

На правах рукописи



**Ермаков Алексей Романович**

**Сравнительное изучение и усовершенствование методов анализа плодов и побегов можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

доктор фармацевтических наук, профессор

**Нестерова Ольга Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Марахова Анна Игоревна** – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», институт фармации и биотехнологии, кафедра фармации и биотехнологии, профессор кафедры

**Печинский Станислав Витальевич** – доктор фармацевтических наук, доцент, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, доцент кафедры

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «3» июня 2026 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, ул. Зубовский бульвар, д. 37/1, и на сайте организации: <http://sechenov.ru/>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.002.02

доктор фармацевтических наук, профессор

**Демина Наталья Борисовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Важным направлением научных исследований является поиск лекарственного растительного сырья (ЛРС), обладающего противовоспалительными, антиоксидантными, антибактериальными и мочегонными свойствами, с целью разработки средств для лечения и профилактики воспалительных заболеваний цистита, уретрита, а также хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Заболевания мочевыводящей системы, по данным ВОЗ занимают 7-е место, а ХОБЛ – 8-е место среди заболеваний населения в экономически развитых странах. В настоящее время существуют лекарственные средства с различным механизмом действия для профилактики и лечения воспалительных заболеваний, однако развитие аллергических реакций и индивидуальной непереносимости ограничивает применение ряда антибактериальных препаратов, особенно у детей и пожилых пациентов.

Перспективным источником лекарственного растительного сырья с противовоспалительными и антибактериальными свойствами является можжевельник обыкновенный (*Juniperus communis* L.) (Purnima Rawat, 2025).

Проведённые исследования, согласно литературным данным, показывают, что экстракты на основе можжевельника обыкновенного обладают антибактериальным действием на грамположительные бактерии (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*) и грамотрицательные микроорганизмы (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Учитывая, что растительные антибактериальные средства не вызывают привыкания, исследование экстрактов можжевельника обыкновенного с целью разработки профилактических и лечебных препаратов является актуальным и перспективным.

### Степень разработанности темы исследования

Исследование научных источников выявило растущий интерес ученых к детальному анализу лекарственного растительного сырья, в частности, плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного, как богатых источников эфирного масла и флавоноидов, способных бороться с оксидативным стрессом. Представляет интерес оценка антиоксидантной активности, количественный анализ содержания эфирного масла, гидроксикислот и флавоноидов, а также возможны изменения уровня фенольных соединений под воздействием различных факторов.

С помощью хроматографических методов в плодах, хвое и побегах можжевельника обыкновенного ранее было обнаружено наличие фенольных соединений: гидроксикоричных

кислот, флаванолов, флаванолов, а также дубильных веществ. В работе В.В. Чемпосова с соавт. (2020) продемонстрировано, что водные и спиртовые извлечения из хвои *J. communis* содержат фенолпропаноиды и флавоноиды, как в форме гликозидов, так и агликонов, а доминирующими компонентами являются эллаговая кислота, катехин и рутин

В настоящее время официальным сырьем является можжевельника обыкновенного плоды (ФС 2.5.0028.15), однако опыт народной медицины ряда стран показывает, что хвоя и побеги можжевельника обыкновенного, обладают фармакологическими свойствами (Sytykiewicz H, 2025).

### **Цель и задачи исследования**

**Целью исследования** является фармакогностическое изучение и научное обоснование характеристик подлинности и показателей качества нового растительного сырья – хвои можжевельника обыкновенного и побегов можжевельника обыкновенного, а также измельченных плодов можжевельника обыкновенного и определение показателей качества их водных и водно-спиртовых извлечений.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Проанализировать отечественную и зарубежную научную литературу, характеризующую современное состояние проблемы исследований состава, фармакологического действия и особенностей стандартизации плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного и перспектив создания на их основе лекарственных препаратов.

2. Провести анализ анатомо-морфологического строения нового растительного сырья – плодов и побегов, заготавливаемого от растения можжевельник обыкновенный (*Juniperus communis* L.) (цельного и измельченного), установить основные диагностические признаки, позволяющие осуществлять идентификацию и разработать критерии подлинности данного сырья.

