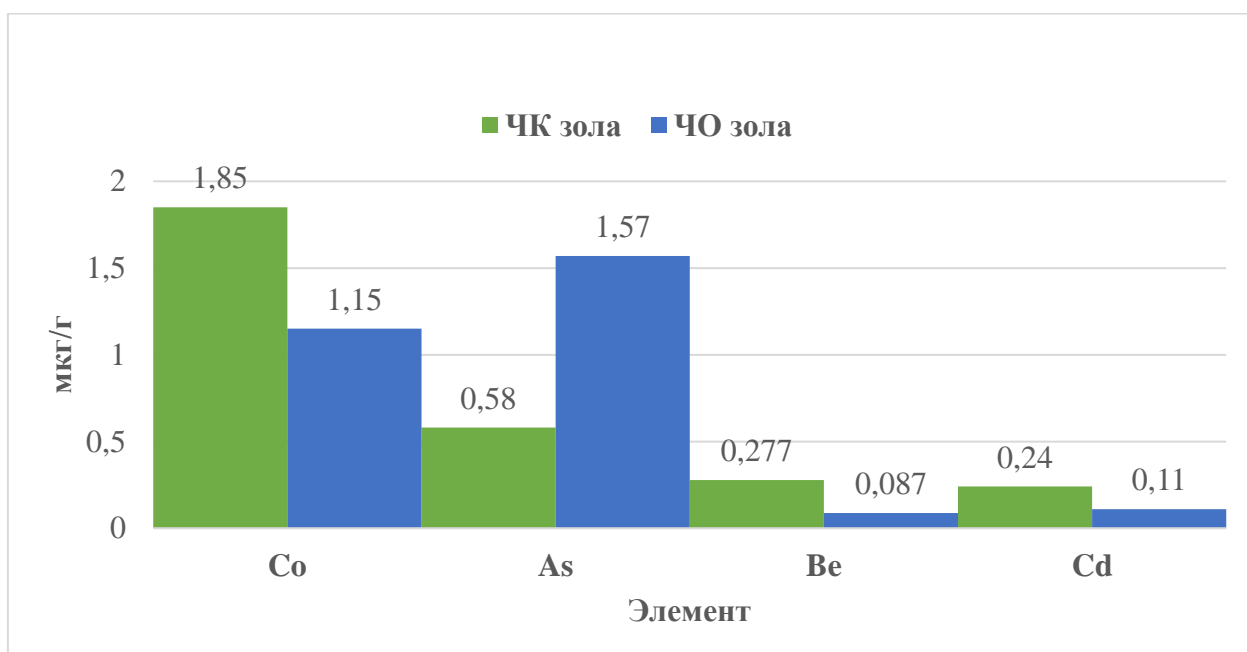
(3)



(4)



(5)



(6)

Рисунок 16 – Содержание микроэлементов в плодах (1-3) и золе (4-6) черники кавказской и черники обыкновенной

В плодах черники кавказской обнаружен 21 элемент, из них 5 – макроэлементы с преобладанием калия и фосфора; 5 – микроэлементы с преобладанием марганца, меди и цинка. Среди металлов обнаружено 11 элементов, основным 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, серебро, индий, сурьма, вольфрам, ртуть, таллий, висмут, уран.

Содержание тяжелых металлов не превышало предельно допустимые концентрации, установленные ГФ РФ XV издания [11]. При этом в литературе есть сведения о накоплении в чернике обыкновенной бария и рубидия. Накопление рубидия может быть связано с его высоким содержанием в кислых почвах, в которых произрастают многие вересковые, также он может замещать калий в метаболических процессах в растениях. Такие почвы также богаты барием [18].

3.6. Аминокислотный состав черники кавказской и черники обыкновенной плодов

Методом ионообменной хроматографии (раздел 2.4.4) в воздушно-сухих плодах черники кавказской и черники обыкновенной установили содержание сырого протеина и аминокислот. 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). По составу аминокислотный профиль представлен 8 заменимыми и 8 незаменимыми аминокислотами (лейцин, лизин, валин, треонин, фенилаланин, изолейцин, гистидин и метионин) у черники кавказской, а у черники обыкновенной в составе имеется еще одна заменимая аминокислота – цистин. Результаты представлены на рисунках 17-18 и таблице 16.

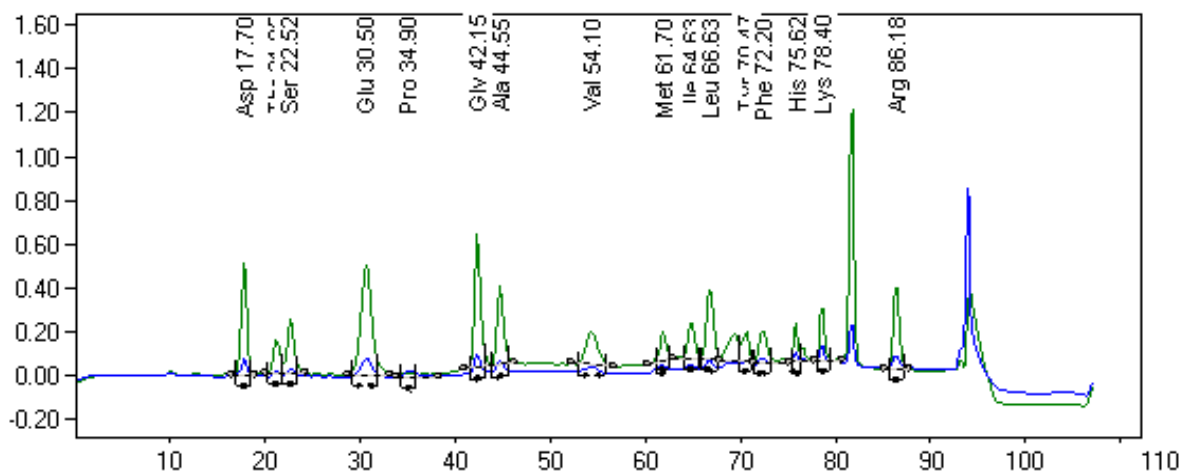


Рисунок 17 – Аминограмма черники кавказской плодов (прибор ААА 400)

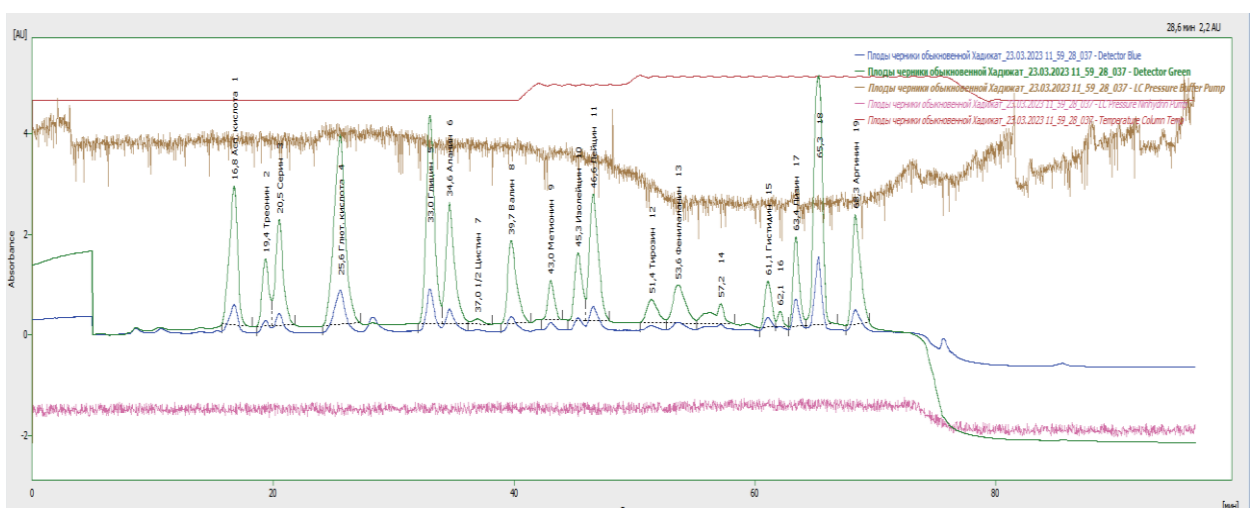


Рисунок 18 – Аминограмма черники обыкновенной плодов (прибор ААА 400)

Таблица 16 – 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				

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.

3.7. Дубильные вещества черники кавказской и черники обыкновенной плодов

Перманганатометрическим титрованием по методу 1 (в пересчете на танин) ОФС 1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XIV издания [10]. Результаты представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Содержание суммы дубильных веществ в плодах черники кавказской (1-5) и черники обыкновенной (6) в воздушно-сухом сырье и метрологические характеристики (n=6; f=5; t(P, f)=2,57)

№	Образец	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\epsilon}$
1.	северо-западный склон горы Фишт, Республика Адыгея	4,14	0,1733	0,0707	0,18	4,39
2.	гора Кизельбек, село Соленое, Псебайский район, Краснодарский край	5,33	0,2163	0,0883	0,23	4,26
3.	северный берег озера Голубое, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	3,19	0,1280	0,0523	0,13	4,22
4.	берег реки Пшихашха, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	6,70	0,2151	0,0878	0,23	3,37
5.	крестности Карачаевска, Карачаевский район, Карачаево-Черкесская Республика	4,73	0,2075	0,0847	0,22	4,60
6.	Черника обыкновенная «ФитоФарм», г. Анапа	4,21	0,1812	0,0740	0,19	4,21

Исходя из данных представленных в таблице 17 в образцах плодов черники кавказской установлено содержание дубильных веществ от

3,19±0,13% до 6,70±0,23% [15]. Сопоставимые результаты были получены для образца черники обыкновенной плодов – 4,21±0,19%.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3

1. В результате сравнительного фитохимического анализа определен фенольный профиль плодов черники кавказской (15 соединений) и черники обыкновенной (13 соединений). Обнаружены фенилпропаноиды, а именно производные кофеилхинной и ферулоилхинной кислоты, флавоноиды, преимущественно производные мирицетина (для черники кавказской мирицетин-3-рутинозид) и кверцетина (для черники обыкновенной кверцетин-3-галактозид).

2. В водно-спиртовом извлечении (спирт этиловый 70%) плодов черники кавказской без добавления хлористоводородной кислоты обнаружено 9 антоцианов: дельфинидин-3-галактозид, дельфинидин-3-глюкозид, цианидин-3-галактозид в смеси с дельфинидин-3-арабинозидом, цианидин-3-глюкозид, петунидин-3-галактозид, цианидин-3-арабинозид, петунидин-3-глюкозид, пеонидин-3-глюкозид, мальвидин-3-глюкозид, в плодах черники обыкновенной также обнаружен пеонидин-3-глюкозид. Доминирующими гликозидами антоцианов являются мальвидин-3-глюкозид, дельфинидин-3-глюкозид. При добавлении кислоты в извлечении найдены агликаны дельфинидин, цианидин, смесь пеоницина и мальвидина, среди которых преобладает цианидин. Антоциановый профиль плодов черники кавказской сравнили с профилем плодов черники обыкновенной. В последней также преобладает цианидин как основной агликон (35,4% в плодах черники кавказской и 31,4% в плодах черники обыкновенной), из гликозидных форм основные антоцианы – цианидин-3-глюкозид и гликозиды дельфинидина.

3. Определен профиль жирных и органических кислот как основных первичных метаболитов. В плодах черники кавказской преобладают насыщенная пальмитиновая кислота (29,3%), ненасыщенные линолевая (26,2%), линоленовая (24,2%) и олеиновая (17,7%) кислоты. Среди органических кислот доминирующими компонентами являются лимонная (73,7%), левулиновая (14,2%), транс,транс-2,4-гептадиеновая (8,5%) кислоты. Плоды черники обыкновенной имеют схожий с плодами черникой кавказской

профиль жирных и органических кислот. Плоды черники кавказской накапливают от 5,46% до 6,69% жирного масла, при этом в плодах черники обыкновенной обнаружено сопоставимое количество жирного масла – 5,74%.

4. Из плодов черники кавказской и черники обыкновенной были выделены фракции полисахаридов: ВРПС (2,70% и 3,62% соответственно) и ПВ (0,67% и 1,82% соответственно). В составе фракций обнаружено 8 моносахаров, кроме глюкуроновой кислоты в ВРПС из плодов черники кавказской. Основными по количественному содержанию в ВРПС плодов черник являются галактоза и арабиноза, в ПВ – галактуроновая кислота и галактоза. Наибольшую молярную массу имеют ВРПС из плодов черники обыкновенной ($M_{ВРПС} = 11263.82$ г/моль) и ПВ из плодов черники кавказской ($M_{ПВ} = 12289.95$ 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.

5. В плодах черники кавказской и черники обыкновенной обнаружено 21 и 22 элемента соответственно, из них 5 макроэлементов, 5 микроэлементов и до 12 металлов. В золе общей из плодов обоих видов обнаружено 24 элемента: по 5 макро- и микроэлементов, 14 металлов. При этом в плодах и золе установлено наибольшее содержание калия, фосфора и кальция, марганца, бария и рубидия.

6. В плодах двух видов черник обнаружено 16 аминокислот доминирующими в плодах черники кавказской глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аргинин; у черники обыкновенной глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аргинин), в плодах черники обыкновенной – 17-я аминокислота цистин. Содержание сырого протеина составило 7,11% в плодах черники кавказской, 5,3% – в плодах черники обыкновенной. Доминирующей аминокислотой в плодах видов черник является глутаминовая кислота.

7. В образце плодов черники кавказской обнаружено от 3,19 до 6,70 % суммы дубильных веществ в пересчете на танин, для черники обыкновенной плодов – 4,21 %.

ГЛАВА 4. ПОДЛИНОСТЬ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ ПЛОДОВ

4.1. Внешние признаки

Внешние признаки плодов черники кавказской описывали визуально в соответствии с требованиями ОФС.1.5.1.0007.15 «Плоды». Для сравнительного анализа внешних признаков с черникой обыкновенной плодами их описание брали из ФС.2.5.0050.15 [10]. Внешние признаки плодов черники обыкновенной соответствовали требованиям ФС.

Цельное сырье. Плоды – ягоды диаметром 5–10 мм, бесформенные, сильно сморщенные, слегка вытянутые, в размоченном виде вытянуто шаровидные. На верхней части плодов находится остаток чашечки в виде хорошо 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. У основания плода может встречаться короткая плодоножка.

Цвет плодов с поверхности – черный или черный с красноватым оттенком, блестящий; мякоти – красный или красновато – бурый; семян – розовато-красный. Запах слабый. Вкус водного извлечения кисловато-вяжущий (рисунок 19).



Рисунок 19 – Внешний вид цельных плодов черники кавказской (слева, образец 1, таблица 3, раздел 2.1.) и черники обыкновенной (справа, образец «ФитоФарм», таблица 3, раздел 2.1.)

Результаты сравнительного описания внешних признаков двух видов плодов черники приведены в таблице 18 [14].

Таблица 18 – Морфологические особенности черники кавказской и черники обыкновенной

Признак	<i>Vaccinium arctostaphylos</i> L.	<i>Vaccinium myrtillus</i> L.
Тип плода	Ягода	
Форма плода	Вытянутая шаровидная	Шаровидная
Размер плода	Диаметр 5-10 мм	Диаметр 3 – 6 мм
Околоплодник	Сочный	
Плодоножка	+	+
Количество семян	Многочисленные	
Форма семян	Вытянутой формы, неравнобокие, заостренные с обоих концов	Сжатые с боков и выпуклые по спинке
Поверхность семени	Крупносетчатая	Неясно – крупносетчатая
Размер семян	1-2 мм	1-2 мм
Цвет околоплодника	Черный или черный с красноватым оттенком	

Специфические особенности	Остаток чашечки в виде хорошо заметной, <u>сильно выступающей кольцевой оторочки</u> , окружающей вздутый диск с остатком столбика в центре	Кольцевая оторочка, окружающая вздутый диск с остатком столбика в центре на верхушке плода
Цвет мякоти	Красный или красновато – бурый	Красно -фиолетовый
Цвет семян	Розовато –красный	Красно -коричневый, темно коричневый
Запах	Слабый	
Вкус	Кисловато-вяжущий	

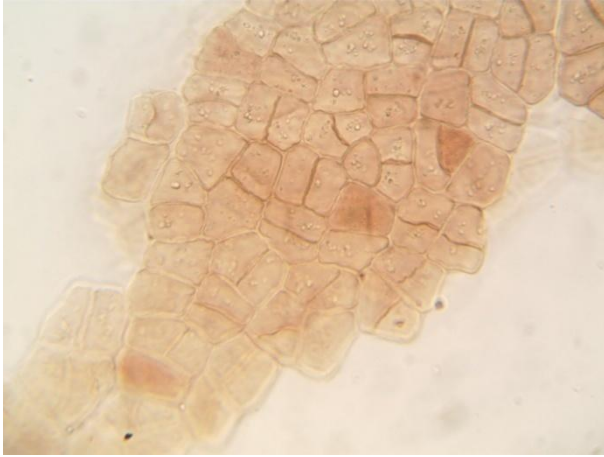
4.2. Микроскопические признаки

Плод покрыт тонким слоем кутикулы. Клетки эпидермиса плодов попарно сближены, клеточные стенки, разграничивающие пары, имеют более плотные, толстые стенки (окончатый тип) (рисунок 20-1, 20-2). Клетки эпидермиса диска более мелкие.

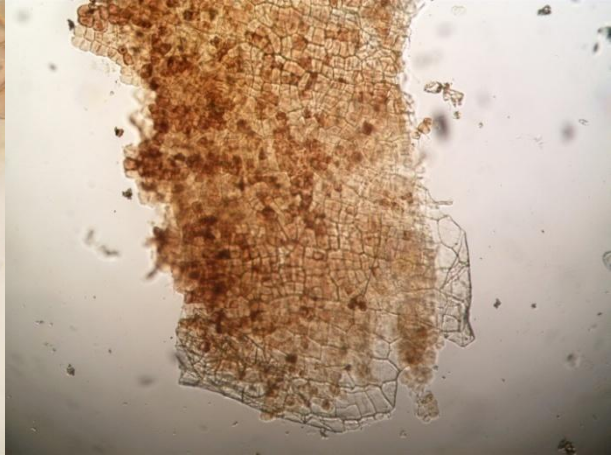
Клетки паренхимы мезокарпия рыхло расположены, зачастую окрашены антоциановыми соединениями (рисунок 20-3). Проводящие пучки отчетливо заметны и представлены сосудами со спиральным и кольчатым типами утолщения. Друзы оксалата кальция многочисленные, более мелкие располагаются вдоль проводящих пучков тяжами, а также в большом количестве и крупнее по размеру встречаются в паренхиме (рисунок 20-4). Каменистые клетки представлены склереидами и брахисклереидами, наблюдаются преимущественно в перикарпии. Брахисклереиды рассеяны в паренхиме, а склереиды составляют участки плотной ткани (рисунок 20-5-8).

Семена покрыты семенной кожурой, клетки эпидермиса которой четко выражены, вытянутые, с толстыми, склерефицированными стенками, иногда окрашенные антоциановыми соединениями. Наружная стенка эпидермальных клеток предположительно ослизняется. Зародыш располагается в эндосперме, имеющем зернистую структуру (рисунок 20-9-12).

Отличительным признаком плодов черники кавказской, в отличие от черники обыкновенной, являются друзы оксалата кальция, представленные в большем количестве и размере. При этом мелкие друзы расположены вдоль проводящих пучков в виде обкладки (рисунок 20).



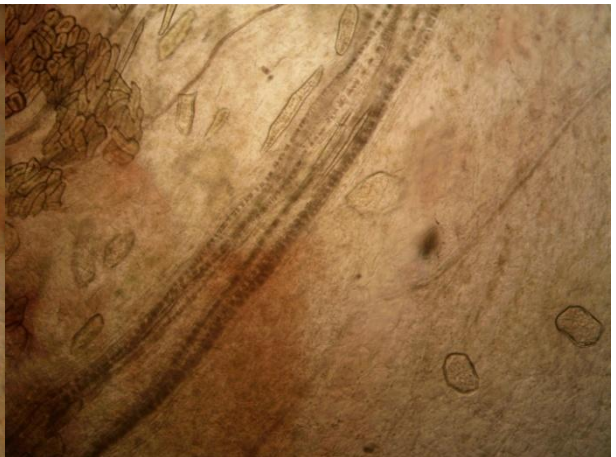
1 (ув. x100)



2 (ув. x100)



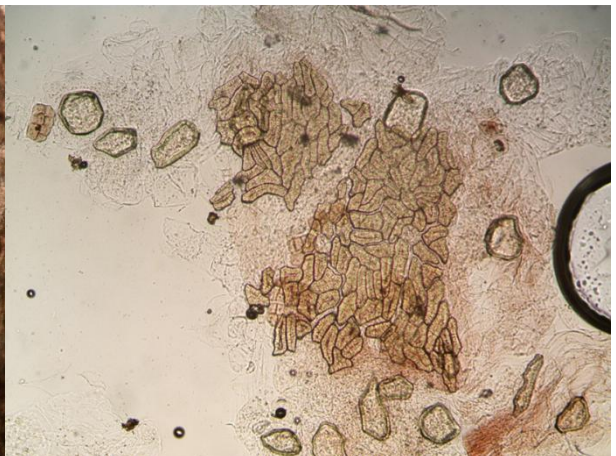
3 (ув. x400)



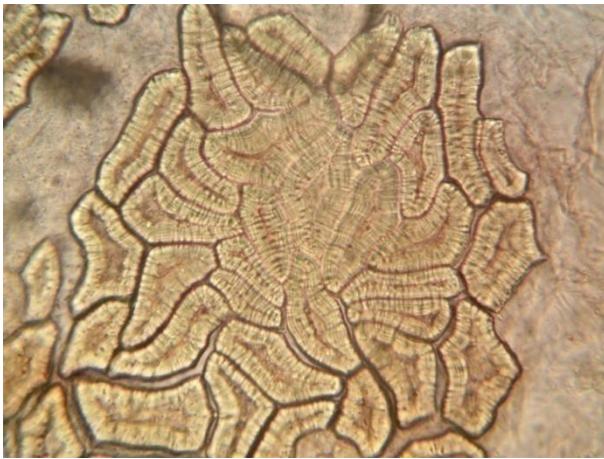
4 (ув. x100)



5 (ув. x100)



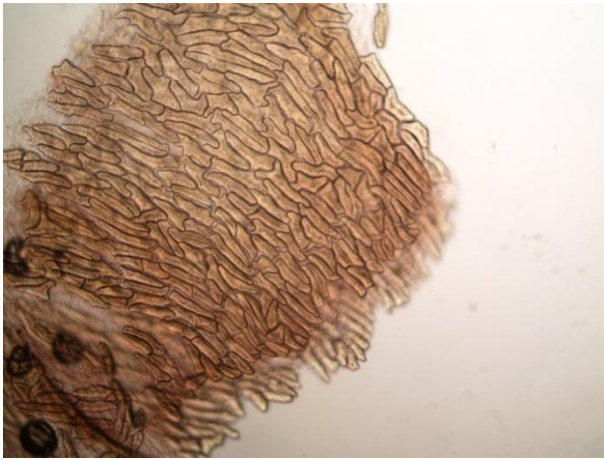
6 (ув. x100)



7 (ув. x400)



8 (ув. x400)



9 (ув. x100)



10 (ув. x100)



11 (ув. x400)



12 (ув. x100)

Рисунок 20 – Черники кавказской плоды: 1-2 - эпидермис плода; 3 – мезокарпий плода; 4 – фрагмент перикарпия с проводящими пучками с тяжами друз оксалата кальция, склереидами и брахисклереидами; 5-6 – мезокарпий с друзами оксалата кальция, склереидами и брахисклереидами; 7 – склереиды мезокарпия; 8 – брахисклереиды мезокарпия; 9 – склереиды мезокарпия; 10-11 – склерефицированные клетки семенной кожуры; 12 – поперечный срез семени с эндоспермом

Кроме того, установлены большие размеры анатомических структур в плодах черники кавказской в сравнении с плодами черники обыкновенной (таблица 19) [14].

Таблица 19 – Сравнительная характеристика анатомических признаков плодов черники кавказской и черники обыкновенной

№пп	Признак	Черника обыкновенная	Черника кавказская
1.	Клетки эпидермиса плода	11,3 – 16,5x16,6 -17,8 мкм	7,14 – 32,5x8,5-29,7 мкм
2.	Устьица	Диаметр 15,3 – 25,7 мкм, очень редкие	Диаметр 27,6 – 33,5 мкм
3.	Клетки мезокарпия	Диаметр 19,4 – 55,3 мкм	Диаметр 18,7 – 68,70 мкм
4.	Друзы оксалата кальция	Встречаются очень редко, диаметр 4,3 – 7,9 мкм	Диаметр 5,0 - 30,75 мкм, многочисленные
5.	Склериды эндокарпия	26,3 – 83,77x7,14 – 20,80 мкм	32,7- 110,8x 14,5 – 60,80 мкм
6.	Брахисклериды эндокарпия	38,0 -75,4 x 11,3 – 65,0 мкм	13,8 – 140,4x7,1 – 67,5 мкм
7.	Толщина стенки брахисклерид	5,5 – 11,5 мкм	4, 8 – 8,3 мкм
8.	Клетки семенной кожуры	20,5 – 57,9x22,3 – 25,7 мкм	30,4 – 182,3x16,2 – 56,1 мкм
9.	Толщина клеточных стенок семенной кожуры	4,7 – 6,0 мкм	6,5 – 10,8 мкм

4.3. Сравнительная характеристика плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной

Плодоножки обоих видов черники прямые или слабо изогнутые в длину достигают от 4 мм до 8 мм (рисунок 21 А, Б). Цвет плодоножек не однороден по его длине. У основания, в месте прикрепления к плоду, плодоножка как правило черно-бурого цвета. Напротив, ближе к стеблевой части плодоножка светлее и имеет светло-бурый и желто-зелёный цвет. Диаметр плодоножек

незначительно варьирует и находится в пределах от 0,5 до 1,2 мм (рисунок 21 А, Б).

Сравнение морфологических признаков плодоножек в выборке аналитической пробы (рисунок 21 В, Г) не показало видимых отличий и видовой специфичности.

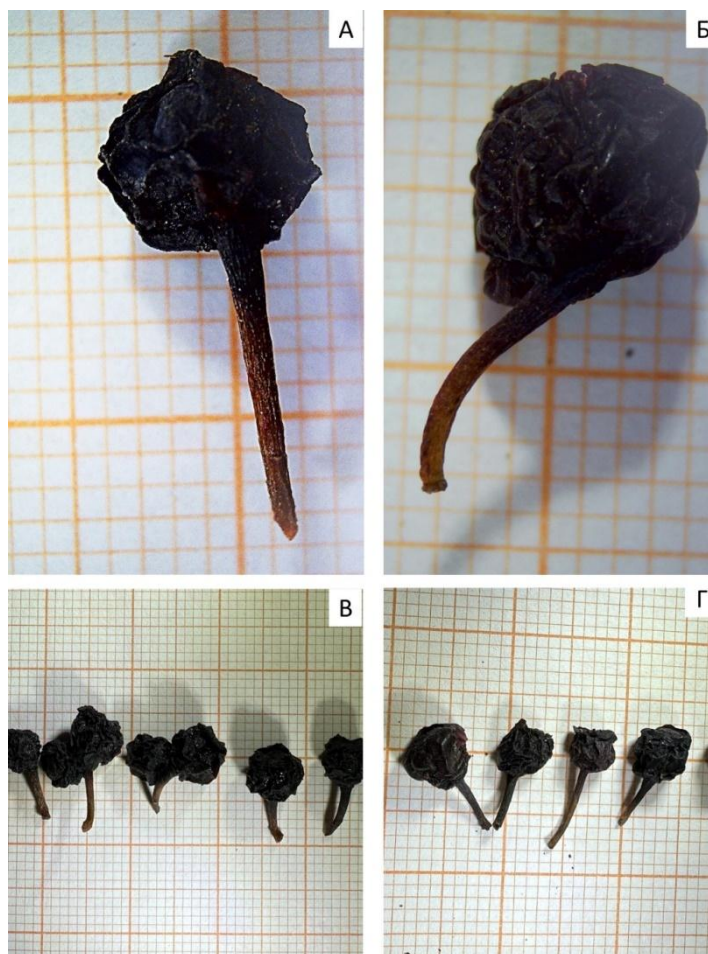


Рисунок 21 – Сравнительная морфология плодов черники обыкновенной и черники кавказской: А – общий вид плода с плодоножкой черники кавказской, Б – общий вид плода с плодоножкой черники обыкновенной, В – разнообразие плодов черники кавказской в выборке, Г - разнообразие плодов черники обыкновенной в выборке.

На поперечном сечении видно, что плодоножки обоих видов черники непучкового типа строения (рисунок 22 А, Б). Очертания поперечных сечений сравниваемых видов овальной формы. Однако для черники кавказской характерно наличие выраженной ребристой структуры, дающей общее

шестигранное очертание среза (рисунок 22 А). Напротив, у черники обыкновенной поперечное сечение плодоножки имеет устойчивую овальную форму (рисунок 22 Б).

Проводящая система плодоножек обоих видов черники представлена замкнутым кольцом ксилемных и флоэмных тканей, занимающих равный объём в центральном цилиндре (рисунок 22 А, Б). Помимо основной проводящей системы у плодоножек черники кавказской выявлены вторичные проводящие элементы в виде небольшого пучка (100 мкм в диаметре) в коровой части плодоножки (рисунок 24 А), диагностируемого по окраске с раствором сернокислого анилина (рисунок 24 В), а также хорошо заметного при контрастировании в поляризационном микроскопе (рисунок 24 Д).

По периферии флоэмной части локализовано непрерывное кольцо склеренхимных волокон, имеющих округлое очертание на поперечном сечении и сильно утолщенные лигнифицированные стенки (рисунок 22 Д, Е). Склеренхимное кольцо обрамляет совокупность крупных широкопросветных склереид в большей степени характерных для плодоножек черники кавказской (рисунок 22 Д).

Микроскопирование в поляризационном микроскопе с λ -светофильтром приводит к дополнительному контрастированию тканей с более плотными склерифицированными оболочками, что позволяет быстро идентифицировать механические ткани растительных объектов (рисунок 24 Б). Благодаря поляризации видны пористые поверхности склереид (рисунок 24 Г).

В центре плодоножки обоих видов черники имеют развитую паренхиму сердцевины, клеточные стенки которой дают положительную реакцию на лигнин (рисунок 22 Д, Е). Кроме того, клетки сердцевины контрастируют в поляризационном микроскопе аналогично склереидам флоэмной ткани, что говорит о их механической функции (рисунок 24 Б).

С поверхности плодоножки покрыты эпидермой с заметно утолщенными целлюлозными клеточными стенками. Эпидермис покрыт

тонким слоем кутикулы, окрашивающейся в розовый цвет при обработке Суданом III (рисунок 23 В). На эпидерме плодоножек черники кавказской на поперечном сечении изредка попадаются простые одно или двухклеточные кроющие волоски (рисунок 23 Д), отсутствующие на эпидерме плодоножек черники обыкновенной.

Под эпидермой плодоножек обоих видов черники локализован слой уголковой колленхимы. Колленхимный слой более выражен у плодоножек черники кавказской, где достигает до трёх слоёв клеток (рисунок 23 А).

Несмотря на меньший размер колленхимной ткани в плодоножках черники обыкновенной гиподермальный слой колленхимы значительно пигментирован в красный или красно-бурый цвет за счет антоцианов (рисунок 23 Г). Данной особенности не отмечено у плодоножек черники кавказской (рисунок 23 В).

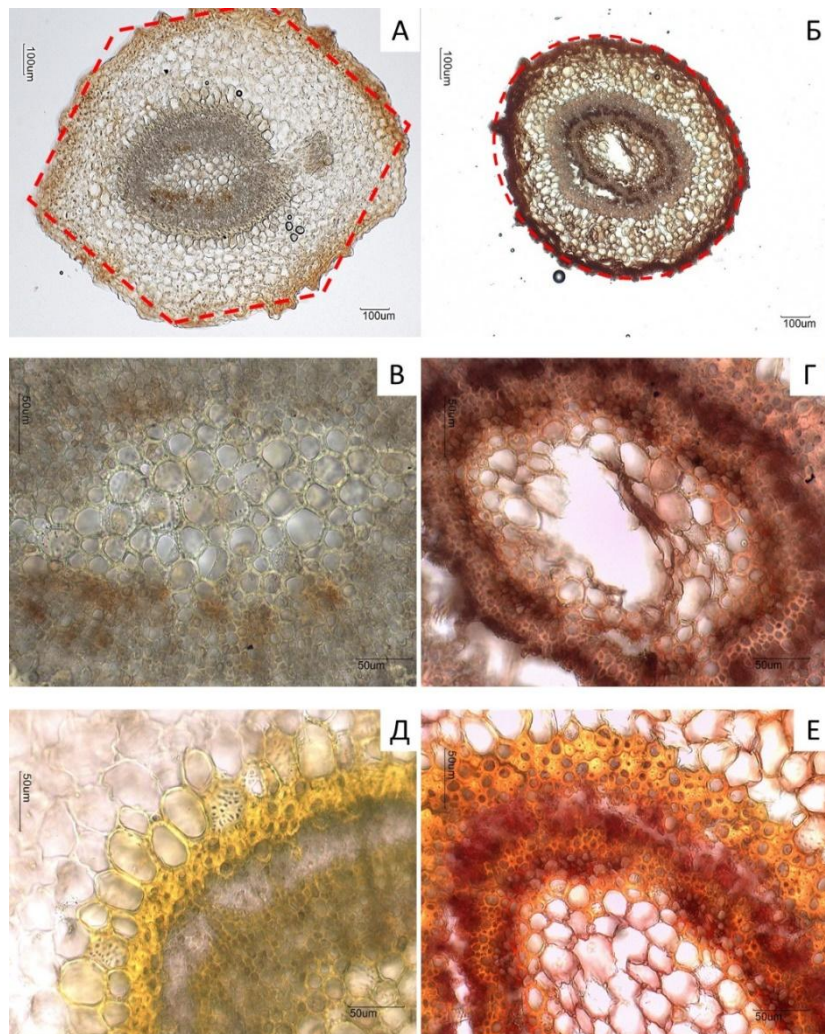


Рисунок 22 – Сравнение анатомии поперечных сечений плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной: А – Форма поперечного сечения плодоножки черники кавказской ($\times 100$), Б - Форма поперечного сечения плодоножки черники обыкновенной ($\times 100$), В – Сердцевина плодоножки черники кавказской ($\times 400$), Г - Сердцевина плодоножки черники обыкновенной ($\times 400$), Д – Проводящие ткани плодоножки черники кавказской. Окраска раствором сернокислого анилина ($\times 400$), Е – Проводящие ткани плодоножки черники обыкновенной. Окраска раствором сернокислого анилина ($\times 400$).

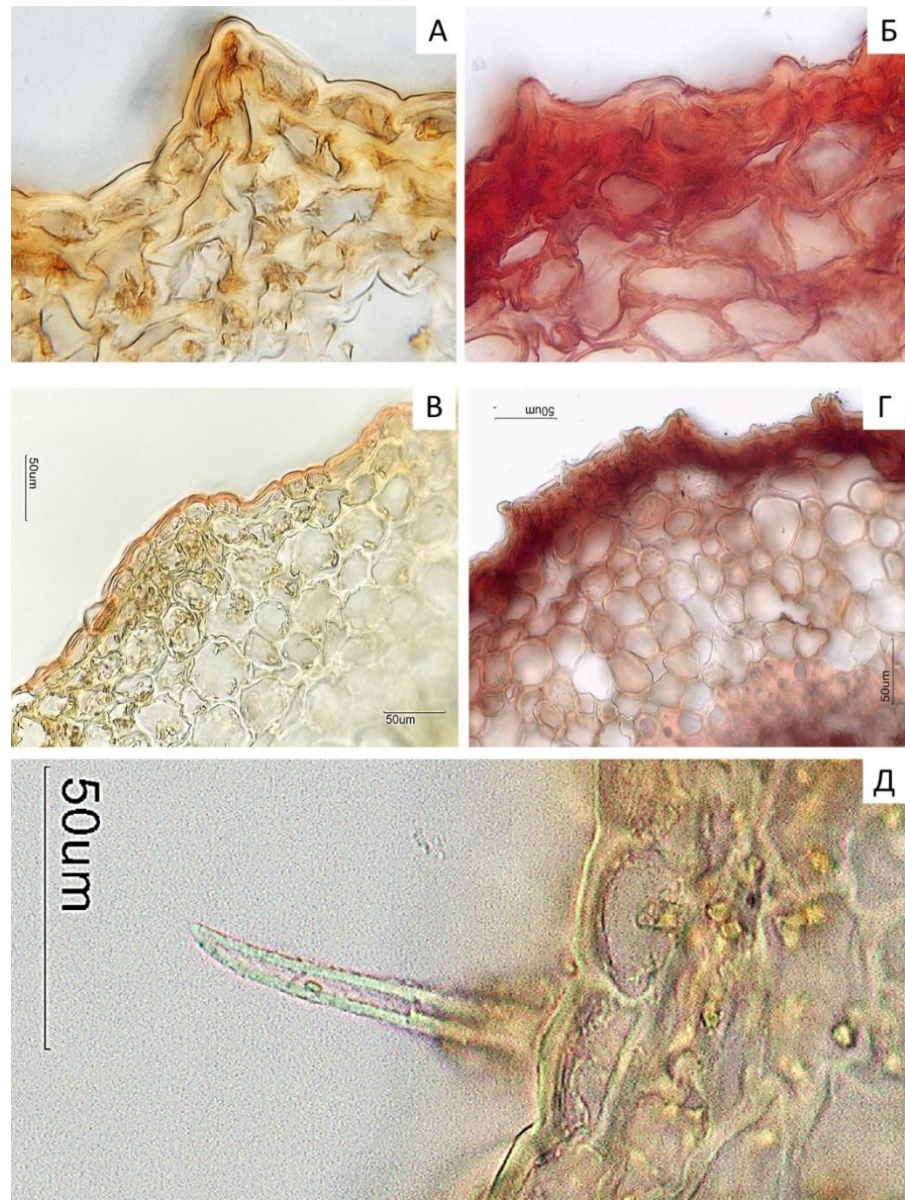


Рисунок 23 – Эпидермальные поверхности и колленхима плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной: А – Ребро плодоножки черники кавказской на поперечном сечении с колленхимой уголкового типа ($\times 1000$), Б - Ребро плодоножки черники обыкновенной на поперечном сечении с колленхимой уголкового типа ($\times 1000$), В – Поверхность плодоножки черники кавказской на поперечном сечении. Окраска раствором Судана III ($\times 400$), Г - Поверхность плодоножки черники обыкновенной на поперечном сечении. Окраска раствором Судана III ($\times 400$), Д – простой одноклеточный волосок на эпидерме плодоножки черники кавказской ($\times 400$).

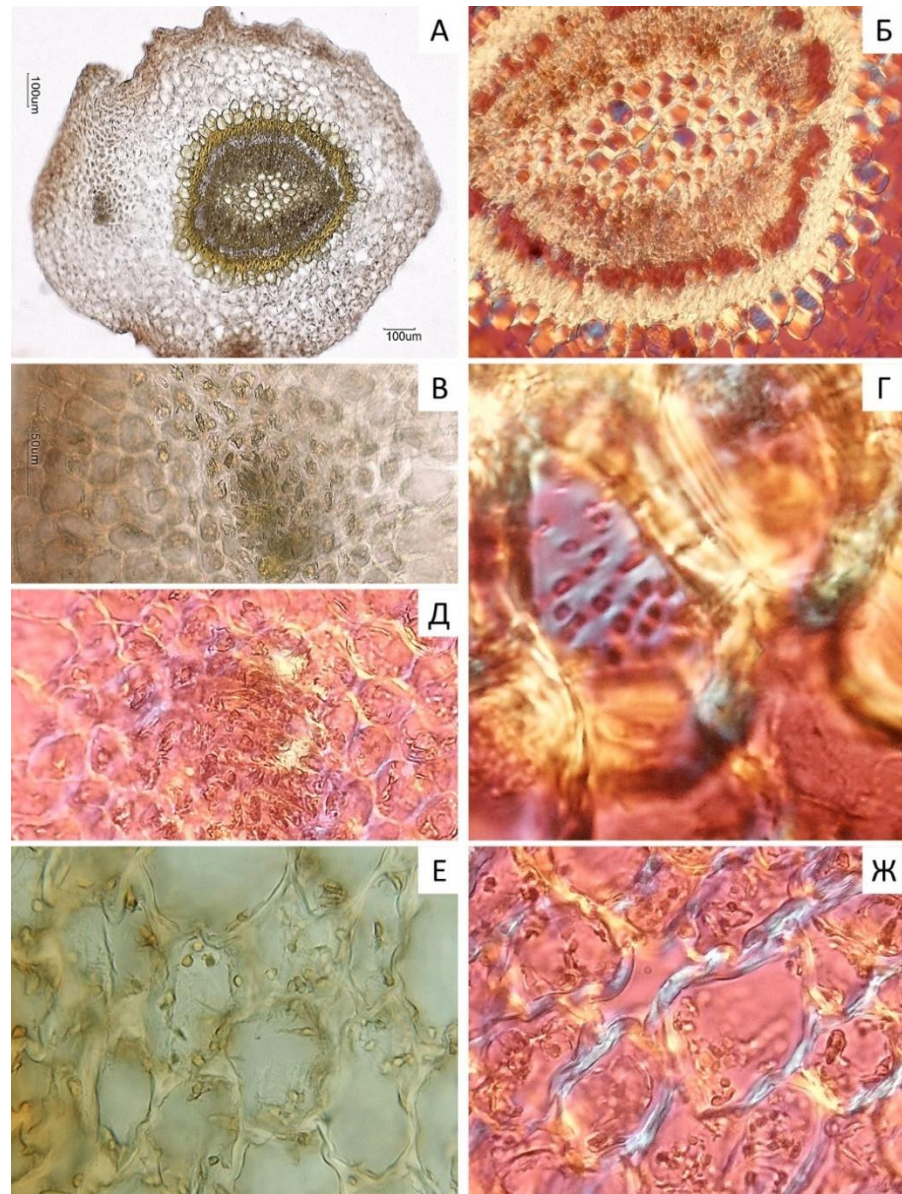


Рисунок 24 – Дополнительные анатомические признаки плодоножки черники кавказской: А – общий вид поперечного сечения плодоножки черники кавказской. Окраска раствором сернокислого анилина ($\times 100$), Б – центральный цилиндр плодоножки в поляризационном микроскопе λ -светофильтр ($\times 100$), В – Вторичный пучок. Окраска раствором сернокислого анилина ($\times 400$), Г- Склерейды флоэмы в поляризационном микроскопе λ -светофильтр ($\times 1000$), Д - Вторичный пучок в поляризационном микроскопе λ -светофильтр ($\times 400$), Е - Основная паренхима коровой части из клеток с зернистым протопластом. Окраска раствором Люголя ($\times 1000$), Ж - Основная паренхима коровой части из клеток с зернистым протопластом в поляризационном микроскопе λ -светофильтр ($\times 1000$).

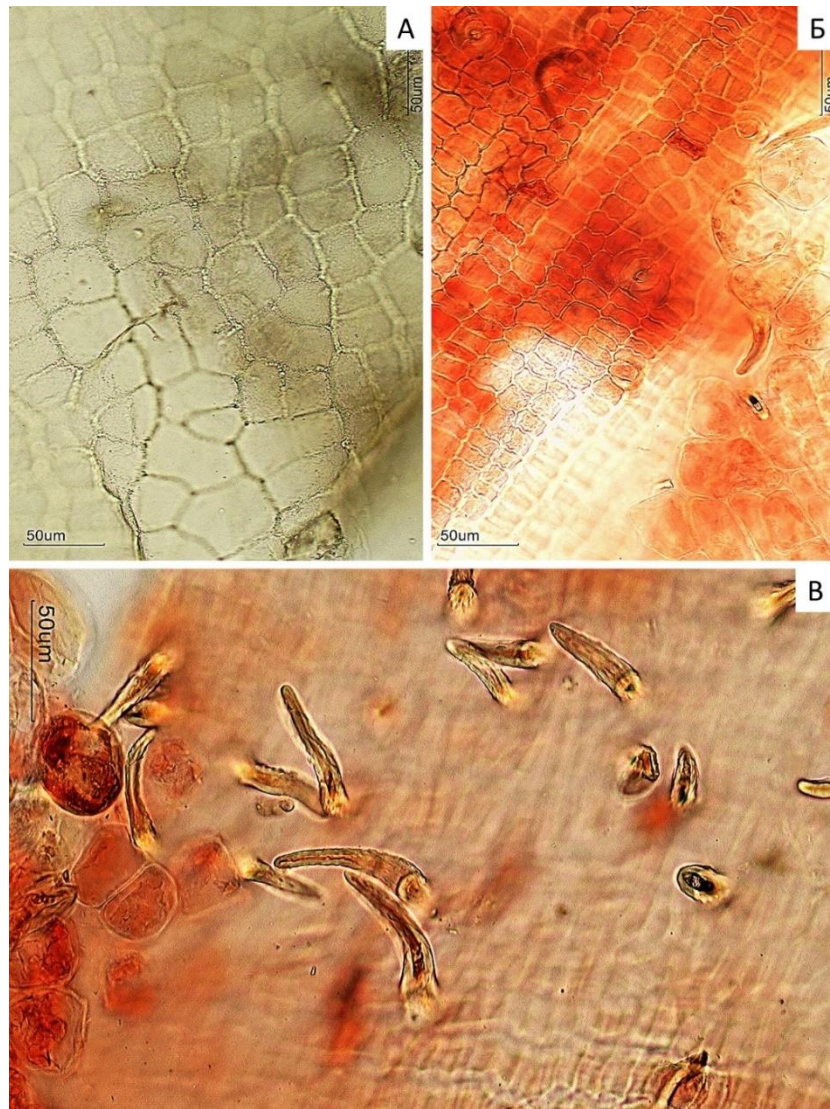


Рисунок 25 – Сравнение эпидермальных поверхностей плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной в щелочной пробоподготовке: А – эпидермальные клетки плодоножек черники обыкновенной ($\times 400$), Б - эпидермальные клетки с устьичными аппаратами плодоножек черники кавказской ($\times 400$), В – опушение из простых одноклеточных волосков на поверхности плодоножек черники кавказской ($\times 400$).