3. Изучить качественный состав и количественное содержание БАВ (флавоноидов, органических кислот, дубильных веществ, полисахаридов) в сырье и провести их сравнительную оценку. Разработать показатели качества, характеризующие содержание БАВ, а также методы и нормы их определения.

4. Разработать показатели качества для побегов можжевельника обыкновенного для включения в НД.

5. Определить показатели качества водных и водно-спиртовых извлечений.

6. Изучить антимикробное действие исследуемого сырья и получаемых на его основе водных и водно-спиртовых извлечений побегов можжевельника обыкновенного.

### **Научная новизна**

Впервые обобщены, систематизированы, а также проведен сопоставительный анализ морфолого-анатомических признаков побегов и хвои можжевельника обыкновенного, дополнено описание признаков плодов. Описаны признаки цельного, измельченного сырья и порошка плодов и побегов, впервые описаны гистохимические реакции.

Определен качественный и количественный состав флавоноидов и их гликозидов, органических и гидроксикоричных кислот, дубильных веществ и эфирного масла в образцах плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного, произрастающего в Московской и Тверской областях. Усовершенствована методика количественного определения флавоноидов с применением спектрофотометрии (СФМ) и разработана методика количественного определения гидроксикоричных кислот методом СФМ.

Установлено содержание дубильных веществ, полисахаридов, минеральных веществ во всех трех видах сырья. Расширены данные о числовых показателях сырья плодов можжевельника обыкновенного по сравнению с действующей ФС.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Изучены микроскопические признаки побегов, хвои и плодов можжевельника обыкновенного, обоснованы значимые анатомо-диагностические признаки сырья, рекомендованные для включения в проект ФС.

Впервые проведена оценка содержания хлорофиллов и каротиноидов в исследуемом сырье, определен компонентный состав веществ полифенольной природы. Впервые определен компонентный состав эфирного масла можжевельника обыкновенного для растений, произрастающих в центральном регионе Российской Федерации (Московской и Тверской областях). Методики, предложенные для идентификации и количественной оценки флавоноидов в исходном сырье, использовались в дальнейшем при анализе показателей качества водных и водно-спиртовых извлечений из плодов и побегов можжевельника обыкновенного. На основании проведенных исследований разработан проект ФС «Можжевельника обыкновенного плоды».

Предложены методики качественного и количественного определения пигментного комплекса плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Результаты сопоставительного морфолого-анатомического изучения цельного и измельченного сырья плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного.

2. Результаты сравнительного исследования состава БАВ свежих плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного.

3. Результаты по изучению состава БАВ водных- и водно-спиртовых извлечений из высушенных плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного.

4. Результаты разработки показателей качества плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного их норм и методов определения.

5. Результаты экспериментальных исследований по определению антимикробной активности исследуемого плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного и водных- и водно-спиртовых извлечений на их основе.

### **Методология и методы исследования**

Методология исследования основана на проведении информационно-аналитического поиска данных научной литературы, охватывающих фармакогностическое и фармакологическое изучение плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.), актуальности темы, выявлении методов фармакогностического анализа, результаты которого могут быть положены в основу разрабатываемой нормативной документации на новые виды сырья – хвоя (*Folia Juniperi*) можжевельника обыкновенного и побегов (*Cormi Juniperi*) можжевельника обыкновенного.

В работе использовали комплекс методов, среди которых ТСХ, ГХ-МС, ВЭЖХ, спектрофотометрия, гравиметрический и титриметрический анализ, биологические (макро- и микроскопический анализ, оценка антимикробной активности). Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с требованиями ГФ XV издания (ОФС.1.1.0013) и фармакопея Евразийского экономического союза (2.3.13.0.) с применением программного обеспечения «Statistica 8,0»; «Microsoft Excel 2016».

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов и выводов основана на анализе большого объема отечественных и зарубежных литературных источников о фармакогностическом исследовании трёх видов сырья можжевельника обыкновенного (плоды, хвоя и побеги), на применении высокоприцезионных методов анализа: ВЭЖХ-МС для анализа органических кислот трех видов сырья можжевельника обыкновенного, ГХ-МС с термодесорбцией для анализа летучих органических соединений в спиртовых экстрактах хвои и плодов можжевельника

обыкновенного, определение макро- и микроэлементов в плодах можжевельника обыкновенного методом рентгенофлуоресцентный анализа, на использовании методов статистической обработки данных при многократном повторении эксперимента, выполненного на сертифицированном оборудовании.