Гистологический анализ позволил выявить специфическую волнообразную поверхность эпидермы, имеющую остроугольные возвышения, под которыми отмечается более выраженная колленхимная ткань. Это позволяет сделать вывод о том, что данная волнистость поверхности не связана с усыханием стебля, а является гистологической особенностью представителей рода *Vaccinium* L.

Паренхима коровой части плодоножек обоих видов сложена из тонкостенных клеток с извилистой целлюлозной оболочкой. Протопласты паренхимных клеток коровой части зернистые за счет хлоропластов и других недиагностируемых цитологических элементов (рис. 24 Е, Ж).

При рассмотрении эпидермальной поверхности плодоножек видны клетки эпидермы прямоугольной или неправильной угловатой формы. Клетки эпидермы у обоих видов упорядочены и располагаются рядами, что особенно заметно у эпидермы плодоножек черники кавказской (рисунок 25 Б).

На эпидерме обоих видов изредка встречаются устьичные аппараты анамоцитного типа с варьирующим числом околоустьичных клеток от 4 до 6 (рисунок 25 Б).

Поверхность эпидермы плодоножек черники обыкновенной не выявила присутствия трихом (рисунок 25 А). Напротив, поверхность плодоножек черники кавказской опушена простыми одно или двухклеточными слабоизвилистыми кроющими волосками с продольно морщинистой кутикулой (рисунок 25 В).

Отличительными чертами плодоножек черники кавказской являются: 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.

Результаты сравнительного описания микроскопических признаков плодоножек двух видов плодов черники приведены в таблице 20.

Таблица 20 – Микроскопические признаки плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной

№пп	Признак	Черника кавказская	Черника обыкновенная
1.	Поперечное сечение	Ребристая форма	Овальная форма
2.	Механические ткани	Склерейды вокруг центрального цилиндра замкнутым кольцом	Менее выраженная структура
3.	Покровные ткани	Простые одноклеточные или двуклеточные волоски	Волоски отсутствуют
4.	Колленхима	Достигает трех слоев клеток, гиподермальный слой сильно пигментирован	Менее развит
5.	Проводящая система	Вторичные элементы - небольшие пучки в коровой части	Отсутствуют

4.4. Определение основной группы биологически активных соединений

Обязательным этапом определения подлинности ЛРС является разделение суммы основной группы биологически активных веществ методом ТСХ или ВЭЖХ и обнаружение характерных компонентов. В плодах черники кавказской, как и в плодах черники обыкновенной, такой группой БАС являются антоцианы.

В одной пробоподготовке извлечения из плодов черники кавказской нами предложено определять основную группу БАВ, а также проводить количественное определение. Для этого около 1,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в коническую колбу со шлифом объемом 250 мл, добавляют 50 мл спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, закрывают пробкой и взвешивают с точностью $\pm 0,01$ г, помещают на водяную баню с обратным холодильником. Экстракцию проводят на кипящей водяной бане в течение 60

минут. Далее колбу снимают, закрывают той же пробкой, охлаждают, взвешивают. При недостатке экстрагента добавляют его до исходной массы. Затем фильтруют через бумажный фильтр (глава 5, раздел 5.2).

Предварительно хроматографические пластины активировали для удаления остаточной влаги из слоя силикагеля, выдерживая их при 100°C в сушильном шкафу в течение 1 часа. Детектирование зон адсорбции проводили визуально после высушивания пластин на воздухе и полного удаления паров растворителей.

Нами подобраны условия оптимального разделения суммы антоцианов и сопутствующих фенольных соединений с определением коэффициента подвижности R_f . Для этого мы подбирали объем наносимой пробы извлечения на хроматографическую пластинку, состав подвижной фазы, а также проводили валидационную оценку методики по показателям специфичность согласно требований ГФ РФ [8, 11], устойчивость или робастность, воспроизводимость.

Оптимальный объем пробы мы подбирали при нанесении на пластинку ПТСХ-П-А приготовленного извлечения из образца 1 плодов черники кавказской в количестве 5, 10 и 20 мкл и далее элюировали сумму антоцианов в подвижной фазе бутанол-уксусная кислота ледяная-вода в соотношении 4:1:2 согласно методики ФС.2.5.0050.15 «Черники обыкновенной плоды» [10]. Установлено, что оптимальное разделение компонентов происходит при нанесении на хроматографическую пластинку 10 мкл извлечения.

Результаты выбора подвижной фазы представлены в таблице 21. Состав смесей взят нами из литературных данных.

Таблица 21 – Подбор оптимальной подвижной фазы для разделения суммы антоцианов в извлечении из черники кавказской плодов

№	Состав подвижной фазы	$R_f \pm 0,02$ СО цианидин-3-глюкозида	$R_f \pm 0,02$ в испытуемом извлечении	$R_s \pm 0,02$	Окраска зоны адсорбции в видимом свете
1.	Бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (4:1:2)	0,59	0,60	0,99	Розовая
2.	Вода-12 н раствор хлористоводородной кислоты (97:3)	Нет разделения	-	-	-
3.	Вода-уксусная кислота ледяная-12 н раствор хлористоводородной кислоты (82:15:3)	Нет разделения	-	-	-
4.	Бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (4:1:5)	0,60	0,58	0,97	Розовая
5.	Этилацетат-муравьиная кислот безводная-вода (8:2:3)	Нет разделения	-	-	-
6.	Ацетон-0,1 н раствор хлористоводородной кислоты (1:3)	Нет разделения	-	-	-
7.	Бутанол-2 н раствор хлористоводородной кислоты (1:1))	Нет разделения	0,37	-	Розовая
8.	Муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65)	0,69	0,71	0,93	Розовая
9.	Вода-уксусная кислота ледяная (40:60)	0,79	0,81	0,98	Розовая
10.	Муравьиная кислота безводная-хлористоводородная кислота-вода (2:1:2)	Нет разделения	-	-	-

Оптимальное разделение по значению фактора удерживания обнаружено при использовании систем бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (4:1:2) и (4:1:5), а также смеси муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65). При этом большее количество зон адсорбции, кроме зоны адсорбции цианидин-3-глюкозида, наблюдается в последней системе. Поэтому далее валидационные параметры устанавливали с использованием системы муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65) (таблица 21).

Специфичность методики оценивали по совпадению фактора удерживания СО цианидин-3-глюкозида и цианидин-3-глюкозида испытуемого извлечения. Кроме того, нами рассчитано значение R_s , которое представляет собой отношение фактора удерживания компонента испытуемого раствора к фактору удерживания СО цианидин-3-глюкозида и должно быть в диапазоне 0,8–1,2 [8, 11].

Робастность разработанной методики устанавливали, проводя опыт при разном времени насыщения хроматографической камеры парами подвижной фазы (таблица 22).

Таблица 22 – Определение параметра «робастность» методики определения основной группы БАВ в черники кавказской плодах (n=3)

№ п/п	Время насыщения хроматографической камеры (мин)	$R_f \pm 0,02$, СО цианидин-3-глюкозида	$R_f \pm 0,02$, цианидин-3-глюкозид в исследуемом извлечении
1	0	нет разделения	нет разделения
2	10	нет разделения	нет разделения
3	20	0,46	0,45
4	30	0,70	0,69
5	40	0,72	0,70
6	50	0,70	0,69
7	60	0,72	0,71

Таким образом, оптимальное время насыщения хроматографической камеры составляет 30 минут, при меньшем времени насыщения не наблюдали

разделения смеси компонентов, большее время насыщения является избыточным, так как не приводит к значимому изменению R_f .

Воспроизводимость методики определяли в эксперименте с двумя типами хроматографических пластинок: неподвижная фаза силикагель нанесена на полимерную подложку (ПТСХ-П-А) или на алюминиевую (ПТСХ-АФ-А) (таблица 23). Анализ проводили разные аналитики в разные дни.

Таблица 23 – Определение параметра «воспроизводимость» методики определения основной группы БАВ в черники кавказской плодах (n=3)

Аналитик	ПТСХ-П-А		ПТСХ-АФ-А	
	$R_f \pm 0,02$, СО цианидин-3- глюкозида	$R_f \pm 0,02$, исследуемое извлечение	$R_f \pm 0,02$, СО цианидин-3- глюкозида	$R_f \pm 0,02$, исследуемое извлечение
1	0,69	0,71	0,69	0,68
2	0,68	0,70	0,69	0,69
3	0,70	0,71	0,70	0,68

При определении основной группы БАВ в черники кавказской плодах возможно использование двух типов силикагелевых пластинок на разной подложке, т.к. наблюдали одинаковое количество дополнительных зон адсорбции, кроме цианидин-3-глюкозида.

Таким образом, нами предложены следующие условия определения основной группы биологически активных веществ в черники кавказской плодах: объем пробы испытуемого извлечения – 10 мкл, объем раствора СО цианидин-3-глюкозида – 10 мкл; подвижная фаза - муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65); время насыщения хроматографической камеры – 30 минут, тип хроматографических пластинок – силикагелевые аналитические на полимерной или алюминиевой основе. При этом на хроматограмме испытуемого раствора могут наблюдаться 3-4 зоны адсорбции розовой или сине-фиолетовой окраски в видимом свете.

Приготовление раствора СО цианидин-3-глюкозида: около 0,01 г (точная навеска) СО цианидин-3-глюкозида помещают в мерную колбу объемом 100 мл, добавляют 80 мл спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до полного растворения вещества, доводят до метки тем же растворителем и перемешивают.

Методику определения основной группы БАВ в чернике кавказской плодах опробовали на образцах из пяти мест естественного произрастания (таблица 24, рисунок 26-27).

Таблица 24 – Определение цианидин-3-глюкозида в черники кавказской плодах из разных мест естественного произрастания (подвижная фаза – муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65))

№	Образец	$R_f \pm 0,02$, исследуемое извлечение	$R_f \pm 0,02$, СО цианидин-3- глюкозида	R_s	Окраска зоны адсорбции в видимом свете
ПТСХ-П-А					
1.	северо-западный склон горы Фишт, Республика Адыгея	0,72	0,69	1,04	Розовая
2.	гора Кизельбек, село Соленое, Псебайский район, Краснодарский край	0,69	0,69	1,00	Розовая
3.	северный берег озера Голубое, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	0,69	0,69	1,00	Розовая
4.	берег реки Пшихашха, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	0,71	0,69	1,03	Розовая

5.	окрестности Карачаевска, Карачаевский район, Карачаево- Черкесская Республика	0,71	0,69	1,03	Розовая
ПТСХ-АФ-А					
1.	северо-западный склон горы Фишт, Республика Адыгея	0,72	0,70	1,03	Розовая
2.	гора Кизельбек, село Соленое, Псебайский район, Краснодарский край	0,72	0,70	1,03	Розовая
3.	северный берег озера Голубое, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	0,69	0,70	0,99	Розовая
4.	берег реки Пшихашха, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	0,71	0,70	1,01	Розовая
5.	окрестности Карачаевска, Карачаевский район, Карачаево- Черкесская Республика	0,71	0,70	1,01	Розовая

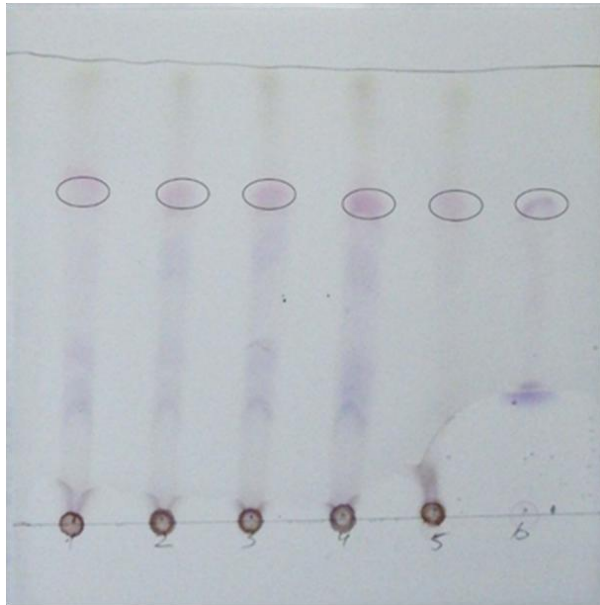


Рисунок 26 – Хроматограмма на пластинке ПТСХ-П-А извлечений из черники кавказской плодов: 1 – гора Фишт, Республика Адыгея; 2 – Карачаевск, КЧР; 3 – река Пшихашха, Республика Адыгея; 4 – озеро Голубое, Республика Адыгея; 5 – Псебайский район, Краснодарский край; 6 – СО цианидин-3-глюкозид (0,01% раствор)

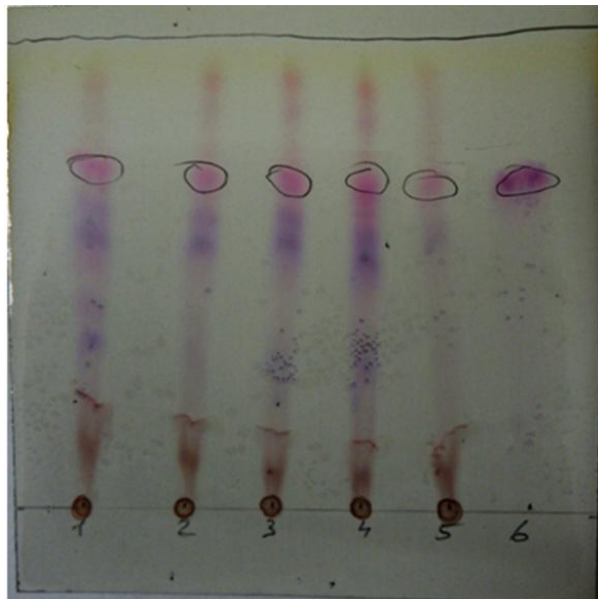


Рисунок 27 – Хроматограмма на пластинке ПТСХ-АФ-А извлечений из черники кавказской плодов: 1 – гора Фишт, Республика Адыгея; 2 – Карачаевск, КЧР; 3 – река Пшихашха, Республика Адыгея; 4 – озеро Голубое, Республика Адыгея; 5 – Псебайский район, Краснодарский край; 6 – СО цианидин-3-глюкозид (0,01% раствор)

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4

1. Проведенное морфолого-анатомическое исследование плодов черники кавказской демонстрирует схожесть внешних и микроскопических признаков с плодами черники обыкновенной. При этом плоды черники кавказской имеют большие размеры всех диагностических признаков. К отличительным микроскопическим признакам можно отнести большее количество и размеры друз оксалата кальция в паренхиме, при этом в виде обкладки вдоль проводящих пучков более мелкие. Проведено сравнительное исследование микроскопических признаков плодоножек черники кавказской и черники обыкновенной. С точки зрения петиолярной анатомии отличительными признаками 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.

2. Разработана методика определения основной группы биологически активных веществ – антоцианов – методом тонкослойной хроматографии по маркерному компоненту – цианидин-3-глюкозиду. При этом анализ, возможно, проводить в один цикл пробоподготовки: одно извлечение, полученное экстракцией сырья 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. Оптимальный 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.

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ ПЛОДОВ

5.1. Показатели качества

Определение числовых показателей – влажности, золы общей, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, содержания экстрактивных веществ – проводили в соответствии с методиками ОФС ГФ РФ [10, 11].

Результаты определения показателей качества представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Показатели качества черники кавказской плодов

№ образца	Влажность	Зола общая	Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	Экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70%
1	10,55±0,25	1,00±0,03	0,50±0,02	38,51±0,77
2	7,16±0,32	1,59±0,06	0,67±0,03	34,91±0,70
3	12,13±0,41	1,53±0,03	0,33±0,01	39,44±0,74
4	10,22±0,41	2,14±0,08	0,50±0,02	40,35±0,74
5	7,93±0,30	1,27±0,04	0,29±0,01	44,70±1,09

На образце 1 был подобран оптимальный экстрагент, при использовании которого сухой остаток после высушивания содержал максимальную сумму экстрактивных веществ (экстрагент – спирт этиловый 70%) (таблица 26).

Таблица 26 – Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых различными экстрагентами (образец 1)

Экстрагент	$x \pm \Delta x, \%$
Вода очищенная	35,27±0,76
Спирт этиловый 40%	35,03±0,64
Спирт этиловый 70%	38,51±0,77
Спирт этиловый 96%	34,37±0,54

Таким образом, возможно, рекомендовать следующие пределы показателей качества для черники кавказской плодов: 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%.

В заготовленных 5 образцах плодов черники кавказской установили содержание примесей на основе требований ОФС ГФ РФ XV издания (таблица 27).

Таблица 27 – Определение примесей черники кавказской плодов

№ образца	Другие части растений (листья, кусочки стеблей)	Плоды незрелые, твердые или пригоревшие	Органическая примесь	Минеральная примесь
1	0,19±0,01	0,78±0,04	1,41±0,07	0,19±0,009
2	0,11±0,004	0,63±0,03	0,95±0,04	0,07±0,003
3	0,04±0,002	0,32±0,01	1,21±0,03	0,08±0,002
4	0,15±0,002	0,54±0,01	1,13±0,03	0,15±0,001
5	0,17±0,005	0,20±0,01	0,65±0,03	0,12±0,01

Таким образом, рекомендуемые пределы содержания примесей в плодах черники кавказской (цельное сырье) составляют: других частей растения (листья, кусочки стеблей) – не более 0,25%; плоды незрелые, твердые или пригоревшие – не более 1%; органическая примесь – не более 2%; минеральная примесь – не более 0,3 %.

5.2. Количественное определение суммы антоцианов

Разработку методики количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид проводили методом спектрофотометрии и начинали с подбора условий экстракции: состав экстрагента, соотношение сырье/экстрагент, время экстракции. Перед измерением оптической плотности проводили разведение каждого извлечения: брали аликвоту объемом 1 мл,

переносили в мерную колбу объемом 25 мл, доводили до метки экстрагентом и перемешивали. Раствором сравнения служил растворитель.

Экстрагент содержал 1% от объема хлористоводородной кислоты концентрированной на основе данных собственных исследований антоцианового профиля (глава 3), так и с учетом методики количественного определения суммы антоцианов согласно ФС.2.5.0050.15 «Черники обыкновенной плоды» [10, 19, 20]. Результаты подбора условий получения извлечения из плодов черники кавказской с максимальным содержанием суммы антоцианов представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Выбор условий получения извлечения из черники кавказской плодов

Параметр	Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид, %
Экстрагент	
Вода	0,25±0,01
Спирт этиловый 40%	0,83±0,04
Спирт этиловый 50%	0,83±0,03
Спирт этиловый 60%	0,83±0,04
Спирт этиловый 70%	1,10±0,04
Спирт этиловый 80%	0,78±0,03
Спирт этиловый 96%	0,73±0,02
Время экстракции	
30 минут	0,85±0,02
45 минут	0,82±0,04
60 минут	1,10±0,04
75 минут	0,83±0,04
90 минут	0,83±0,03
Соотношение сырье/экстрагент	
1/25	0,85±0,04
1/50	1,10±0,04
1/75	1,09±0,02
1/100	1,11±0,05
Степень измельченности	
1 мм	1,03±0,05
2 мм	1,10±0,04
3 мм	0,90±0,02

Таким образом, нами предложена следующая методика количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в черники кавказской плодах: около 1,0 г (точная навеска) плодов черники кавказской, измельченных до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 2 мм, помещают в коническую колбу со шлифом объемом 250 мл, добавляют 50 мл спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, закрывают пробкой и взвешивают с точностью $\pm 0,01$ г, помещают на водяную баню с обратным холодильником. Экстракцию проводят на кипящей водяной бане в течение 60 минут. Далее колбу снимают, закрывают той же пробкой, охлаждают, взвешивают. При недостатке экстрагента добавляют его до исходной массы. Затем фильтруют через бумажный фильтр. Отбирают 1 мл фильтрата, вносят в мерную колбу объемом 25 мл, доводят до метки спиртом этиловым 70%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при 530 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служит спирт этиловый 70%, содержащий 1% хлористоводородной кислоты концентрированной.

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид проводят по формуле 2:

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 3 \cdot a_{CO} \cdot 100 \cdot 100}{A_{CO} \cdot a_x \cdot 1 \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)} \quad (2),$$

где A_x – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_{CO} – оптическая плотность раствора СО цианидин-3-глюкозида;

a_x – навеска сырья, г;

a_{CO} – навеска СО цианидин-3-глюкозида;

W – влажность сырья, %.

Допускается проводить расчет суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в абсолютно сухом сырье с использованием удельного показателя поглощения цианидин-3-глюкозида (3):

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot 1 \cdot a_x \cdot (100 - W)} \quad (3),$$

где A_x – оптическая плотность испытуемого раствора В;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения цианидин-3-глюкозида при длине волны 530 нм, равный 527,93;

a_x – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Расчет удельного показателя светопоглощения проводили после измерения серии из пяти разведений раствора СО цианидин-3-глюкозида, приготовленного по схеме: 0,01 г (точная навеска) СО цианидин-3-глюкозида помещают в мерную колбу объемом 100 мл, добавляют 80 мл спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до полного растворения вещества, доводят до метки тем же растворителем и перемешивают. Далее отбирали 1 мл, 2 мл, 3 мл, 4 мл и 5 мл в мерные колбы объемом 25 мл, в каждой довели раствор до метки спиртом этиловым 70%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивали. Измеряли оптическую плотность полученных растворов при 530 ± 2 нм относительно раствора сравнения - спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной (рисунок 28, таблица 29).

Параллельно измеряют оптическую плотность приготовленного раствора СО цианидин-3-глюкозида, состоящего из 3 мл исходного раствора, доведенного в мерной колбе на 25 мл спиртом этиловым 70%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, до метки. В качестве раствора сравнения используют спирт этиловый.

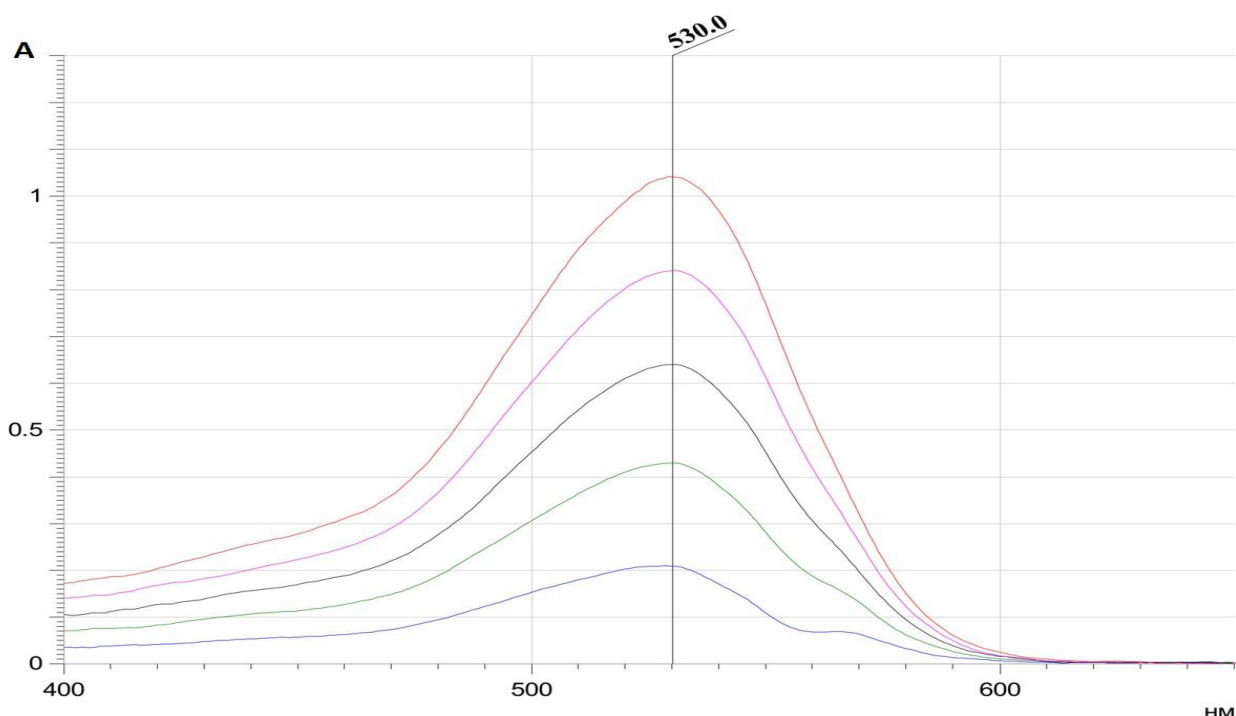


Рисунок 28 – Спектры серии растворов СО цианидин-3-глюкозида

Таблица 29 – Результаты расчета удельного показателя светопоглощения цианидин-3-глюкозида в спирте этиловом 70%, содержащем 1% хлористоводородной кислоты концентрированной

Навеска, г	Концентрация, %	Оптическая плотность	Удельный показатель светопоглощения
0,0100	0,0004	0,2093	523,25
	0,0008	0,4298	537,25
	0,0012	0,6403	533,58
	0,0016	0,8403	525,19
	0,0020	1,0408	520,40
			$\overline{A_{1\text{cm}}^{1\%}} = 527,93$

5.3. Валидационная оценка

Валидационную оценку разработанной методики проводили по параметрам: линейность, правильность, прецизионность на двух уровнях [8, 11]. В эксперименте использовали образец 1 плодов черники кавказской (таблица 3, раздел 2.1).

Линейность устанавливали на серии разведений приготовленного извлечения в диапазоне оптической плотности 0,2-0,8 (рисунок 29).

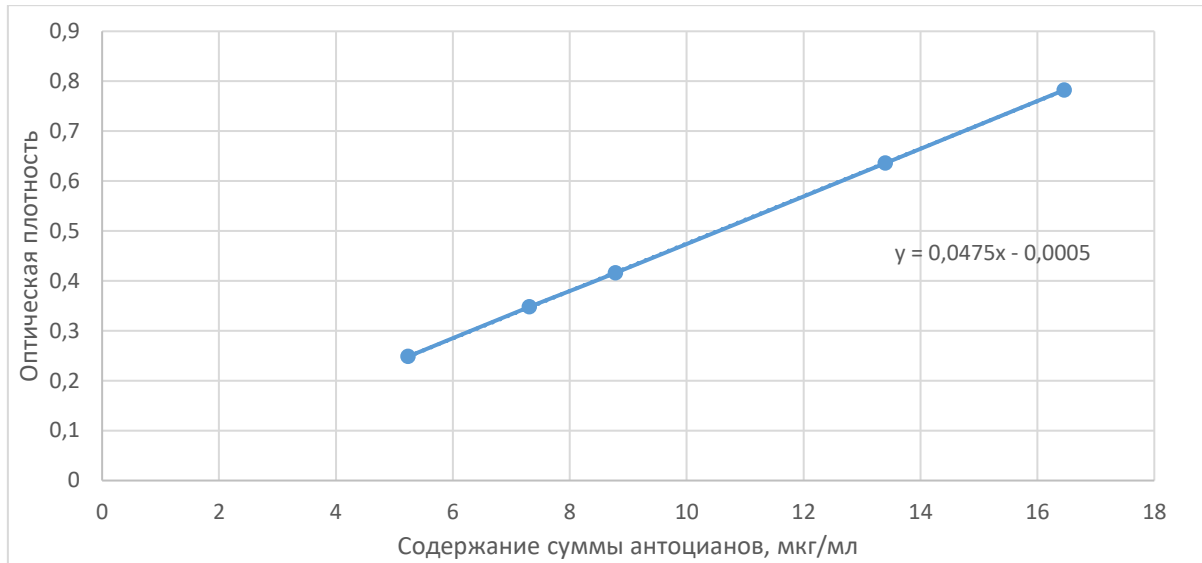


Рисунок 29 – Градуировочный график зависимости оптической плотности извлечения из черники кавказской плодов от содержания антоцианов

При расчете коэффициента корреляции установлено, что его величина соответствует требованиям ГФ РФ ($R \geq 0,99$) [8, 11].

Прецизионность на первом уровне (повторяемость или сходимость) устанавливали при шестикратном измерении количественного содержания суммы антоцианов в одном образце сырья и расчете статистических параметров, в результате чего относительная ошибка (ϵ) определения не превышала 5% при доверительной вероятности 95% (таблица 30).

Таблица 30 – Расчетные данные по параметру «повторяемость» при валидации методики количественного определения суммы антоцианов в воздушно-сухое сырье черники кавказской

№ эксперимента	Навеска, г	Оптическая плотность, А	Содержание суммы антоцианов пересчете на цианидин-3-глюкозид, %	Метрологические характеристики
1.	1,0004	0,4117	1,09	$\bar{X}=1,10$ $S_x=0,0399$ $S_{\bar{x}}=0,0163$ $\Delta x=0,04$ $\bar{x} \pm \Delta x=1,10 \pm 0,04$ $\varepsilon=3,82\%$
2.	1,0045	0,3949	1,05	
3.	1,0052	0,4405	1,16	
4.	1,0033	0,4163	1,10	
5.	1,0037	0,4077	1,08	
6.	1,0004	0,4252	1,12	

Далее определяли внутрилабораторную прецизионность, когда проводят анализ в одной лаборатории, но с несколькими образцами и разными исполнителями (таблица 31).

Таблица 31 – Расчетные данные по параметру «внутрилабораторная прецизионность» при валидации методики количественного определения суммы антоцианов в черники кавказской плодах

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид, %			
Исполнитель 1			
Повтор	Образец 1	Образец 2	Образец 3
1.	1,09	0,65	1,07
2.	1,05	0,66	1,08
3.	1,16	0,67	1,09
Исполнитель 2			
4.	1,10	0,63	1,11
5.	1,08	0,66	1,06
6.	1,12	0,64	1,09
Среднее значение	1,10	0,65	1,08
Стандартное (относительное) отклонение (RSD), %	3,63	2,32	1,71

Величина стандартного относительного отклонения (RSD) не должна превышать 10% [3, 48]. Полученные значения соответствуют этому нормативу, соответственно, методика соответствует параметру «прецизионность».

Правильность оценивали на трех уровнях концентрации, используя добавки раствора СО цианидин-3-глюкозида (0,1 мкг/мкл) (таблица 32).

Таблица 32 – Расчетные данные по параметру «правильность» при валидации методики количественного определения суммы антоцианов в черники кавказской плодах

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в испытуемом растворе, мкг	Добавлено СО цианидин-3-глюкозида		Ожидаемое содержание, мкг	Найденное содержание, мкг	Открываемость, %	Метрологические характеристики
	мкл	мкг				
5,40	18	1,80	7,20	7,22	100,40	R = 99,45 SD = 3,3839 RSD = 3,3995 $t_{\text{выч}} = 0,41$
5,40	18	1,80	7,20	7,28	101,24	
5,40	18	1,80	7,20	6,80	94,50	
5,40	36	3,60	9,00	9,30	103,45	
5,40	36	3,60	9,00	8,76	97,45	
5,40	36	3,60	9,00	8,57	95,37	
5,40	54	5,40	10,80	11,26	104,37	
5,40	54	5,40	10,80	10,60	98,18	
5,40	54	5,40	10,80	10,80	100,10	

Таким образом, $t_{\text{выч}} < t_{\text{таб}}(P, f)$, так как $0,41 < 2,31$. Методика является правильной, так как не отягощена систематической ошибкой.

Валидированная методика была опробована на 5 образцах черники кавказской плодов для установления нижнего предела содержания суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид (рисунок 30, таблица 33).

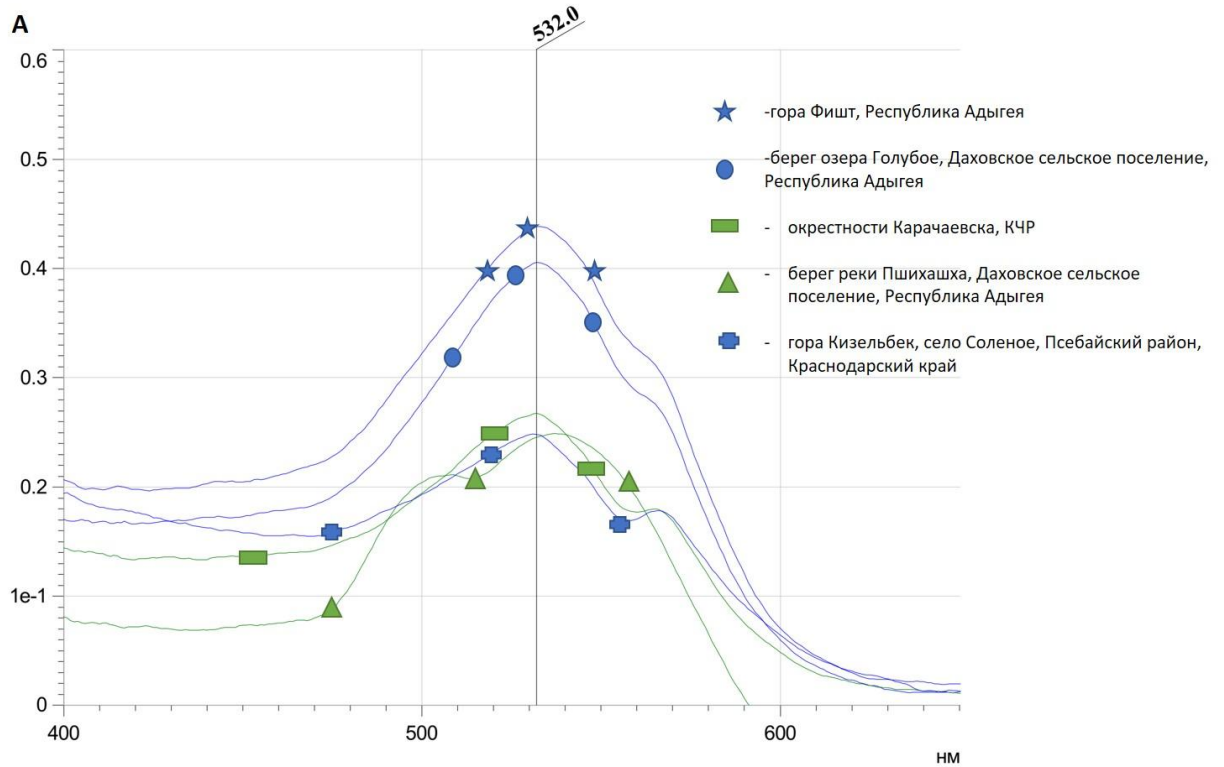


Рисунок 30 – Спектры извлечений из плодов черники кавказской из разных мест естественного произрастания

Таблица 33 – Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в черники кавказской плодах, собранных в различных местах произрастания, установленное методом спектрофотометрии ($n=6$; $f=5$; $t(P, f)=2,57$)

Образец	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$
1. северо-западный склон горы Фишт, Республика Адыгея	1,10	0,0399	0,0163	0,04	3,82
2. гора Кизельбек, село Соленое, Псебайский район, Краснодарский край	0,65	0,0151	0,0062	0,02	2,43
3. северный берег озера Голубое, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	1,08	0,0185	0,0075	0,02	1,79
4. берег реки Пшихашха, Даховское сельское поселение, Майкопский район, Республика Адыгея	0,66	0,0261	0,0106	0,03	4,14
5. окрестности Карачаевска, Карачаевский район, Карачаево-Черкесская Республика	0,69	0,0256	0,0105	0,03	3,89

Таким образом, для черники кавказской плодов установлен предел содержания суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид аналогично нормативу для черники обыкновенной плодов – не менее 0,5%.

5.4. Определение режима сушки

Для консервации биологически активных веществ, а также предотвращения их окисления и гидролиза под действием ферментов, ускорения сушки можно рекомендовать использовать искусственные варианты сушки сырья. Нами получены образцы плодов черники кавказской (место сбора – образец 1) после воздушно-теневого сушки, а также после принудительной сушки в следующих вариантах: конвективная сушка при 40-70°C с шагом 10°C, инфракрасная сушка при 40-70°C с шагом 10°C. В каждом образце сырья определяли содержание суммы антоцианов по разработанной методике (таблица 34).

Таблица 34 – Определение оптимального режима сушки черники кавказской плодов

Режим сушки	Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид, $x \pm \Delta x$, %
Воздушно-теновая	1,10±0,04
Конвективная	
40°C	0,97±0,02
50°C	0,74±0,03
60°C	0,59±0,02
70°C	0,48±0,02
Инфракрасная	
40°C	0,33±0,01
50°C	0,52±0,02
60°C	0,47±0,02
70°C	0,40±0,01

Таким образом, антоцианы плодов черники кавказской остаются стабильными при использовании воздушно-теневого сушки, также допускается искусственная сушка не выше 40°C в конвективном режиме.

5.5. Определение сроков годности

В том же образце сырья проводили количественное определение суммы антоцианов через 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 месяцев для определения стабильности антоцианов в процессе хранения (таблица 35). Так же определяли основные показатели качества: влажность, зола общая, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Испытания проводили в трех повторностях.

Таким образом, оптимальным сроком хранения черники кавказской плодов можно установить срок 2 года.

Таблица 35 – Определение срока годности черники кавказской плодов ($x \pm \Delta x$, %, обозначения образцов из таблицы 3, раздел 2.1)

Периодичность проведения испытаний	Влажность	Зола общая	Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70%	Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид
Образец 1					
0 месяцев	10,55±0,25	1,00±0,03	0,50±0,02	38,51±0,77	1,10±0,04
3 месяца	10,42±0,45	1,00±0,04	0,52±0,01	38,63±0,50	1,05±0,02
6 месяцев	10,52±0,03	0,99±0,02	0,50±0,02	39,19±1,10	1,03±0,03
9 месяцев	10,65±0,32	1,02±0,05	0,51±0,01	38,44±1,40	1,02±0,04
12 месяцев	10,41±0,42	1,01±0,04	0,51±0,01	39,03±1,75	1,03±0,04
18 месяцев	10,38±0,34	1,02±0,02	0,51±0,02	38,89±1,69	1,00±0,02
24 месяца	10,41±0,49	1,00±0,03	0,51±0,02	38,92±1,11	0,99±0,04
36 месяцев	10,44±0,27	1,00±0,03	0,50±0,02	38,98±1,93	0,97±0,02
Образец 2					
0 месяцев	7,16±0,32	1,59±0,06	0,67±0,03	34,91±0,70	0,65±0,02
3 месяца	7,15±0,01	1,60±0,08	0,67±0,01	35,15±0,53	0,65±0,03
6 месяцев	7,13±0,13	1,59±0,04	0,69±0,02	35,16±0,28	0,63±0,01
9 месяцев	7,09±0,17	1,61±0,06	0,70±0,02	35,25±0,74	0,64±0,02
12 месяцев	7,12±0,13	1,57±0,02	0,70±0,01	34,88±0,75	0,63±0,02
18 месяцев	7,15±0,12	1,60±0,02	0,69±0,03	35,04±0,50	0,62±0,03
24 месяца	7,17±0,33	1,58±0,04	0,70±0,01	35,15±1,35	0,61±0,03
36 месяцев	7,07±0,11	1,61±0,06	0,68±0,02	35,16±0,36	0,57±0,02
Образец 3					

0 месяцев	12,13±0,41	1,53±0,03	0,33±0,01	39,44±0,74	1,08±0,04
3 месяца	12,02±0,35	1,53±0,06	0,33±0,01	39,12±1,78	1,07±0,05
6 месяцев	12,20±0,45	1,54±0,05	0,33±0,01	39,67±0,56	1,06±0,04
9 месяцев	12,39±0,56	1,55±0,07	0,33±0,01	39,58±0,61	1,07±0,04
12 месяцев	12,25±0,36	1,54±0,06	0,33±0,02	39,50±0,51	1,06±0,03
18 месяцев	12,22±0,49	1,54±0,04	0,33±0,01	39,44±0,75	1,03±0,02
24 месяца	12,29±0,08	1,54±0,05	0,33±0,01	39,44±0,62	1,01±0,05
36 месяцев	12,34±0,32	1,52±0,07	0,34±0,01	39,94±0,78	0,95±0,02
Образец 4					
0 месяцев	10,22±0,41	2,14±0,08	0,50±0,02	40,35±0,74	0,66±0,03
3 месяца	10,50±0,15	2,19±0,06	0,51±0,02	40,38±0,83	0,69±0,03
6 месяцев	10,25±0,49	2,18±0,06	0,51±0,01	40,42±0,52	0,67±0,02
9 месяцев	10,60±0,14	2,19±0,06	0,51±0,03	40,20±0,17	0,70±0,04
12 месяцев	10,26±0,44	2,19±0,08	0,51±0,01	40,03±0,06	0,68±0,02
18 месяцев	10,48±0,39	2,18±0,09	0,51±0,02	40,45±1,28	0,68±0,01
24 месяца	10,30±0,31	2,16±0,10	0,50±0,02	40,59±0,22	0,66±0,01
36 месяцев	10,30±0,05	2,19±0,06	0,50±0,02	40,29±0,26	0,59±0,02
Образец 5					
0 месяцев	7,93±0,30	1,27±0,04	0,29±0,01	44,70±1,09	0,69±0,03
3 месяца	7,67±0,30	1,31±0,03	0,30±0,01	44,44±1,05	0,70±0,01
6 месяцев	7,88±0,38	1,30±0,03	0,30±0,01	45,37±0,44	0,68±0,02
9 месяцев	8,00±0,33	1,31±0,01	0,29±0,01	44,83±1,42	0,68±0,01
12 месяцев	7,76±0,33	1,30±0,01	0,29±0,01	44,70±1,42	0,68±0,02
18 месяцев	7,81±0,36	1,30±0,02	0,30±0,01	45,17±0,84	0,68±0,03
24 месяца	8,07±0,16	1,30±0,04	0,30±0,01	45,42±1,49	0,68±0,03
36 месяцев	7,90±0,37	1,30±0,04	0,29±0,01	45,39±0,73	0,60±0,01

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5

1. В результате проведенных испытаний установлены пределы показателей качества для черники кавказской плодов: 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%.

2. Разработана методика количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид методом прямой спектрофотометрии. Методика валидирована по показателям «специфичность», «линейность», «прецизионность» на двух уровнях и «правильность», при этом не обнаружено систематических ошибок. После анализа проб сырья из пяти мест естественного произрастания рекомендован предел содержания суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид – не менее 0,5%

3. Разработанная методика количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид была использована для определения оптимального режима сушки плодов черники кавказской на образцах сырья из одного места произрастания, но которые подвергали разным режимам сушки. После сбора плоды черники кавказской рекомендуется сушить естественным воздушно-теневым способом или искусственным в конвекционном сушильном шкафу при температуре не выше 40°C.

4. Основные показатели качества устанавливали в течение трех лет хранения на одном образце сырья. При этом установлено, что плоды черники кавказской сохраняют качество и возможно использовать в течение двух лет.

ГЛАВА 6. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЛОДОВ ЧЕРНИКИ КАВКАЗСКОЙ И ЧЕРНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Предварительный анализ острой токсичности анализируемых объектов при пероральном введении показал, что при введении максимальной тестируемой дозы в 2000 мг/кг гибели крыс отмечено не было. В связи с этим LD₅₀ для исследуемых экстрактов находится в диапазоне более 2000 мг/кг, что соответствует 5-му классу токсичности по СГС-классификации (Согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химических веществ, англ. GHS). Для дальнейших исследований вводимая доза изучаемых объектов составила 50 мг/кг.

6.1. Нейропротекторное действие

При оценке нейропротекторной активности установлено увеличение активности сукцинатдегидрогеназы на 90% ($p < 0,05$) у групп крыс, получавших густой экстракт из плодов черники кавказской и черники обыкновенной с добавлением и без добавления кислоты соответственно относительно группы НК, и на 95% ($p < 0,05$) у групп крыс, получавших густой экстракт из плодов черники кавказской и черники обыкновенной без добавления и с добавлением кислоты соответственно относительно группы НК. В среднем увеличение активности сукцинатдегидрогеназы составило 92,5% независимо от способа пробоподготовки вводимого испытуемого извлечения из плодов обоих видов черник. При этом в группе НК произошло снижение активности сукцинатдегидрогеназы в 2,65 раз ($p < 0,05$) относительно группы интакта (рисунок 31).