Материалы исследования были доложены автором на IV Международной научно-практической конференции молодых ученых «Фармация. Вызов времени», 2024; The 5<sup>th</sup> China-Russia International Symposium for Young Scholars in 2024; XXV Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке», 2024.

Апробация результатов исследования состоялась на научной межкафедральной конференции кафедр химии, фармацевтического естествознания Института Фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (2 февраля 2026 протокол № 6).

### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит основополагающая роль в выборе темы диссертационного исследования, формировании цели и необходимых для ее достижения задач, разработке дизайна исследования, заготовки плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного; проведении всего комплекса экспериментальных анализов, включающих определение флавоноидов, органических кислот, гидроксикоричных кислот, каротиноидов, хлорофиллов, эфирного масла, полисахаридного комплекса; интерпретации и критическом осмыслении и обобщении полученных данных. На всех этапах выполнения диссертационного исследования, вклад автора является основным.

### **Внедрение результатов в практику**

Результаты проведенного исследования использованы в учебном процессе кафедры фармацевтического естествознания, кафедры химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (акты внедрения от 01.09.25), подготовлены проекты ФС на новый вид сырья – побеги можжевельника обыкновенного, а также подготовлены изменения к действующей ФС «Можжевельника обыкновенного плоды *Juniperi communis fructus*» ФС.2.5.0028.15 в разделе «Микроскопия». Предложенная автором методика идентификации и количественного определения суммарного содержания хлорофиллов в хвое можжевельника обыкновенного внедрена для интенсификации процесса контроля качества лекарственных средств и БАД,

содержащих извлечения из можжевельника обыкновенного ООО «АЗТ ФАРМРЕСУРС» (акт внедрения 14.10.25).

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты выполненного автором исследования полностью соответствуют направлению научных изысканий специальности, в том числе пунктам 2 и 3 указанного паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки**

Выполнение диссертационного исследования проводили в рамках плана и в соответствии с тематикой научно-исследовательской работы на кафедре химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по теме: «Разработка подходов к анализу, стандартизации, оценке качества и сертификации биологически активных соединений синтетического и природного происхождения, лекарственных препаратов, медицинских изделий (технологические и экологические аспекты)» (№ государственной регистрации 01.200.118796).

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 3 статьи опубликованы в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России; 1 – в журнале, входящем в международную базу данных Scopus; 2 – тезисы конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационное исследование изложено на 172 страницах машинописного текста, содержит 33 таблицы и 49 рисунков, состоит из введения, обзора научной литературы, 5 глав собственных исследований, заключения, списка литературы, включающего 146 источников, в том числе 49 иностранных, а также двух приложений.

План проведения исследований диссертационной работы представлен на Рисунке 1.



Рисунок 1 – План проведения исследований диссертационной работы

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали побеги, хвою и плоды можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.). Сбор сырья проводили в 2022-2023 гг., в естественных условиях произрастания Центрального региона РФ. Также использовалось сырье хвои можжевельника обыкновенного, приобретенное в сети магазинов «Русские корни». Сушка сырья осуществлялась воздушно-теньевым способом при постоянном перемешивании. Хранение проводили в бумажных мешках в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0011 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XV.

В процессе исследования использовались извлечения из плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного приготовленные по ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары» ГФ РФ XV издания.

Изучение микропрепаратов проводили с помощью микроскопов (увеличение x40, x200, x400) Olympus CH30, Olympus Optical Co., LTD., Japan. Результаты фиксировали в виде фотографий.

Идентификация и количественный анализ доминирующих групп БАВ проводили с использованием коммерчески доступных в РФ индивидуальных веществ-стандартов.