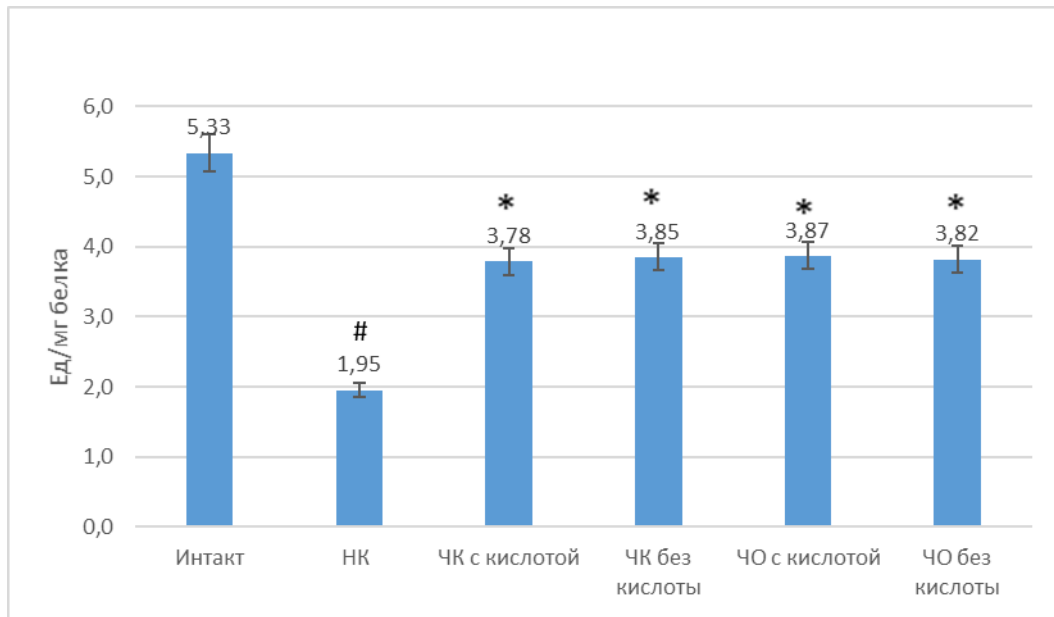


Рисунок 31 – Активность сукцинатдегидрогеназы в ткани мозга животных разных групп: ЧК – животные, получающие густой экстракт из плодов черники кавказской; ЧО – животные, получающие густой экстракт из плодов черники обыкновенной; НК – группа негативного контроля; интакт – интактные животные; * – достоверно относительно НК группы крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно интактных крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$).

Концентрация ТБК-АП в мозге крыс уменьшилась на 38,3% и 35,4% ($p < 0,05$ оба показателя) в группах животных, получавших извлечения из плодов черники кавказской и черники обыкновенной соответственно, полученные с добавлением кислоты, в сравнении с группой животных НК. В группах, получавших густой экстракт из плодов, экстрагированных спиртом этиловым 70% без добавления кислоты, снижение ТБК-АП составило 20,4% ($p < 0,05$) и 27,5% ($p < 0,05$) соответственно для плодов черники кавказской и черники обыкновенной. При этом в сравнении с интактной группой в группе негативного контроля наблюдали увеличение концентрации ТБК-АП в 2,5 раза ($p < 0,05$) (рисунок 32).

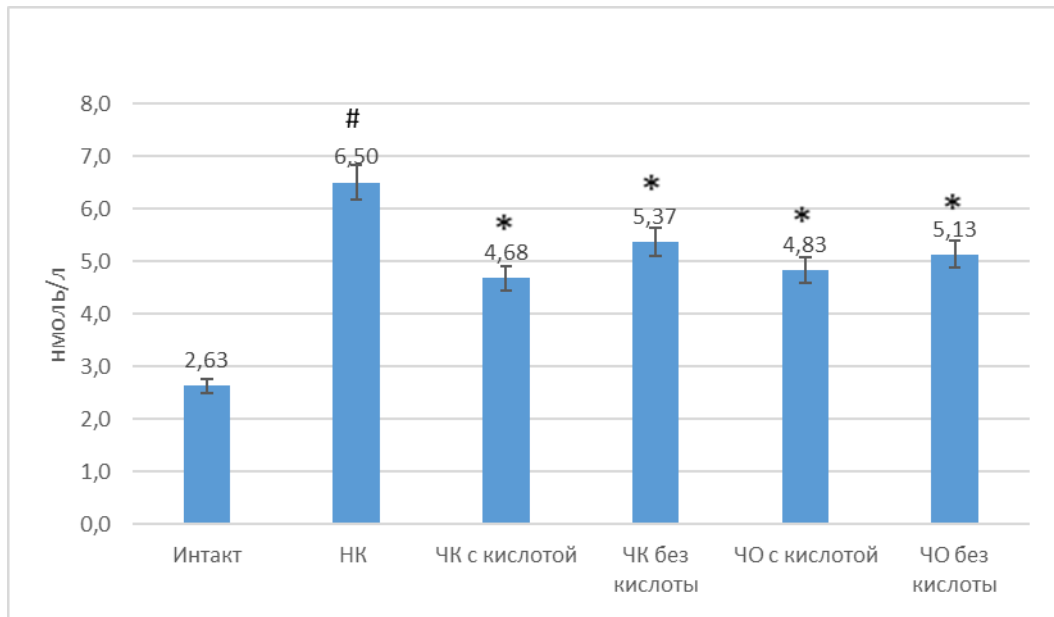


Рисунок 32 – Содержание ТБК-АП в мозге у животных разных групп: ЧК – животные, получающие густой экстракт из плодов черники кавказской; ЧО – животные, получающие густой экстракт из плодов черники обыкновенной; НК – группа негативного контроля; интакт - интактные животные; * – достоверно относительно НК группы крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно интактных крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$).

Активность супероксиддисмутазы в мозге крыс увеличивалась при введении животным густых экстрактов из плодов черники кавказской и черники обыкновенной с добавлением кислоты на 56,2% и 51,9% ($p < 0,05$ оба показателя) соответственно в сравнении с группой НК животных. Менее значительно увеличивалась активность супероксиддисмутазы при применении густых экстрактов, полученных без добавления кислоты (на 20,2% и 4,3% для плодов черники кавказской и черники обыкновенной соответственно). В группе негативного контроля активность супероксиддисмутазы уменьшалась в сравнении с интактной группой в 2 раза ($p < 0,05$) (рисунок 33).

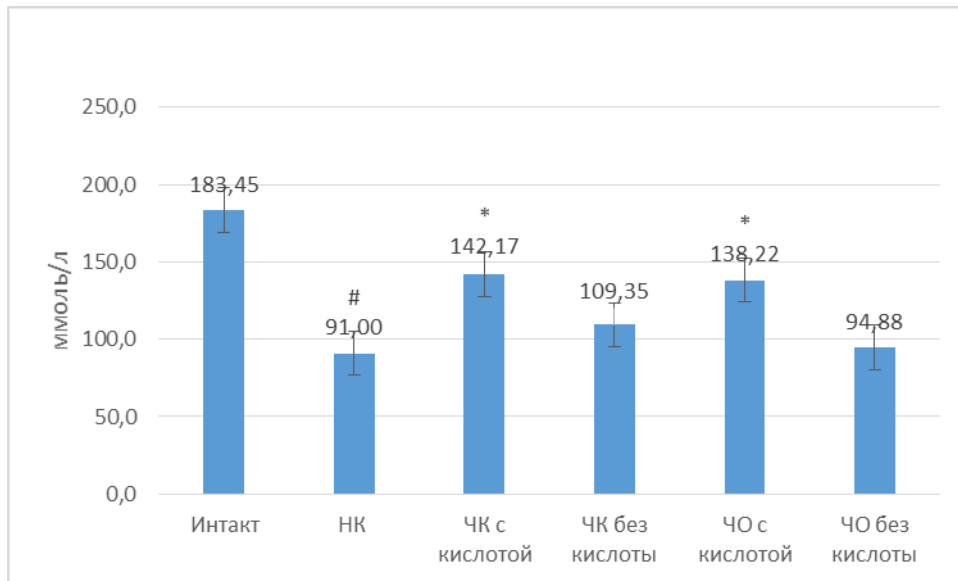


Рисунок 33 – Активность супероксиддисмутазы в мозге у животных разных групп: ЧК – животные, получающие густой экстракт из плодов черники кавказской; ЧО – животные, получающие густой экстракт из плодов черники обыкновенной; НК – группа негативного контроля; интакт – интактные животные; * – достоверно относительно НК группы крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно интактных крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$).

Для цитратсинтазы наблюдали схожую картину: в группах животных, получавших густые экстракты из извлечений с кислотой из плодов черники кавказской и черники обыкновенной, активность цитратсинтазы в мозге увеличивалась в 2,47 и в 2,39 раз соответственно ($p < 0,05$). Густые экстракты из извлечений без добавления кислоты менее значительно повышали активность цитратсинтазы в мозге животных: густой экстракт из плодов черники кавказской – в 1,67 раз, плодов черники обыкновенной – в 1,65 раз. При этом в группе негативного контроля активность цитратсинтазы снижалась в 4,28 раз в сравнении с группой интакта ($p < 0,05$) (рисунок 34).

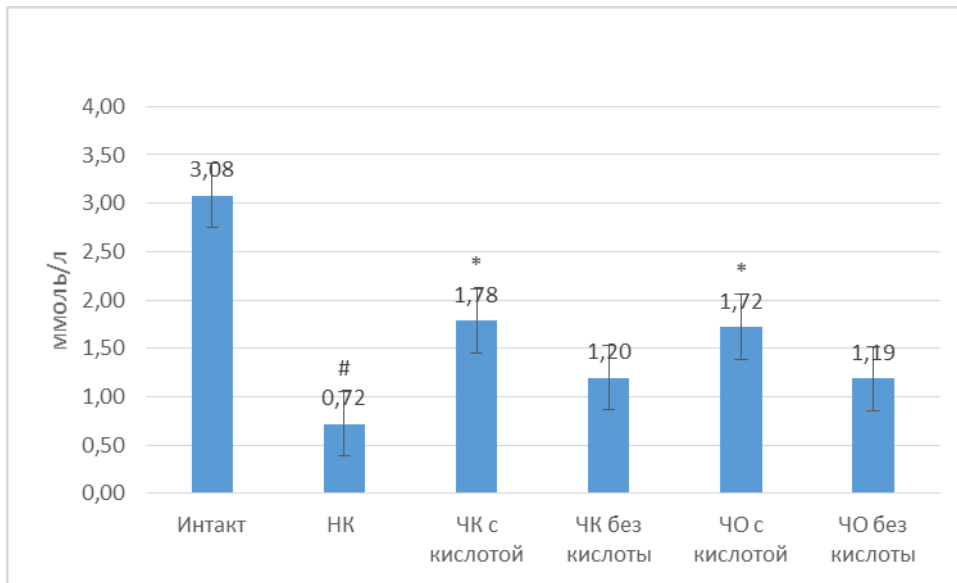


Рисунок 34 – Активность цитратсинтазы в мозге у животных разных групп: ЧК – животные, получающие густой экстракт из плодов черники кавказской; ЧО – животные, получающие густой экстракт из плодов черники обыкновенной; НК – группа негативного контроля; интакт – интактные животные; * – достоверно относительно НК группы крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – достоверно относительно интактных крыс (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$).

6.2. Антидиабетическое действие

В условиях экспериментального сахарного диабета установлено, что у группы НК наблюдали превышение уровня глюкозы в крови в сравнении с группой интакта в 4,61 ($p < 0,05$), 4,00 ($p < 0,05$), 4,14 ($p < 0,05$), 3,64 ($p < 0,05$) раз на первой, второй, третьей и четвертой неделе исследования соответственно (рисунок 35). В группе животных, получающих метформин, происходило снижение содержания глюкозы в крови на 49,20% ($p < 0,05$), 45,02% ($p < 0,05$), 59,08% ($p < 0,05$) и 54,75% ($p < 0,05$) с 1 по 4 неделю эксперимента. Схожая картина отмечена в группе, получающей дапаглифлозин, а именно снижение уровня глюкозы на 39,74% ($p < 0,05$), 41,58% ($p < 0,05$), 48,17% ($p < 0,05$), 47,49% ($p < 0,05$) соответственно. В группе, получающей густой экстракт из водно-спиртового извлечения (на рисунках – спирт 70%) из плодов черники кавказской, значимые отличия наблюдали на 3 и 4 неделе эксперимента, в частности было отмечено снижение уровня глюкозы на 27,99% ($p < 0,05$) и 29,61% ($p < 0,05$) соответственно.

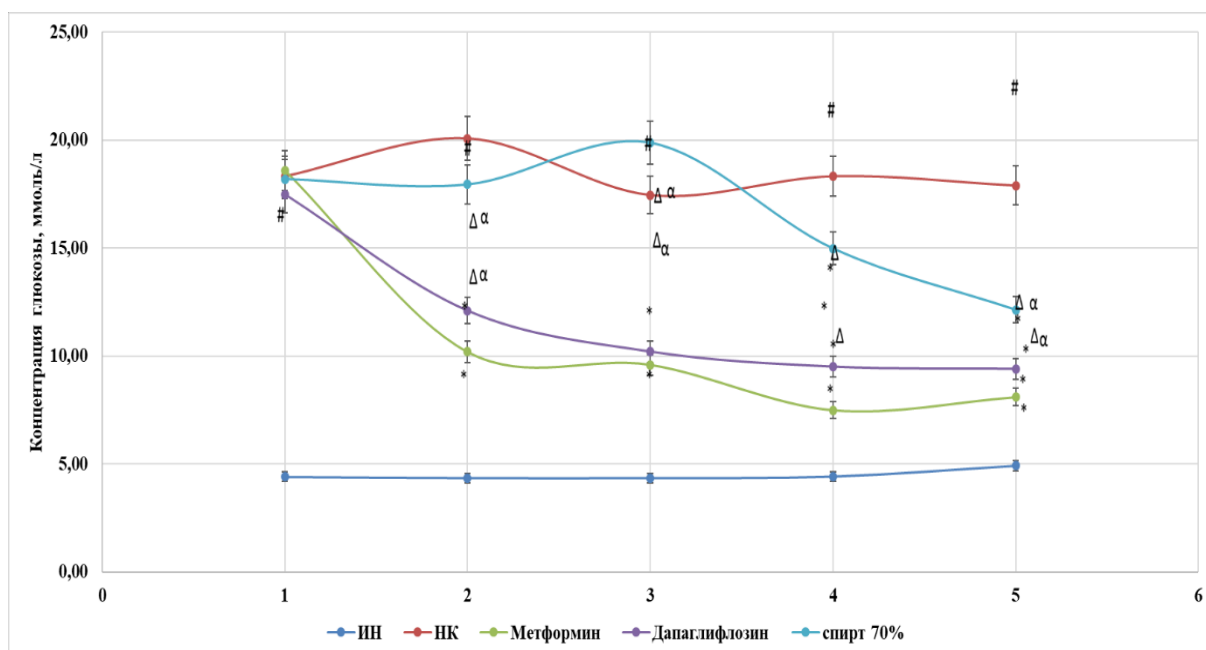


Рисунок 35 – Изменение концентрации глюкозы в крови у крыс на фоне введения исследуемого густого экстракта и референтов в условиях экспериментального сахарного диабета: 1 – исходный показатель; 2- 1 неделя терапии; 3- 2 неделя терапии; 4- 3 неделя терапии; 5- 4 неделя терапии; # – статистически значимо относительно ИН крыс ($p < 0,05$; критерий Ньюмена-Кейлса); * - статистически значимо относительно НК крыс ($p < 0,05$; критерий Ньюмена-Кейлса); Δ – статистически значимо относительно крыс, получавших метформин ($p < 0,05$; критерий Ньюмена-Кейлса); α – статистически значимо относительно крыс, получавших дапаглифлозин ($p < 0,05$; критерий Ньюмена-Кейлса).

В группе, получающей метформин, отмечено снижение уровня глюкозы в моче относительно группы НК на 25,76% ($p < 0,05$), 40,86% ($p < 0,05$), 46,88% ($p < 0,05$) и 61,54% ($p < 0,05$) с 1-й по 4-ую неделю. Дапаглифлозин значительно увеличивал содержание глюкозы в моче. В группе ИН не обнаружена глюкоза в моче. В группе животных, получавших густой экстракт из плодов, после 1 недели эксперимента фиксировали увеличение концентрации глюкозы в моче относительно группы НК, далее к четвертой неделе уровень глюкозы превышал уровень глюкозы в моче у НК группы на 25,87% ($p < 0,05$) (рисунок 36). При этом концентрация глюкозы в моче у крыс, которым вводили извлечение, была выше таковой у животных, получавших метформин ($p < 0,05$), но ниже, чем у крыс, которым вводили дапаглифлозин ($p < 0,05$).

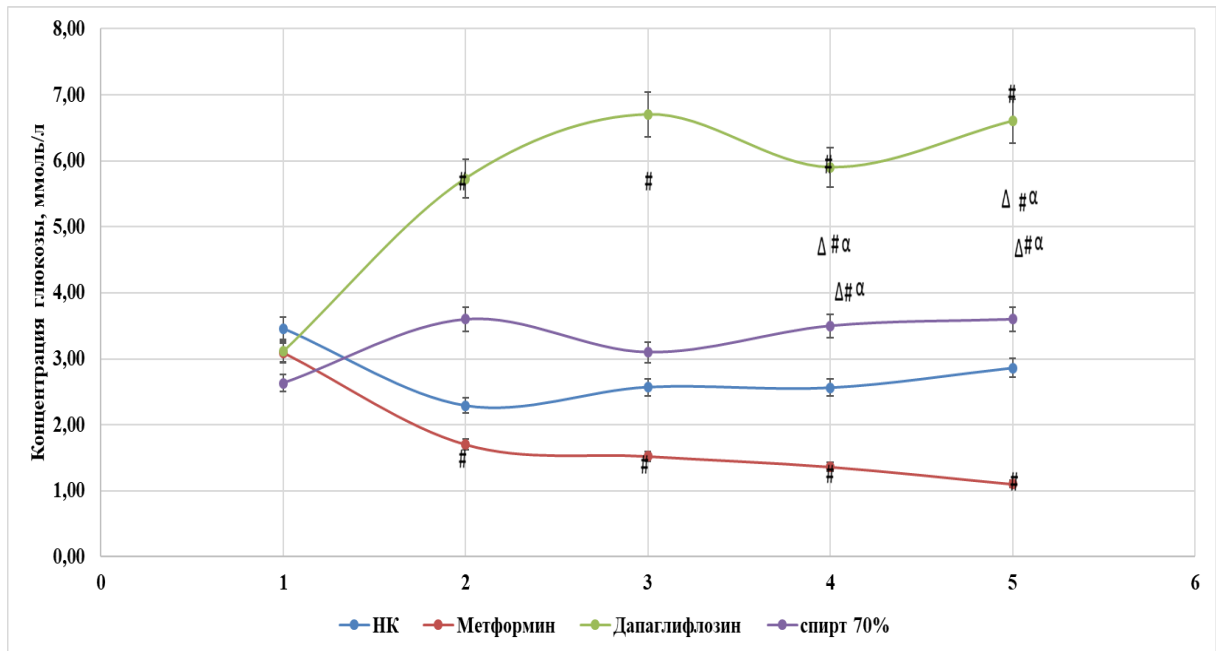


Рисунок 36 – Изменение концентрации глюкозы в моче у крыс на фоне введения исследуемых густых экстрактов и референтов в условиях экспериментального сахарного диабета

Примечание: аналогично рисунку 35.

Объем диуреза в группе НК по сравнению с группой ИН значительно увеличивался к четвертой неделе в 2,12 раз ($p < 0,05$). В референтной группе, получающей метформин, после первой недели диурез увеличился на 50,41% ($p < 0,05$), далее на 2-й и 3-й неделе снизился на 20,22% ($p < 0,05$) и 31,63% ($p < 0,05$) соответственно (рисунок 37). В группе, получающей дапаглифлозин, диурез увеличивался на протяжении всего курса приема. В группе, получающей густой экстракт из плодов, диурез увеличился на 2-й неделе на 15,52% ($p < 0,05$).

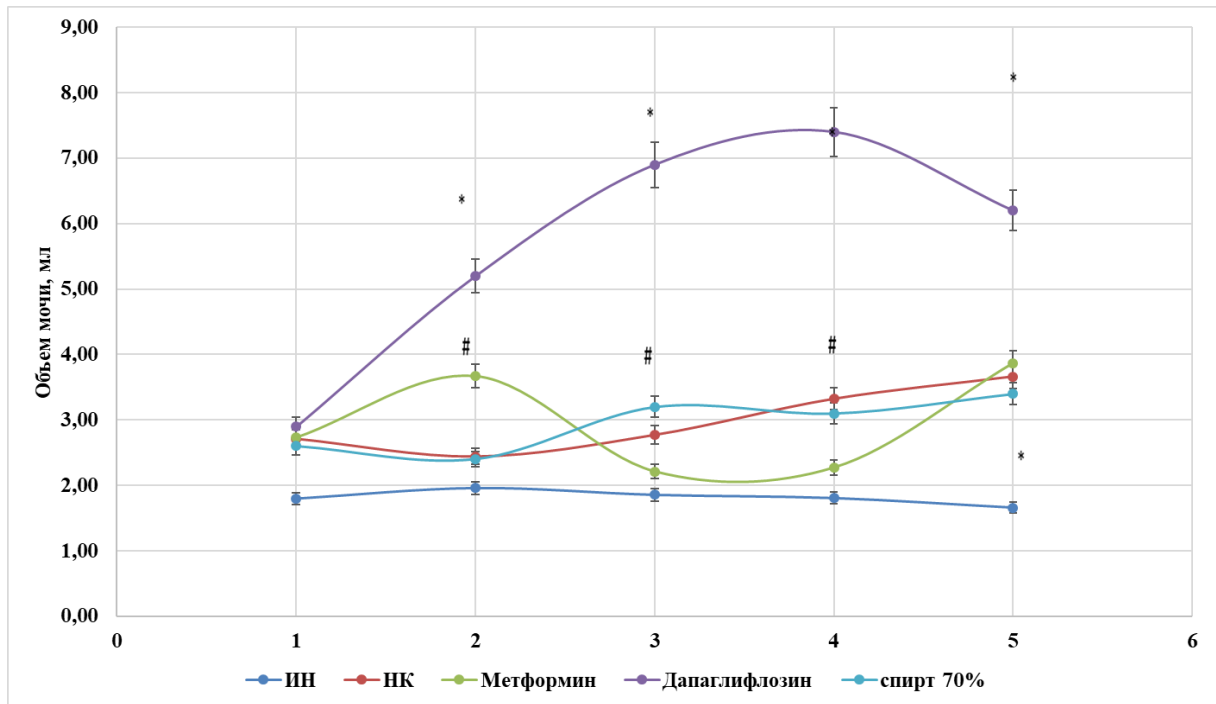


Рисунок 37 – Изменение интенсивности диуреза у крыс на фоне введения исследуемых густых экстрактов и референтов в условиях экспериментального сахарного диабета

Примечание: аналогично рисунку 35

Таким образом, на основании проведенного комплексного фитохимического исследования выявлен новый вид фармакологической активности – нейропротекторное действие, и проведен сравнительный анализ антидиабетического действия плодов черники кавказской и черники обыкновенной

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 6

1. Анализируемые густые экстракты не обладают токсическим действием в условиях острого эксперимента. Класс токсичности по СГС-классификации -5 класс.

2. В условиях экспериментальной модели глаукомы у крыс, вызванной инъекцией микрошариков из полистирола в переднюю камеру глаза, оказывает выраженное нейропротекторное действие густых экстрактов (экстрагент: спирт этиловый 70% с добавлением хлористоводородной кислоты) из плодов видов черник, выражаемое в снижении интенсивности реакций окислительного стресса. Антиоксидантное действие исследуемых экстрактов, по всей видимости, связано с повышением активности ферментативного компонента анти-перекисной защиты клетки (супероксиддисмутазы), а также уменьшении генерации митохондриальных активных форм кислорода (повышение активности цитратсинтазы и сукцинатдегидрогеназы), что в итоге приводило к уменьшению липопероксидативных процессов. Важно отметить, что процесс получения экстрактов (с использованием кислоты и без таковой) оказывает влияние на способность анализируемого объекта увеличивать активность супероксиддисмутазы и цитратсинтазы, что может быть связано с компонентным составом полученных извлечений.

3. У животных со стрептозотоциновым сахарным диабетом пероральное введение густого экстракта (экстрагент: спирт этиловый 70%) из воздушно-сухих плодов черники кавказской снижает концентрацию глюкозы в крови животных, начиная со 2 недели применения. При этом гипогликемическое действие анализируемого извлечения может быть связано с глюкозурическим действием.

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). Рекомендуется естественная воздушно-тенева 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, левулиновой, 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 черник 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 ($M_{ВРПС} = 11263.82$ г/моль) и ПВ из плодов черники кавказской ($M_{ПВ} = 12289.95$ 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 СОКРАЩЕНИЙ

AP-1 – активаторный белок

GLUT₄– мембранные транспортеры глюкозы

IRS-1 – субстрат 1 рецептора инсулина

NF-κB – ядерный фактор каппа-би

Srebp1c – белок 1, связывающий регуляторный элемент стерина

Pparg - рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором гамма

БАС – биологически активные соединения

БИН РАН – ботанический институт российской академии наук

ВМВ – высокомолекулярные вещества

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

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДФПГ – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил

ИК сушка – инфракрасная сушка

ИЛ-6 – интерлейкин-6

ИН – интакт

ИЭР/МС – ионизация электрораспыления с масс-спектрофотометрическим детектором

ИЭС – изоэлектрическое состояние

ИЭТ – изоэлектрическая точка

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛРП – лекарственные растительные препараты

ЛРС – лекарственное растительное сырье

НК – негативный контроль

ОФС – общая фармакопейная статья

ПАВ – поверхностно активные вещества

ПВ – пектиновые вещества

ПГК – постпрандиальная глюкоза крови

ПНАВ - поверхностно неактивные вещества

ПТСХ-П-А-УФ – пластинка тонкослойная хроматографическая на полимерной основе с ультрафиолетовым люминофором

ПТСХ-АФ-Ф-УФ – пластинка тонкослойная хроматографическая на алюминиевой фольге с ультрафиолетовым люминофором

ПФ – подвижная фаза

РНК – рибонуклеиновая кислота

СО – стандартный образец

СОД - супероксидаза

ТБК-АП - 2-тиобарбитуровая кислота – активные продукты

ТСХ – тонкослойная хроматография

ДМД - диодно-матричный детектор

ФМП – 1-метил-3-фенил-пиразолон-5

ФС – фармакопейная статья

ЧК – черника кавказская

ЧО – черника обыкновенная

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. База данных аналитической компании Alpha RM [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://alpharm.ru/ru/analytics/gos-segment?page=1> (дата обращения 18.05.2025 г)
2. База данных аналитической компании ДСМ Групп [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://dsmviewer.ru/> (дата обращения 20.06.2025 г)
3. Бубенчиков, Р.А. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в траве кульбабы осенней (*Leontodon autumnalis* L.) / Р. А. Бубенчиков, Н. Н Гончаров // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4. – №. 1. – С. 26-35.
4. Бубенчикова, В.Н. Жирнокислотный и минеральный состав травы горлюхи ястребинковой (*Picris hieracioides* L.) / В.Н.Бубенчикова, И.В. Степнова // Химия растительного сырья. – 2018. – № 1. – С. 113-119.
5. Бубенчикова, В.Н. Разработка методики количественного определения полисахаридов в траве горлюхи ястребинковой / В. Н. Бубенчикова, И. В. Степнова, М. С. Шкабунова // Фармация. – 2018. – Т. 67, № 5. – С. 19-23.
6. Галенко, М.С. Применение атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой для анализа тяжелых металлов и мышьяка в настойках / М.С. Галенко, Р.Н. Аляутдинов, И.В. Гравель // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022. – Т. 12, № 2. – С. 173-182.
7. Генералов, Е.А. Физико-химические подходы к анализу природных полисахаридов / Е.А. Генералов // Auditorium. – 2015. – Т. 8, №4. – С. 38–54.
8. Гогмачадзе, И.Д. Листья черники кавказской - перспективное лекарственное растительное сырье / И.Д. Гогмачадзе, Э.А. Ярош, С.Д. Хиникадзе // Агроэкоинфо. – 2008. – № 1. – С. 9.

9. ГОСТ 34557-2019. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении. Метод «вверх и вниз». – М.: Стандартиформ, 2019. – 28 с.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. [Электронный ресурс]. - URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/>.
11. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. [Электронный ресурс]. - URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>.
12. Дикорастущие полезные растения России / Под. ред. А.Л. Буданцева, Е.Е. Лесиовской. – СПб.: Издательство СПХФА, 2001. – 663 с.
13. 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. 83-92.
14. Ибаева, Х.А. Внешние и микроскопические признаки плодов черники кавказской и черники обыкновенной / Х.А. Ибаева [и др.] // Фармация - 2025. - № 7. – С. 13-18.
15. 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.
16. 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.
17. 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.

18. 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.

19. Куркин, В.А. Разработка методики определения антоцианов в лекарственном растительном сырье / В.А. Куркин [и др.] // Фармация. – 2014. - № 4. – С. 17-20.

20. Куркин, В.А. Черника обыкновенная: современные подходы к стандартизации сырья и созданию лекарственных препаратов / В.А. Куркин, Т.К. Рязанова, И.К. Петрухина. – Самара: ООО «Офорт», 2014. – 127 с.

21. Мжаванадзе, В.В. Антоцианы черники кавказской / В. В. Мжаванадзе // Биохимия растений. Тбилиси. – 1973. – С.251-254.

22. Мжаванадзе, В.В. Выделение цианидин- и пеонидин-3-арабинозидов из плодов черники кавказской / В. В. Мжаванадзе // Тез. 2-го Всесоюз. симпоз. по фенольным соединениям. - Алма-Ата, . –1970. – С.40.

23. Мжаванадзе, В.В. Гликозиды кемпферола листьев черники кавказской – *Vaccinium arctostaphylos* L. / В. В. Мжаванадзе // Сообщ. АН ГССР. – 1971. – Т. 62, № 2. – С. 445-447.

24. Мжаванадзе, В.В. Полифенолы из листьев *Vaccinium arctostaphylos* L. / В. В. Мжаванадзе, И. Л. Таргамадзе, Л. И. Драник // Химия природных соединений. – 1971. – № 4. – С. 546.

25. Мжаванадзе, В.В. Фенольные соединения листьев *Vaccinium arctostaphylos* L. / В. В. Мжаванадзе, И. Л. Таргамадзе, Л. И. Драник // Химия природных соединений. –1972. - № 1. – С. 124.

26. Мжаванадзе, В.В. Фенольные соединения черники кавказской – *Vaccinium arctostaphylos* L.: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / В.В. Мжаванадзе Виктория Васильевна. – Ереван, 1973. – 28 с.

27. Мжаванадзе, В.В. Флавоноловые гликозиды листьев черники кавказской – *Vaccinium arctostaphylos* L. / В. В. Мжаванадзе // Биохимия растений. Тбилиси. –1973. – С.247-250.

28. Мжаванадзе, В.В. Хлорогеновая кислота из листьев черники кавказской – *Vaccinium arctostaphylos* L. / В. В. Мжаванадзе // Сообщ. АН ГССР. –1971. – Т. 62, № 1. – С. 189-191.

29. Первушкин, С.В. Исследование по разработке лекарственного средства с антиоксидантным действием / С.В. Первушкин [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – Т. 16, № 5-2. – С. 1013-1017.

30. Петрухина, И.К. Исследование номенклатуры офтальмологических лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке российской федерации / И.К. Петрухина, В.А. Куркин, Т.К. Рязанова // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 9-6. – С. 1264-1268.

31. Попов, А.И. Черника обыкновенная – источник получения педиатрических фитосредств. некоторые оригинальные подходы и результаты изучения химического состава / А.И. Попов, Д.Н. Шпанько // Мать и дитя в Кузбассе. – 2003. – Т. 12, № 1. – С. 16-18.

32. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 240 с.

33. Рязанова, Т.К. Исследование диуретической активности препаратов плодов черники обыкновенной / Т.К. Рязанова, Е.Н. Зайцева // Аспирантский вестник Поволжья. – 2014. – № 1-2. – С. 249-251.

34. Рязанова, Т.К. Новые подходы к комплексному использованию плодов и побегов черники обыкновенной / Т.К. Рязанова, В.А. Куркин // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 5-3. – С. 757-760.

35. Рязанова, Т.К. Фармакогностическое исследование плодов и побегов черники обыкновенной: дис. ... канд. фарм. наук 14.04.02 / Т.К. Рязанова // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 8-5. – С 1136-1140.
36. Селина, И.И. Физико-химические характеристики пектинов и водорастворимых полисахаридов крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* L. Mill.), листьев шелковицы черной (*Morus nigra* L.) и шелковицы белой (*Morus alba* L.) / И.И. Селина [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. –2013. –Т. 11, №10. –С. 20–25.
37. Сергеева, Е.О. Амилин-модифицирующие свойства гесперидина и феруловой кислоты в условиях экспериментального инсулинорезистентного сахарного диабета / Е.О. Сергеева [и др.] // Крымский терапевтический журнал. – 2023. – № 3. – С. 77-81.
38. Таланов, А.А. Хромато-масс-спектрометрический анализ плодов черники кавказской / А.А. Таланов // Развитие современной науки: теоретические и прикладные аспекты: сборник статей. – Пермь, 2013. – Т. 4. – С. 235-237.
39. Фидарова, А.Ч. Распространение, биоэкологические особенности и ресурсы черники кавказской в Республике Северная Осетия-Алания: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.32 / А.Ч. Фидарова. – Владикавказ: 2006. – 19 с.
40. Фидарова, А.Ч. Морфологическая и эколого-биологическая характеристика черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos*) в Северной Осетии / А.Ч. Фидарова, А.Г. Ваниев // Объединенный научный журнал. 2006. № 6. – С. 79.
41. Фидарова, А.Ч. Семенная продуктивность черники кавказской в РСО-А /А.Ч. Фидарова// Материалы региональной научной конференции «Актуальные проблемы экологии и сохранения биоразнообразия Северного Кавказа». Владикавказ, 2006.–С. 133-135.
42. Фидарова, А.Ч. Фенологические особенности и урожайность черники кавказской в Республике Северная Осетия-Алания/ А.Ч. Фидарова,

А.Г. Ваниев // Центр научно-технической информации: Информационный листок. № 68-007-06.

43. Фидарова, А.Ч., Ресурсы черники кавказской в РСО-А/ А.Ч. Фидарова, А.Г. Ваниев // Объединенный научный журнал. 2006. – № 6. – С. 80.

44. Флора СССР: в 30 т. Т. 18. Сем. СХХIII. Вересковые – Ericaceae DC. / под ред. В. Л. Комарова. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1952. – С. 102. – 802 с.

45. Хведелидзе, В.Г. Кислотный гидролиз антоцианового экстракта из ягод черники кавказской / В.Г. Хведелидзе [и др.] // Новый университет. Серия: Технические науки. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 39-40.

46. Цветков, В.Н. Структура макромолекул в растворах // В.Н. Цветков, В.Е. Эскин, С.Я. Френкель. – М., 1964. – 720 с.

47. Шамилов, А.А. Анализ полисахаридного, аминокислотного и элементного состава травы черноголовки обыкновенной (*Prunella vulgaris L.*), произрастающей на Северном Кавказе / А. А. Шамилов // Вестн. ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2018. – № 3. – С. 271-277.

48. Шамилов, А.А. Разработка и валидация методики количественного определения фенольных соединений и хлорогеновой кислоты в голубики болотной листьях / А. А. Шамилов [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т. 25, № 2. – С. 14-23.

49. Шамилов, А.А. Разработка методики определения подлинности голубики болотной листьев методом тонкослойной хроматографии / А. А. Шамилов [и др.] // Вопросы биологич., мед. и фармац. химии. – 2022. – № 11. – С. 10-15.

50. Шамилов, А.А. Сравнительная характеристика физико-химических свойств полисахаридов, выделенных из видов рода черноголовка / А. А. Шамилов [и др.], В.Н. Бубенчикова, Н.Н. Степанова, Е.Р. Гарсия // Химия растительного сырья. – 2023. – №4. – С. 89-98.

51. Щукин, В.М. Валидация методики определения ртути, свинца, кадмия и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах на его основе методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой / В.М. Щукин [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. –2020.–Т. 54, № 9. – С. 57-64.
52. Abidov, M. Effect of Blueberin on fasting glucose, C-reactive protein and plasma aminotransferases, in female volunteers with diabetes type 2: double-blind, placebo controlled clinical study / M. Abidov [et al.] // Georgian Med News. – 2006. – № 141. – P. 66-72.
53. Akbari Bazm, M. The effects of hydroalcoholic extract of *Vaccinium arctostaphylos* L. on sperm parameters, oxidative injury and apoptotic changes in oxymetholone-induced testicular toxicity in mouse / M. Akbari Bazm [et al.] // Andrologia. – 2020. – Vol. 52, № 3. – P. e13522 (12 p.).
54. Ancillotti, C. Polyphenolic Profiles and Antioxidant and Antiradical Activity of Italian Berries from *Vaccinium Myrtillus* L. And *Vaccinium Uliginosum* L. Subsp. *Gaultherioides* (Bigelow) S.B. Young / C. Ancillotti [et al.] // Food Chem. – 2016. – Vol. 204. –P. 176–184.
55. Ancillotti, C. Polyphenolic profiles and antioxidant and antiradical activity of Italian berries from *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium uliginosum* L. subsp. *Gaultherioides*(Bigelow) S.B. Young / Ancillotti C. [et al.] // Food Chem. – 2016. – Vol. 204. – P. 176-184.
56. Arow, M. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor Dapagliflozin attenuates diabetic cardiomyopathy / M.Arow [et al.] // Cardiovasc Diabetol. – 2020. – Vol. 19, № 1. – P. 7 (12 p.).
57. Asgary, S. Evaluation of the effect of *Vaccinium arctostaphylos* L. fruit extract on serum inflammatory biomarkers in adult hyperlipidemic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial / S. Asgary [et al.] // Res Pharm Sci. – 2016. – Vol. 11, № 4. – P. 343-348.

58. Ashour, O.M. Protective effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) against doxorubicin-induced oxidative cardiotoxicity in rats / O.M. Ashour [et al.] // *Med Sci Montii*. – 2011. – Vol. 17, № 4. – P. 110-115.
59. Ayaz, F.A. Separation, characterization, and quantitation of phenolic acids in a little-known blueberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) fruit by HPLC-MS / F.A. Ayaz [et al.] // *J Agric Food Chem*. – 2005. – Vol. 53, № 21. – P. 8116-8122.
60. Balci, N. Purification and characterization of glutathione S-transferase from blueberry fruits (*Vaccinium arctostaphylos* L.) and investigated of some pesticide inhibition effects on enzyme activity / N. Balci [et al.] // *Heliyon*. – 2019. – Vol. 5, № 4. – P. e01422 (18 p.).
61. Ballinger, W.E. Anthocyanin and total flavonol content of *Vaccinium stamineum* L. Fruit / W.E. Ballinger, E.P. Maness, J.R. Ballington // *Scientia Horti*. – 1981. – Vol. 15. – P. 173-178.
62. Ballington, J.R. Anthocyanin, aglycone, and aglycone-sugar content in the fruits of temperate North American species of four sections in *Vaccinium* / J.R. Ballington [et al.] // *J Am Soc Hortic Sci*. – 1988. – Vol. 113. – P. 746-749.
63. Barut, B. Investigation of the Antioxidant, α -Glucosidase Inhibitory, Anti-inflammatory, and DNA Protective Properties of *Vaccinium arctostaphylos* L. / B. Barut [et al.] // *Turk J Pharm Sci*. – 2019. – Vol. 16, № 2. – P. 175-183.
64. Bayrami, A. A facile ultrasonic-aided biosynthesis of ZnO nanoparticles using *Vaccinium arctostaphylos* L. leaf extract and its antidiabetic, antibacterial, and oxidative activity evaluation / A. Bayrami [et al.] // *Ultrason Sonochem*. – 2019. – Vol. 55. – P. 57-66.
65. Bayrami, A. Bio-extract-mediated ZnO nanoparticles: microwave-assisted synthesis, characterization and antidiabetic activity evaluation / A. Bayrami [et al.] // *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. – 2018. – Vol. 46, № 4. – P. 730-739.
66. Borowiec, K. Cholinesterase Inhibitors Isolated from Bilberry Fruit / K. Borowiec [et al.] // *J. Funct. Foods*. – 2014. – Vol. 11. – P. 313–321.

67. Carvalho, M.J. Nutritional and Phytochemical Composition of *Vaccinium padifolium* Sm Wild Berries and Radical Scavenging Activity / M.J. Carvalho [et al.] // J Food Sci. – 2017. – Vol. 82, № 11. – P. 2554-2561.

68. Cebin, A.V. Development and Validation of HPLC-DAD Method with Pre-Column PMP Derivatization for Monomeric Profile Analysis of Polysaccharides from Agro-Industrial Wastes / A.V. Cebin, D. Komes, M.-C.Ralet // Polymers. – 2022. – Vol. 14 (3). – P. 544-557.

69. Chao, P.C. Investigation of insulin resistance in the popularly used four rat models of type-2 diabetes / P.C.Chao [et al.] // Biomed Pharmacother. – 2018. – Vol. 101. – P. 155-161.

70. Chen, K. Effects of Anthocyanin Extracts from Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Purple Potato (*Solanum tuberosum* L. var. 'Synkeä Sakari') on the Plasma Metabolomic Profile of Zucker Diabetic Fatty Rats / K. Chen [et al.] // J Agric Food Chem. – 2020. – Vol. 68, № 35. – P. 9436-9450.

71. Chkhikvishvili, I.D. Chicoric and chlorogenic acids in plant species from Georgia / I.D. Chkhikvishvili, G.I. Khareba // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2—1. – Vol. 37, №2. – P. 188-191.

72. Chu, W.K. Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). Chapter 4/ W.K. Chu [et al.] // In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. - 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2011.

73. Dashbaldan, S. Various Patterns of Composition and Accumulation of Steroids and Triterpenoids in Cuticular Waxes from Screened Ericaceae and Caprifoliaceae Berries during Fruit Development / S.Dashbaldan [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24. – P. 3826-3844.

74. De Mello, V.D.F. Fasting serum hippuric acid is elevated after bilberry (*Vaccinium myrtillus*) consumption and associates with improvement of fasting glucose levels and insulin secretion in persons at high risk of developing type 2 diabetes / V.D.F. De Mello [et al.] // Mol Nutr Food Res. – 2017. – Vol. 61, № 9.– P. 1700019

75. Değirmenciöğlü, N. Influence of hot air drying on phenolic compounds and antioxidant capacity of blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruit and leaf / Değirmenciöğlü N. [et al.] // J App Bot Food Qual. – 2017. – Vol. 90. – P. 115-125.
76. Demirel Sezer, E. Assessing Anticancer Potential of Blueberry Flavonoids, Quercetin, Kaempferol, and Gentisic Acid, Through Oxidative Stress and Apoptosis Parameters on HCT-116 Cells / E. Demirel Sezer [et al.] // J Med Food. – 2019. – Vol. 22, № 11. – P. 1118-1116.
77. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes, September 22, 2010 // Official Journal of the European Union. – 2010. – L 276. – P. 33-79.
78. Duca, F.A. Metformin activates a duodenal Ampk-dependent pathway to lower hepatic glucose production in rats [published correction appears in Nat Med. 2016 Feb;22(2):217] / F.A. Duca [et al.]// Nat Med. – 2015. – Vol. 21, № 5. – P. 506-511.
79. Feshani, A.M. *Vaccinium arctostaphylos*, a common herbal medicine in Iran: molecular and biochemical study of its antidiabetic effects on alloxan-diabetic Wistar rats / A.M. Feshani, S.M. Kouhsari, S. Mohammadi // J Ethnopharmacol. – 2011. – Vol. 133, №1. – P. 67-74.
80. Figueira, J.A. Evaluation of the Health-Promoting Properties of Selected Fruits / J.A. Figueira [et al.]// Molecules. – 2021. – Vol. 26, № 14. – P. 4202-4213.
81. Figueira, J.A. Free low-molecular weight phenolics composition and bioactivity of *Vaccinium padifolium* Sm fruits / J.A. Figueira [et al.] // Food Res Int. – 2021. – Vol. 148. – P. 110580.
82. Gharbavi, M. Biogenic and facile synthesis of selenium nanoparticles using *Vaccinium arctostaphylos* L. fruit extract and anticancer activity against *in vitro* model of breast cancer / M. Gharbavi [et al.] // Cell Biol Int. – 2022. – Vol. 46, № 10. – P. 1612-1624.