Для идентификации БАВ в анализируемых образцах плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного использовались качественные реакции, бумажная и тонкослойная хроматография на пластинках «Kromafil» Merck (размером 20x10 см, с размером частиц 5-17 мкм), ВЭЖХ на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «GILSON», хромато-масс-спектрокопия. Количественное определение групп БАВ в сырье осуществляли, используя как рутинные (гравиметрия, титриметрический анализ), так и физико-химические методы (УФ-спектрофотометрия на приборе SPECORD 250 Analytik Jena AG (Germany) в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн 240-500 нм). Изучение антимикробной активности проводили в отношении штаммов патогенных и условно-патогенов микроорганизмов методом диффузии в агар на плотной питательной среде. Статистическую обработку аналитических данных проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XV, ГОСТ Р ИСО 5725-1-02, ГОСТ Р ИСО 5725-3-2002, ОФС 42-01113-09 «Валидация аналитических методик» с применением программного обеспечения «Statistica 8.0» «Microsoft Excel 2016». Результаты считали достоверными при вероятности 95% ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### **Макроскопический и микроскопический анализ измельченных плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного *Juniperus communis* L.**

Нами было проведено изучение морфологических и анатомо-диагностических признаков цельных и измельченных плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного, включенных в разрабатываемую нормативную документацию (НД). В результате проведенных исследований для побегов можжевельника обыкновенного были установлены признаки, характеризующие внешний вид сырья – размер и форма листовой пластинки, характер края хвоинки и жилкования, характер излома и ветвление стеблей, особенности поверхности, цвет, запах, вкус. Описаны внешние признаки измельченного сырья и порошка. При анализе анатомо-диагностических признаков побегов можжевельника обыкновенного фармакопейных видов микропрепараты готовили в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных

растительных препаратов». Микроскопия побегов, хвои и плодов можжевельника обыкновенного представлена на Рисунке 2, 3, 4, 5, 6.

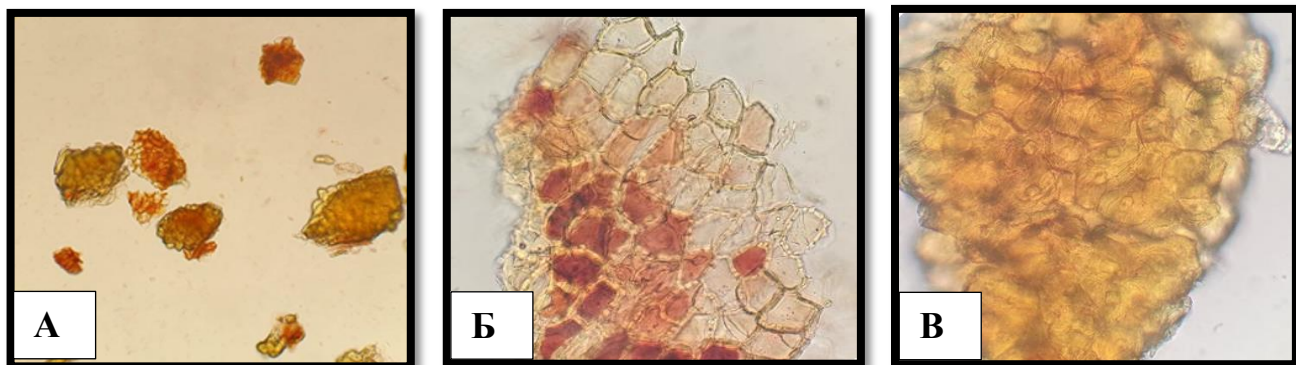


Рисунок 2 – Микроскопический анализ порошка и измельченных плодов можжевельника обыкновенного: А – группа каменных клеток плодов можжевельника обыкновенного, увеличение 40х, Б – Фрагмент эпидермиса. Увеличение 400х, В – Группа каменных клеток с кристаллами оксалата кальция. Увеличение 400х