83. Ghorbani, A. Antihyperlipidemic effect of a polyherbal mixture in streptozotocin-induced diabetic rats / A. Ghorbani [et al.] // *J Lipids*. – 2013. – Vol. 2013. – 6 p.
84. Heffels, P. Profiling of Iridoid Glycosides in *Vaccinium* Species by UHPLC-MS / P. Heffels [et al.] // *Food Res. Int.* – 2017. – Vol. 100. – P. 462–468.
85. Hilz, H. Bilberry Xyloglucan—Novel Building Blocks Containing β -xylose within a Complex Structure / H. Hilz [et al.] // *Carbohydr. Res.* – 2007. – Vol. 342. – P. 170–181.
86. Huttunen, S. Inhibition activity of wild berry juice fractions against *Streptococcus pneumoniae* binding to human bronchial cells / S. Huttunen [et al.] // *Phytother Res.* – 2011. – Vol. 25, № 1. – P. 122-127.
87. Jooyandeh, H. Modeling of ultrasound-assisted extraction, characterization and in vitro pharmacological potential of polysaccharides from *Vaccinium arctostaphylos* L. / H. Jooyandeh, M. Noshad, R.A. Khamirian // *Int J Biol Macromol.* – 2018. – Vol. 107 (Pt A). – P. 938-948.
88. Khodadadi, S. Investigating the Possibility of Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Vaccinium arctostaphylos* Extract and Evaluating Its Antibacterial Properties / S. Khodadadi [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 5572252 (14 p.).
89. Kianbakht, S. Anti-hyperglycemic effect of *Vaccinium arctostaphylos* in type 2 diabetic patients: a randomized controlled trial / S. Kianbakht, B. Abasi, F.H. Dabaghian // *Forsch Komplementmed.* – 2013. – Vol. 20, № 1. – P. 17-22.
90. Kianbakht, S. Antihypertensive efficacy and safety of *Vaccinium arctostaphylos* berry extract in overweight/obese hypertensive patients: A randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial / S. Kianbakht, F. Hashem-Dabaghian // *Complement Ther Med.* – 2019. – Vol. 44. – P. 296-300.
91. Kianbakht, S. Improved lipid profile in hyperlipidemic patients taking *Vaccinium arctostaphylos* fruit hydroalcoholic extract: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial / S. Kianbakht, B. Abasi, F. Hashem Dabaghian // *Phytother Res.* – 2014. – Vol. 28, № 3. – P. 432-436.

92. Kowalska, K. Inhibitory activity of chokeberry, bilberry, raspberry and cranberry polyphenol-rich extract towards adipogenesis and oxidative stress in differentiated 3T3-L1 adipose cells / K. Kowalska [et al.] // Plos One. – 2017. – Vol. 12, № 11. - e0188583.
93. Lätti, A.K. Characterization of anthocyanins in caucasian blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L.) native to Turkey / A.K. Lätti [et al.] // J Agric Food Chem. – 2009. – Vol. 57, №12. – P. 5244-5249.
94. Mechikova, G.Y. Cancer-preventive activities of secondary metabolites from leaves of the bilberry *Vaccinium smallii* A. Gray / G.Y. Mechikova [et al.] // Phytother Res. – 2010.– Vol. 24, № 11. – P. 1730-1732.
95. Mehrzadi, S. Efficacy and Safety of a Traditional Herbal Combination in Patients with Type II Diabetes Mellitus: A Randomized Controlled Trial / S. Mehrzadi [et al.] // J Diet Suppl. – 2021. – Vol. 18, № 1. – P. 31-43.
96. Mirfeizi, M. Controlling type 2 diabetes mellitus with herbal medicines: A triple-blind randomized clinical trial of efficacy and safety / Mirfeizi M. [et al.] // J Diabetes. – 2016. – Vol. 8, №5. – P. 647-656.
97. Mohammadi-Aloucheh, R. Enhanced anti-bacterial activities of ZnO nanoparticles and ZnO/CuO nanocomposites synthesized using *Vaccinium arctostaphylos* L. fruit extract / R. Mohammadi-Aloucheh [et al.] // Artif Cells Nanomed Biotechnol. – 2018. – Vol. 46 (sup1). – P. 1200-1209.
98. Mohtashami, R. Effects of standardized hydro-alcoholic extract of *Vaccinium arctostaphylos* leaf on hypertension and biochemical parameters in hypertensive hyperlipidemic type 2 diabetic patients: a randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial / Mohtashami R. [et al.] // Avicenna J Phytomed. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 44-53.
99. Može, Š. Phenolics in slovenian bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberries (*Vaccinium corymbosum*L.) / Š. Može [et al.] // J Agric Food Chem. – 2011. – Vol. 59. – P. 6998-7004.

100. Nickavar, B. Anatomical study on *Vaccinium arctostaphylos* L./ B. Nickavar, G. Amin, M.H. Salehi-Sormagi // Pharmazie. – 2003. – Vol. 58, №4. – P. 274-278.
101. Nickavar, B. Anthocyanins from *Vaccinium arctostaphylos* berries / B. Nickavar, Gh. Amin // Pharmaceutical Biology. – 2004. – Vol. 42, № 4-5. – P. 289-291.
102. Nickavar, B. Steam volatiles of *Vaccinium arctostaphylos* / Nickavar B. [et al.] // Pharmaceutical Biology. – 2002. – Vol. 40, № 6. – P. 448-449.
103. Ozawa, Y. Bilberry extract supplementation for preventing eye fatigue in video display terminal workers / Y. Ozawa [et al.]// J Nutr Health Aging. – 2015. – Vol. 19, № 5. – P. 548-554.
104. Patko, E. Protective Effects of Pituitary Adenylate-Cyclase-Activating Polypeptide on Retinal Vasculature and Molecular Responses in a Rat Model of Moderate Glaucoma / E. Patko [et al.] // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 24, № 17. – P. 13256 (14 p.).
105. Pehlivan, N. Salt stress relief potency of whortleberry extract bioprimering in maize / N. Pehlivan // 3 Biotech. – 2018. – Vol. 8, № 2. – P. 89-98.
106. Pires, T.C.S.P. Development of new bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) based snacks: Nutritional, chemical and bioactive features / T.C.S.P. Pires [et al.] // Food Chem. – 2021. – Vol. 334. – P. 127511.
107. Pires, T.C.S.P. *Vaccinium myrtillus* L. Fruits as a Novel Source of Phenolic Compounds with Health Benefits and Industrial Applications - A Review / T.C.S.P. Pires [et al.] // Curr Pharm Des. – 2020. – Vol. 26, № 16. – P. 1917-1928.
108. Porto-Figueira, P. Exploring a volatome-based strategy for a fingerprinting approach of *Vaccinium padifolium* L. berries at different ripening stages / P. Porto-Figueira [et al.] // Food Chem. – 2018. – Vol. 245. – P. 141-149.
109. Ravan, A.P. Hepatoprotective effects of *Vaccinium arctostaphylos* against CCl₄-induced acute liver injury in rats / A.P. Ravan [et al.] // J Basic Clin Physiol Pharmacol. – 2017. – Vol. 28, № 5. – P. 463-471.

110. Rimando, A.M. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in *Vaccinium* berries / A.M. Rimando [et al.] // J Agric Food Chem. – 2004. – Vol. 52, № 15. – P. 4713-4719.
111. Riva, A. The effect of a natural, standardized bilberry extract (Mirtoselect®) in dry eye: a randomized, double blinded, placebo-controlled trial / A. Riva [et al.] // Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2017. – Vol. 21, № 10. – P. 2518-2525.
112. Rivera, D. The ethnopharmacology of Madeira and Porto Santo Islands, a review / D. Rivera, C. Obón // J Ethnopharmacol. – 1995. – Vol. 46, № 2. – P. 73-93.
113. Salehi, N.A. Ethnopharmacological knowledge of Shiraz and Fasa in Fars region of Iran for diabetes mellitus / N.A. Salehi [et al.] // J Ethnopharmacol. – 2015. – Vol. 172. – P. 281-287.
114. Saliyani, N. The Potential Hepatoprotective Effect of *Vaccinium arctostaphylos* L. Fruit Extract in Diabetic Rat / N. Saliyani, S. Montasser Kouhsari, M. Izad // Cell J. – 2023. – Vol. 25, № 10. – P. 717-726.
115. Samkumar, A. Insights into sugar metabolism during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit development / A. Samkumar [et al.] // Physiol Plant. – 2022. – Vol. 174, № 2. – P. e13657-e13671.
116. Schink, A. Screening of herbal extracts for TLR2-and TLR4-dependent anti-inflammatory effects / A. Schink [et al.] // Plos One. – 2018. – Vol. 13, № 10. – P. e0203907.
117. Shamilov, A.A. Caucasian Blueberry: Comparative Study of Phenolic Compounds and Neuroprotective and Antioxidant Potential of *Vaccinium myrtillus* and *Vaccinium arctostaphylos* Leaves / A.A. Shamilov [et al.] // Life (Basel). – 2022. – Vol. 12, № 12. – P. 2079-2094.
118. Sharma, A. Anti-Inflammatory Activity of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) / A. Sharma, H.J. Lee [et al.] // Curr Issues Mol Biol. – 2022. – Vol. 44, № 10. – P. 4570-4583.

119. Soltani, R. Evaluation of the Effects of *Vaccinium arctostaphylos* L. Fruit Extract on Serum Lipids and hs-CRP Levels and Oxidative Stress in Adult Patients with Hyperlipidemia: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial / R. Soltani [et al.] // Evid Based Complement Alternat Med. – 2014. – Vol. 2014. – 6 p.

120. Spínola, V. Hypoglycemic, anti-glycation and antioxidant in vitro properties of two *Vaccinium* species from Macaronesia: A relation to their phenolic composition / V. Spínola, J. Pinto, P.C. Castilho // J. Funct. Foods. – 2018. – Vol. 40. – P. 595–605.

121. Stanoeva, J.P. Phenolics and mineral content in bilberry and bog bilberry from Macedonia / J.P. Stanoeva [et al.] // Int J Food Prop. – 2017. – Vol. 20. – P. S863-S883.

122. Sultana, N. Bioinformatic and molecular analysis of satellite repeat diversity in *Vaccinium* genomes / N. Sultana [et al.] // Genes. – 2020. – Vol. 11, № 5. – P. 527.

123. Sun, X. Fingerprint analysis of polysaccharides from different Ganoderma by HPLC combined with chemometrics methods / X. Sun [et al.] // Carbohydrate Polymers. – 2014. - Vol. 114. - P. 432–439.

124. Tadić, V.M. Old Plant, New Possibilities: Wild Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L., Ericaceae) in Topical Skin Preparation / V.M. Tadić [et al.] // Antioxidants (Basel). – 2021. – Vol. 10(3). – P. 465-481.

125. TheWorld Flora Online (WFO) PlantList [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://wfoplantlist.org/> (дата обращения 27.09.2024).

126. Thibado, S. Anticancer effects of Bilberry anthocyanins compared with NutraNanoSphere encapsulated Bilberry anthocyanins / S. Thibado [et al.] // Mol Clin Oncol. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 330-335.

127. Toivanen, M. Inhibition of adhesion of *Neisseria meningitidis* to human epithelial cells by berry juice polyphenolic fractions / M. Toivanen [et al.] // Phytother Res. – 2011. – Vol. 25, № 6. – P. 828-832.

128. Trivedi, P. Temperature has a major effect on the cuticular wax composition of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit / P. Trivedi [et al.] // Front Plant Sci. – 2022. – Vol.;13. – P. 980427.

129. Trivedi, P. Compositional and Morphological Analyses of Wax in Northern Wild Berry Species / Trivedi P [et al.]// Food Chem. – 2019. – Vol. 295. – P. 441–448.

130. Tumbas Šaponjac, V. Dried Bilberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) Extract Fractions as Antioxidants and Cancer Cell Growth Inhibitors / V. Tumbas Šaponjac [et al.] // LWT – Food Sci. Technol. – 2015. – Vol. 61. -P. 615–621.

131. Tumbas Šaponjac, V. Dried bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract fractions as antioxidants and cancer cell growth inhibitors / V. Tumbas Šaponjac [et al.] // LWT Food Sci Tech. – 2015. – Vol. 61. – P. 615-621.

132. Vaneková, Z. Bilberries: Curative and Miraculous – A Review on Bioactive Constituents and Clinical Research / Z. Vaneková, J.M. Rollinger // Front Pharmacol. –2022. – Vol. 13. – 15 p.

133. Veljković, M. Bilberry: chemical profiling, *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity and nephroprotective effect against gentamicin toxicity in rats / M. Veljković [et al.] // Phytother Res. – 2017. – Vol.31, № 1. – P. 115-23.

134. Wang, S.Y. Antioxidant activity of *Vaccinium stamineum*: exhibition of anticancer capability in human lung and leukemia cells / S.Y. Wang [et al.]// Planta Med. – 2007. – Vol. 73, № 5. – P. 451-460.

135. Xiao, T. Identification of anthocyanins from four kinds of berries and their inhibition activity to α -glycosidase and protein tyrosine phosphatase 1B by HPLC-FT-ICR MS/MS/ T. Xiao [et al.] // J Agric Food Chem. – 2017. – Vol. 65, № 30. – P. 6211-6221.

136. Yoshizawa, Y. Antiproliferative effects of small fruit juices on several cancer cell lines / Y. Yoshizawa [et al.]// Anticancer Res. – 2000. – Vol. 20, № 6B. – P. 4285-4289.

137. Yoshizawa, Y. Differentiation-inducing effects of small fruit juices on HL-60 leukemic cells / Y. Yoshizawa [et al.] // J Agric Food Chem. – 2000. – Vol. 48, № 8. – P. 3177-3182.

138. Zorenc, Z. Are processed bilberry products a good source of phenolics / Z. Zorenc, R. Veberic, M. Mikulic-Petkovsek // J Food Sci. – 2018. – Vol. 83, № 7. – P. 1856-1861.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1. Инструкция по сбору и сушке черники кавказской плодов

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий Перкальского дендрологического парка Ботанического института им. В.Д. Комарова РАН,

кандидат биологических наук Шильников Д.С. 2025 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по сбору и сушке черники кавказской плодов

г. Пятигорск

2025

Собранные в конце лета или в начале осени в фазу полного созревания высушенные плоды дикорастущих листопадных кустарников черники кавказской – *Vaccinium arctostaphylos* L. сем. вересковые – *Ericaceae*.

Черника кавказская (*Vaccinium arctostaphylos* L.) - кустарник или дерево высотой до 2-3 м. Стебли круглые, листья очередные, сидячие, 6-8 см длиной, продолговатой л-яйцевидно-продолговатой формы, с мелкозубчатым краем, основание и верхушка листа сужены. Цветки в соцветиях – негустые кисти. Цветки на длинных цветоножках, кисти расположены в пазухах мелких яйцевидных листочков. Цветки с двойным околоцветником, венчик бело-красный, колокольчато-цилиндрический, из 5 лепестков почти сросшихся лепестков, венчик намного крупнее чашечки (рисунок 1). Плоды – многосемянные сочные ягоды, на одном конце с остатками чашечки в виде округлой оторочки вокруг вздутого диска с остатками столбика в центре.

Черника кавказская встречается по склонам гор, в пихтово-еловых и пихтово-буковых лесах и в зарослях рододендронов, попадаетея также и в дубовых леса, а близ верхней лесной границы встречается в березовых и даже сосновых насаждениях, образуют иногда обширные заросли. Ареалом произрастания является Кавказ.

Сбор плодов черники следует проводить поздним летом или в начале осени вплоть до первых заморозков (т.е. с конца августа до середины октября). После похолодания плоды легче собрать, чтобы они не дали сок.

Плоды собирают вручную, с остатками плодоножки. Поврежденные или размягченные ягоды вскрывают и семена высыпают в землю. Сбор плодов проводят в широкие емкости для снижения уменьшения весовой нагрузки слоя ягод и предотвращения сокотечения. С целью сохранения ее зарослей необходимо чередовать участки сбора, используя один и тот же массив не чаще 1 раза в 5 лет.

Плоды необходимо доставить к месту сушки или получения сока в течение 24 часов. Перед сушкой из плодов черники кавказской удаляют остатки листьев и плодоножек, непригодные для использования поврежденные плоды и различные примеси. Плоды раскладывают тонким слоем на поддоны для воздушно-теневого сушки в темном сухом проветриваемом месте. Возможна конвективная сушка при 40 ± 2 °С для консервации суммы антоцианов. Готовность высушенного сырья проверяют по остаточной влаге согласно ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Сырье просеивают на ситах с отверстиями диаметром 3 мм; для отделения пыли, песка, измельченных частей, кроме того, с сита удаляют оставшиеся листья, плодоножки, части стеблей. Если после такой подработки сырья оно не соответствует требованиям нормативного документа, его просеивают вторично.

Готовое сырье представляет собой ягоды диаметром 5–10 мм, бесформенные, сильно сморщенные, слегка вытянутые, в размоченном виде вытянуто шаровидные. На верхней части плодов находится остаток чашечки в виде хорошо 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. У основания плода может встречаться короткая плодоножка.

Цвет плодов с поверхности – черный или черный с красноватым оттенком, блестящий; мякоти – красный или красновато – бурый; семян – розовато-красный.

В плодах черники кавказской содержатся антоцианы, флавоноиды, фенолокислоты, полисахариды, жирные и органические кислоты.

Плоды черники кавказской используют в виде настоя или отвара как вяжущее, гипотензивное, гипогликемическое, антиатеросклеротическое средство.



Рисунок 1 – Внешний вид черники кавказской



Рисунок 2 – Внешний вид цельных плодов черники кавказской

Согласно требованиям фармакопейной статьи внешние признаки сырья, следующие:

Цельное сырье. плоды – ягоды диаметром 5–10 мм, бесформенные, сильно сморщенные, слегка вытянутые, в размоченном виде вытянуто шаровидные. На верхней части плодов находится остаток чашечки в виде хорошо 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. У основания плода может встречаться короткая плодоножка.

Цвет плодов с поверхности – черный или черный с красноватым оттенком, блестящий; мякоти – красный или красновато – бурый; семян – розовато-красный. Запах слабый. Вкус водного извлечения кисловато-вяжущий (рисунок 2).

Согласно требований фармакопейной статьи черники кавказской плоды подвергаются испытаниям по следующим показателям:

Влажность. *Цельное сырье* – не более 13%.

Зола общая. *Цельное сырье* – не более 3%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* – не более 1%.

Посторонние примеси

Других частей растений (листья, кусочки стеблей). *Цельное сырье* – не более 0,25%.

Плоды недозревшие, твердые или пригоревшие. *Цельное сырье* – не более 1%.

Органическая примесь. *Цельное сырье* – не более 2%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье* – не более 0,3 %.

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: содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид – не менее 0,5%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70% – не менее 33%.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», черники кавказской плоды упаковывают в мешки тканевые по ГОСТ 30090-93 не более 40 кг, мешки бумажные многослойные по ГОСТ 2226-88 не более 25 кг или полиэтиленовые мешки не более 15 кг. Тара должна быть чистой, сухой и однородной для всей партии сырья.

В каждую транспортную упаковку должен быть вложен упаковочный лист с указанием наименования предприятия-отправителя, наименования лекарственного растительного сырья, номера партии, фамилии или номера упаковщика, даты упаковки.

Маркировка транспортной упаковки должна соответствовать с ГОСТ 14192-96.

На этикетке указывают наименование сырья на русском языке, массу нетто и брутто при максимальной влажности, наименование предприятия-изготовителя, его товарный знак, юридический адрес, регистрационный номер, номер серии, дату сбора, дату упаковки, срок годности, условия хранения, штрих-код.

Транспортируют черники кавказской плоды в соответствии с ГОСТ 6077-80 в сухих, чистых, не имеющих постороннего запаха, крытых транспортных средствах.

Хранят сырье в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», на стеллажах или подтоварниках в сухих, чистых, хорошо вентилируемых складских помещениях, не зараженных амбарными вредителями, защищенных от воздействия прямого солнечного света отдельно от других видов сырья как морфологическую группы «Плоды».

Срок годности. 2 года.

Нормативные ссылки

В настоящей Инструкции использованы ссылки на следующие стандарты и нормативные документы:

ГОСТ 2226-88. Мешки бумажные.

ГОСТ 30090-93. Мешки и мешочные ткани.

ГОСТ 14192-96. Маркировка грузов.

ОФС.1.1.0011.15 Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

ОФС.1.1.0019.15 Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

ОСТ 91500.05.001-00 "Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения".

ОФС.1.1.0005.15 Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

Разработчики

Аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии
фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института –
филиала ФГБОУ ВО «ВолГМУ МЗ РФ» (г. Пятигорск)

Х.А. Ибаева

Доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии
фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института –
филиала ФГБОУ ВО «ВолГМУ МЗ РФ» (г. Пятигорск),
доцент, кандидат фармацевтических наук

А. А. Шамилов

Подпись(и) _____
Шамилов А.А.
Заверяю: _____
Ибаева Х.А.
Заместитель начальника отдела правового и кадрового
обеспечения Пятигорского медико-фармацевтического
института - филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России



Приложение 2. Акты внедрения результатов исследовательской работы

«УТВЕРЖДАЮ»

Ио заведующего кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский госуниверситет»

д. фарм. н., доцент
Гринеева О.В.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ № 1506-27

г. Воронеж

20 января 2025 г.

Авторы внедрения: Ибаева Х.А. – аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ МЗ РФ» (г. Пятигорск); Шамилов А.А. – доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ МЗ РФ» (г. Пятигорск), доцент, кандидат фармацевтических наук.

Источник предложения: результаты диссертационного исследования Х.А. Ибаевой на тему «Фармакогностическое исследование плодов черники кавказской, произрастающей на Северном Кавказе».

Учреждение-разработчик: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; Россия, Ставропольский край, 357532, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11.

Название объекта внедрения: методика разделения суммы антоциановых соединений и идентификации цианидин-3-глюкозида в черники кавказской плодах методом тонкослойной хроматографии.

Наименование организации, где используются результаты исследования: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет».

Ответственный за внедрение: и.о. заведующего кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии фармацевтического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», доцент, доктор фармацевтических наук Гринеева О.В.

Дата начала отсчета внедрения: используется с 2025 года в учебном процессе кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии при реализации дисциплины «Фармакогнозия» у обучающихся по специальности 33.05.01 «Фармация» (ВО) для определения подлинности сырья по основной группе биологически активных веществ – антоцианам методом тонкослойной хроматографии.

Заключение об эффективности внедрения: данная методика позволяет определить цианидин-3-глюкозид, как основной компонент в сумме антоцианов, и подтвердить подлинность черники кавказской плодов методом тонкослойной хроматографии. Методика валидирована по показателям специфичность, робастность и воспроизводимость.

Д. фарм. н., доцент кафедры
фармацевтической химии и фармакогнозии
фармацевтического факультета ВГУ

Гудкова А. А.

К. фарм. н., доцент кафедры
фармацевтической химии и фармакогнозии
фармацевтического факультета ВГУ

Чистякова А.С.



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной деятельности
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный
университет имени Коста Левановича Хетагурова»

Т.Ш. Тиникашвили

" _____ 2025 г.

АКТ

**о внедрении (использовании) результатов
научной и инновационной деятельности**

Авторы внедрения: Ибаева Х.А. - аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ МЗ РФ» (г. Пятигорск); Шамилов А.А. - доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ МЗ РФ» (г. Пятигорск), доцент, кандидат фармацевтических наук.

Источник предложения: результаты и публикации научно-исследовательской работы, выполненной в рамках диссертационного исследования Х.А. Ибаевой на тему «Фармакогностическое исследование плодов черники кавказской, произрастающей на Северном Кавказе».

Учреждение-разработчик: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; Россия, Ставропольский край, 357532, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11.

Название объекта внедрения: методика количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в черники кавказской плодах методом спектрофотометрии.

Наименование организации, где используются результаты исследования: ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова».

Дата начала отчета внедрения: используется с 2025 года в работе кафедры фармации ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова» при определении суммарного содержания антоцианов в лекарственном растительном сырье.

Заключение об эффективности внедрения: данная методика позволяет определить суммарное содержание антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в черники кавказской плодах методом спектрофотометрии при экстракции спиртом этиловым 70%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, при длине волны 530 ± 2 нм.

Методика валидирована по показателям специфичность, линейность, прецизионность на двух уровнях и правильность.

Ответственный за внедрение: заведующий кафедрой фармации ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова», доцент, кандидат фармацевтических наук, Морозов В.А.

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ
Минздрава России,
д.фарм.н. профессор


И.А. Наркевич
2025 г.




**Акт внедрения
результатов научно-практической работы
в научно-исследовательский процесс**

Комиссия в составе:

Председателя	проректора по научной работе, доктора фармацевтических наук, профессора	Е.В. Флисюк
и членов комиссии	и.о. директора департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, кандидата фармацевтических наук	К.О. Сидорова
	заведующего аспирантурой, кандидата технических наук	Н.Е. Шашкиной

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «06» февраля 2025 г. № 54, составила акт о нижеследующем:

Результаты диссертационной работы Ибаевой Хадиджат Альвиевны на тему «Фармакогностическое исследование плодов черники кавказской, произрастающей на Северном Кавказе» представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (Фармацевтические науки), а именно: «Стандартизация лекарственно растительного сырья, в том числе определение подлинности черники кавказской и субстанций на ее основе», использованы в научно-исследовательской деятельности кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках «Изучения лекарственного растительного сырья, содержащего преимущественно фенольные соединения».

Председатель	проректор по научной работе, доктор фармацевтических наук, профессор	 Е.В. Флисюк
члены комиссии	и.о. директора департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, кандидат фармацевтических наук	 К.О. Сидоров
	заведующий аспирантурой, кандидат технических наук	 Н.Е. Шашкина



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной деятельности
ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России,
доктор фармацевтических наук, доцент

Д.А. Бабков

2025 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы


Хадиджат Альвиевны Ибаевой «Фармакогностическое исследование плодов черники кавказской, произрастающей на Северном Кавказе» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии с курсом клинической фармакологии: зав. кафедрой, к. фармацевт. н., доцента Поздняков Д.И., к. фармацевт. н., Шабановой Н.Б, к. фармацевт. н., Саркисян К.Х, подтверждает использование материалов исследования Ибаевой Х.А., посвященного изучению химическому составу, разработке подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья черники кавказской (*Vaccinium arctostaphylos* L.) и оценке фармакологических свойств субстанций на ее основе в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют научному обоснованию целесообразности создания отечественных, конкурентных, импортозамещающих лекарственных препаратов, обладающих нейропротекторным и противодиабетическим действием.

Члены комиссии:


Заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, кандидат фармацевтических наук, доцент


 Д.И. Поздняков

Доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, кандидат фармацевтических наук


 Н.Б. Шабанова

Доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, кандидат фармацевтических наук


 К.Х. Саркисян



ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
- ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11
ОКПО 01962942 ИНН/КПП 3444048472/263243001 тел. (8793) 32-44-74, 32-92-66, факс 32-92-67

« 30 » 04 2025 г. № 01/742
на № _____ от _____

И.о. генерального директора
ФГБУ «НЦЭСМП»
МИНЗДРАВА РОССИИ
Кандидату фармацевтических наук
Косенко Валентине Владимировне

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации направляет для рассмотрения проект фармакопейной статьи (ФС) «Черники кавказской плоды» и пояснительную записку к ФС, разработанный сотрудниками кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов в результате выполнения диссертационной работы.

При этом дирекция Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России выражает Вам глубокую благодарность за плодотворное сотрудничество.

Приложение: 1. Проект ФС «Черники кавказской плоды» - 2 экз.
2. Пояснительная записка к ФС - 2 экз.

Директор Пятигорского
медико-фармацевтического
института – филиала ФГБОУ
ВО ВолгГМУ Минздрава России,
к.м.н., д-р психол. наук,
профессор



Вх. № _____
О.А. Ахвердова

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

УТВЕРЖДАЮ

И.о. генерального директора федерального
государственного бюджетного учреждения
«Научный центр экспертизы средств
медицинского применения» Министерства
здравоохранения Российской, кандидат
фармацевтических наук

В.В. КОСЕНКО

«__» _____ 20__ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

Организация-разработчик: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Черники кавказской
плоды

ФС.2.5.
Вводится впервые

Vaccinii arctostaphyli fructus

Срок введения установлен

с «__» _____ 20__ г.

до «__» _____ 20__ г.

Собранные в конце лета или в начале осени в фазу полного созревания высушенные плоды дикорастущих листопадных кустарников черники кавказской – *Vaccinium arctostaphylos* L. сем. вересковые – *Ericaceae*.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Плоды – ягоды диаметром 5–10 мм, бесформенные, сильно сморщенные, слегка вытянутые, в размоченном виде вытянуто шаровидные. На верхней части плодов находится остаток чашечки в виде хорошо 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. У основания плода может встречаться короткая плодоножка.

Цвет плодов с поверхности – черный или черный с красноватым оттенком, блестящий; мякоти – красный или красновато – бурый; семян – розовато-красный. Запах слабый. Вкус водного извлечения кисловато-вяжущий

Микроскопические признаки. *Цельное, измельченное сырье.* Плод покрыт тонким слоем кутикулы. Клетки эпидермиса плодов попарно сближены, клеточные стенки, разграничивающие пары, имеют более плотные, толстые стенки (окончатый тип). Клетки эпидермиса диска более мелкие.

Клетки паренхимы мезокарпия рыхло расположены, зачастую окрашены антоциановыми соединениями. Проводящие пучки отчетливо заметны и представлены сосудами со спиральным и кольчатым типами утолщения. Друзы оксалата кальция многочисленные, более мелкие располагаются вдоль проводящих пучков тяжами, а также в большом количестве и крупнее по размеру встречаются в паренхиме. Каменистые клетки представлены склереидами и брахисклереидами, наблюдаются преимущественно в перикарпии. Брахисклереиды рассеяны в паренхиме, а склереиды составляют участки плотной ткани.

Семена покрыты семенной кожурой, клетки эпидермиса которой четко выражены, вытянутые, с толстыми, склерефицированными стенками, иногда окрашенные антоциановыми соединениями. Наружная стенка эпидермальных клеток предположительно ослизняется. Зародыш располагается в эндосперме, имеющем зернистую структуру.

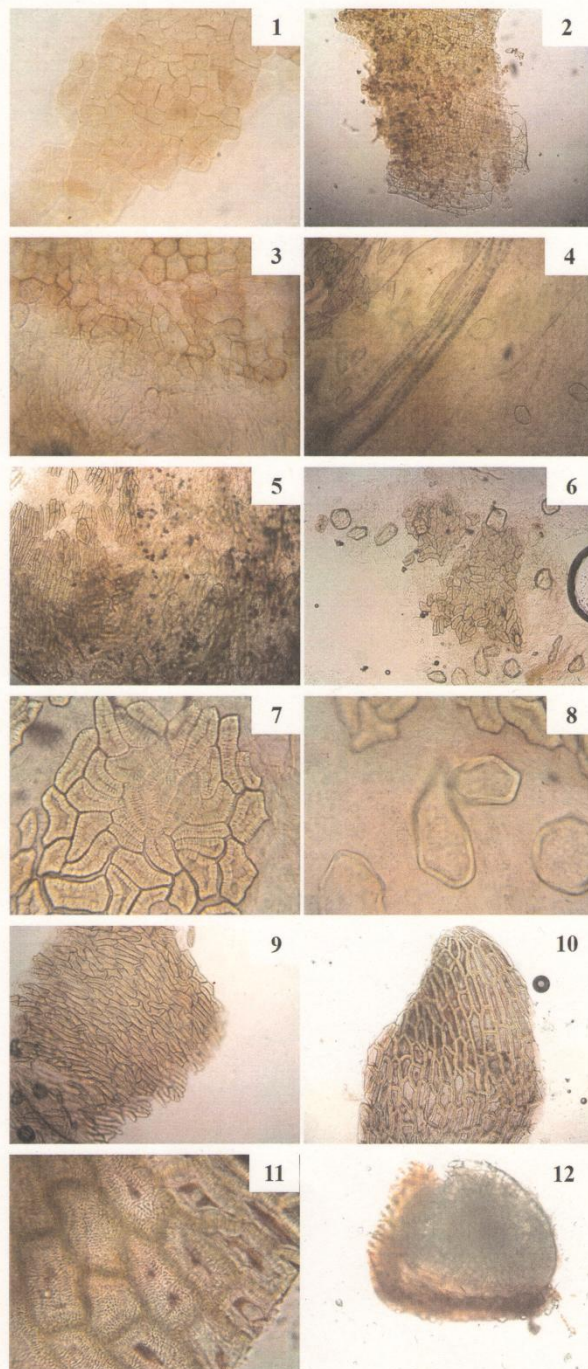


Рисунок 1 – Черники кавказской плоды: 1-2 – эпидермис плода (ув. x100); 3 – мезокарпий плода (ув. x400); 4 – фрагмент перикарпия с проводящими пучками с тяжами друз

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 – склерефицированные клетки семенной кожуры (ув. x100); 11 – склерефицированные клетки семенной кожуры (ув. x400); 12 – поперечный срез семени с эндоспермом (ув. x100)

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Приготовление раствора СО цианидин-3-глюкозида: около 0,01 г СО цианидин-3-глюкозида помещают в мерную колбу объемом 100 мл, добавляют 80 мл спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до полного растворения вещества, доводят до метки тем растворителем и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

На линию старта хроматографической пластинки марки «Sorbfil» с полимерной ПТСХ-П-В-УФ или алюминиевой ПТСХ-АФ-А-УФ подложками наносят 10 мкл (0,01 мл) полученного извлечения из плодов черники кавказской (см. раздел «Количественное определение»), рядом наносят 10 мкл (0,01 мл) раствора стандартного образца цианидин-3-глюкозида. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с системой растворителей: муравьиная кислота безводная-вода-бутанол (16:19:65) и хроматографируют восходящим способом (смесь растворителей готовят и помещают в камеру за 30 минут до хроматографирования).

Когда фронт растворителя пройдет около 90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления растворителя на воздухе. Зоны адсорбции просматривают в видимом свете.

На хроматограмме испытуемого извлечения должны обнаруживаться зона адсорбции голубого цвета на уровне зоны адсорбции СО цианидин-3-глюкозида ($R_f=0,69$) и 3-4 зоны адсорбции розовой или сине-фиолетовой окраски в видимом свете выше или ниже зоны адсорбции цианидин-3-глюкозида.

Испытания

Влажность. Цельное сырье – не более 13%.

Зола общая. Цельное сырье – не более 3%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Цельное сырье – не более 1%.

Посторонние примеси

Других частей растений (листья, кусочки стеблей). *Цельное сырье* - не более 0,25%.

Плоды незрелые, твердые или пригоревшие. *Цельное сырье* - не более 1%.

Органическая примесь. *Цельное сырье* – не более 2%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье* – не более 0,3 %.

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:* содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид – не менее 0,5%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70% – не менее 30%. Экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70% – не менее 33%.

Приготовление растворов.

Раствор СО цианидин-3-глюкозида. Около 0,01 г (точная навеска) СО цианидин-3-глюкозида помещают в мерную колбу объемом 100 мл, добавляют 80 мл спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают до полного растворения вещества, доводят до метки тем же растворителем и перемешивают (раствор А СО цианидин-3-глюкозида). Срок годности раствора 3 месяца в прохладном месте.

Далее 3 мл раствора А СО цианидин-3-глюкозида помещают в мерную колбу объемом 25 мл, в каждой доводят раствор до метки спиртом этиловым 70%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивали (раствор Б СО цианидин-3-глюкозида).

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) помещают в коническую

колбу со шлифом объемом 250 мл, добавляют 50 мл спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, закрывают пробкой и взвешивают с точностью $\pm 0,01$ г, помещают на водяную баню с обратным холодильником. Экстракцию проводят на кипящей водяной бане в течение 60 минут. Далее колбу снимают, закрывают той же пробкой, охлаждают, взвешивают. При недостатке экстрагента добавляют его до исходной массы. Затем фильтруют через бумажный фильтр. Отбирают 1 мл фильтрата, вносят в мерную колбу объемом 25 мл, доводят до метки спиртом этиловым 70%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, перемешивают. Измеряют спектр полученного раствора при 530 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служит спирт этиловый 70%, содержащий 1% хлористоводородной кислоты концентрированной.

Параллельно измеряют спектр раствора Б СО цианидин-3-глюкозида при 530 ± 2 нм относительно раствора сравнения - спирта этилового 70%, содержащего 1% хлористоводородной кислоты концентрированной

Содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид проводят по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 3 \cdot a_{CO} \cdot 100 \cdot 100}{A_{CO} \cdot a_x \cdot 1 \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)} \quad (1),$$

где A_x – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_{CO} – оптическая плотность раствора СО цианидин-3-глюкозида;

a_x – навеска сырья, г;

a_{CO} – навеска СО цианидин-3-глюкозида;

W – влажность сырья, %.

Допускается проводить расчет суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-глюкозид в абсолютно сухом сырье с использованием удельного показателя поглощения цианидин-3-глюкозида:

$$X = \frac{A_x \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot 1 \cdot a_x \cdot (100 - W)} \quad (2),$$

где A_x – оптическая плотность испытуемого раствора В;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения цианидин-3-глюкозида при длине волны 530 нм, равный 527,93;

a_x – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

ФС _____ с. 7

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратов» (метод 1).

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».

Срок годности. 2 года.

Доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, доцент

А.А. Шапилов

« 12 » февраля 2025 г.

Аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

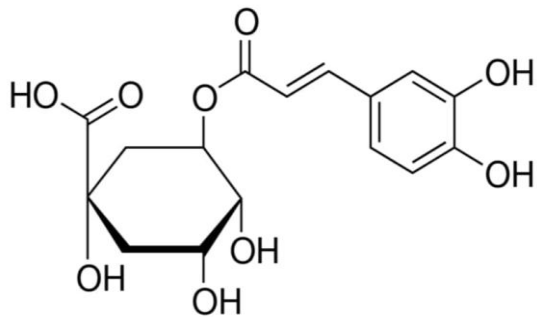
Х.А. Ибаева

« 13 » февраля 2025 г.

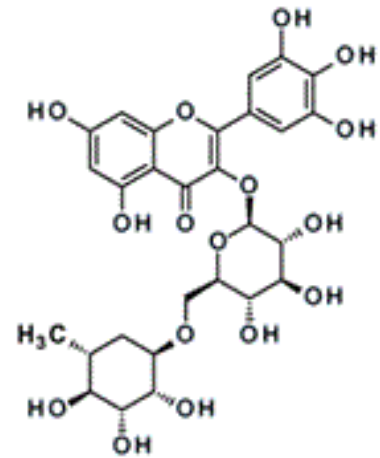
Подпись(и) _____
 Заверяю: _____
 Заместитель начальника отдела правового и кадрового обеспечения Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России



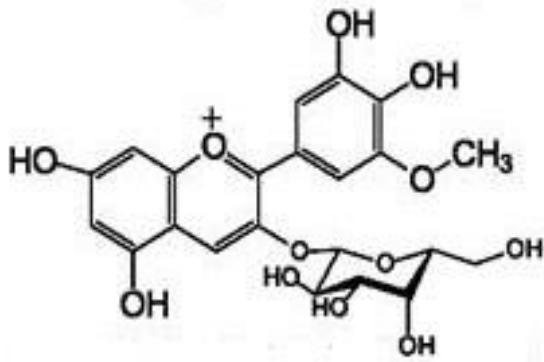
Приложение 3. Основные структурные формулы черники кавказской и черники обыкновенной



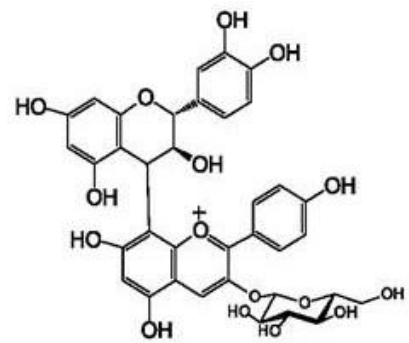
Хлорогеновая кислота



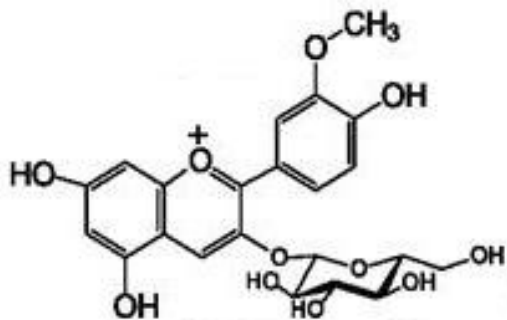
Мирицетин-3-О-рутинозид



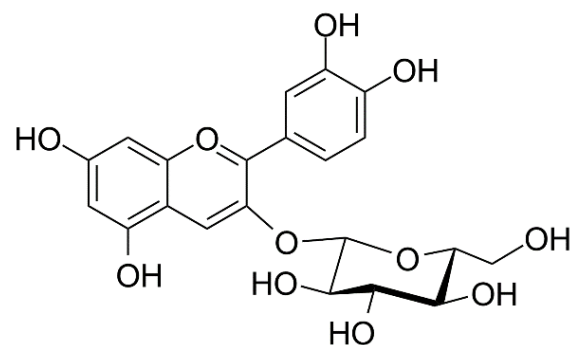
Петунидин-3-галактозид



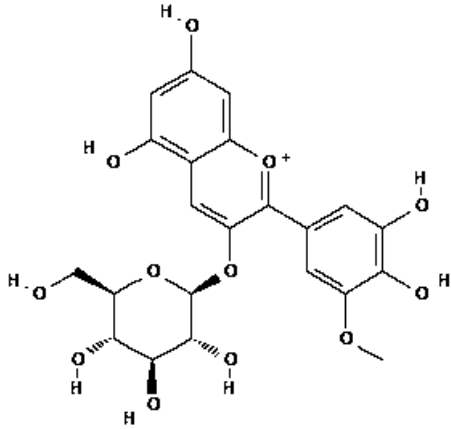
Мальвидин-3-глюкозид



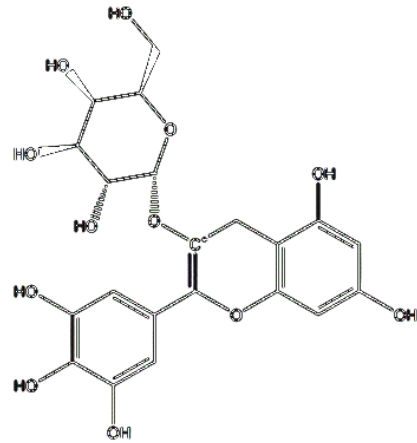
Пеонидин-3-глюкозид



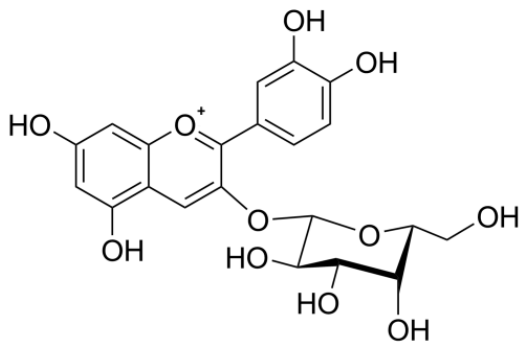
Цианидин-3-глюкозид



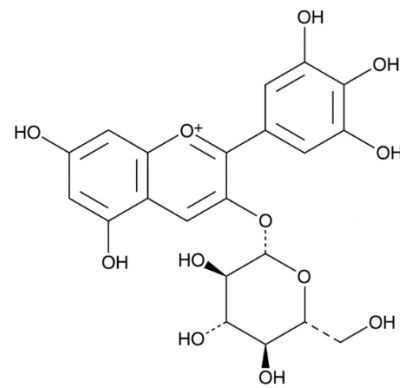
Петунидин-3-глюкозид



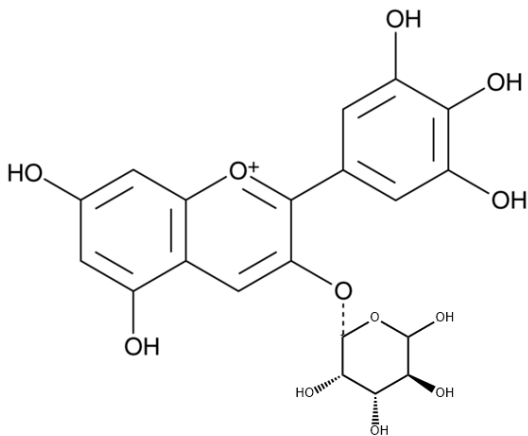
Дельфинидин-3-галактозид



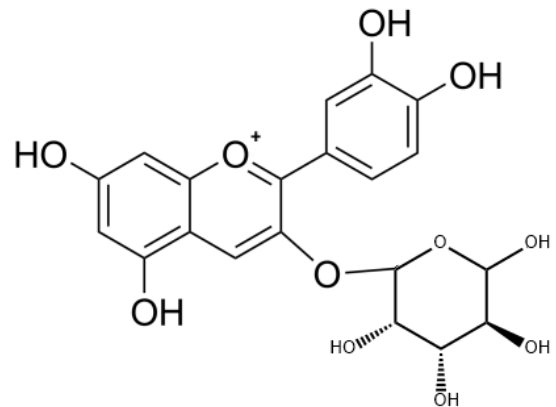
Цианидин-3-галактозид



Дельфинидин-3-глюкозид



Дельфинидин-3-арабинозид



Цианидин-3-арабинозид