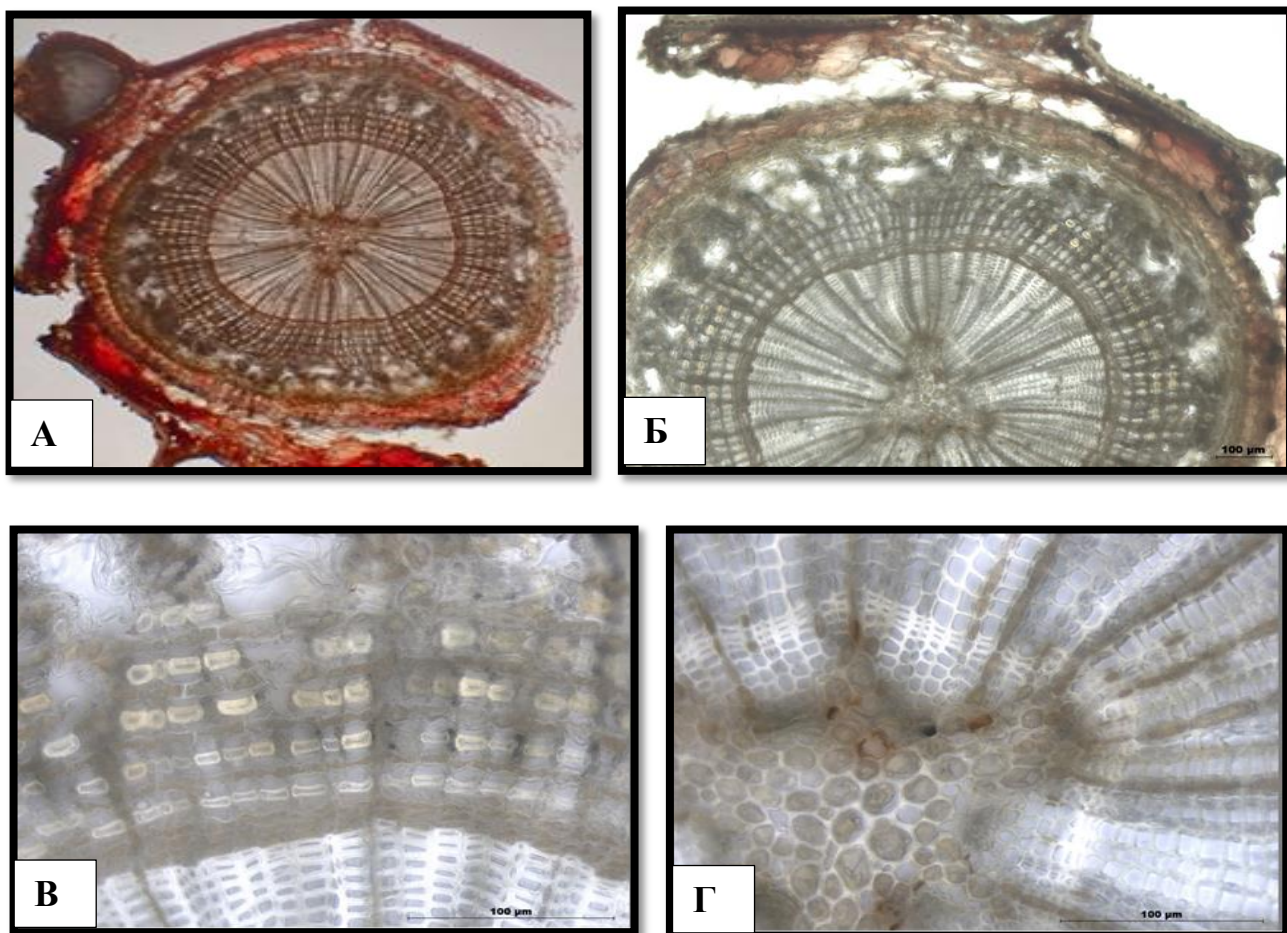


Рисунок 3 – Микроскопический анализ побегов (стебли) можжевельника обыкновенного А – отслаивающиеся эпидермис, гиподерма и камбий (увеличение 40х), Б – отслаивающиеся эпидермис, гиподерма, камбий и смоляной канал (увеличение 100х), В – линия камбия, механическое волокно коровой части (увеличение 400х), Г – древесина и сердцевина (увеличение 400х)



Рисунок 4 – Микроскопический анализ порошка побегов можжевельника обыкновенного: А – Фрагмент покровной ткани стебля (увеличение 40х), Б – Фрагменты эпидермиса хвои (увеличение 40х), В – Фрагмент покровной ткани стебля (увеличение 40х)

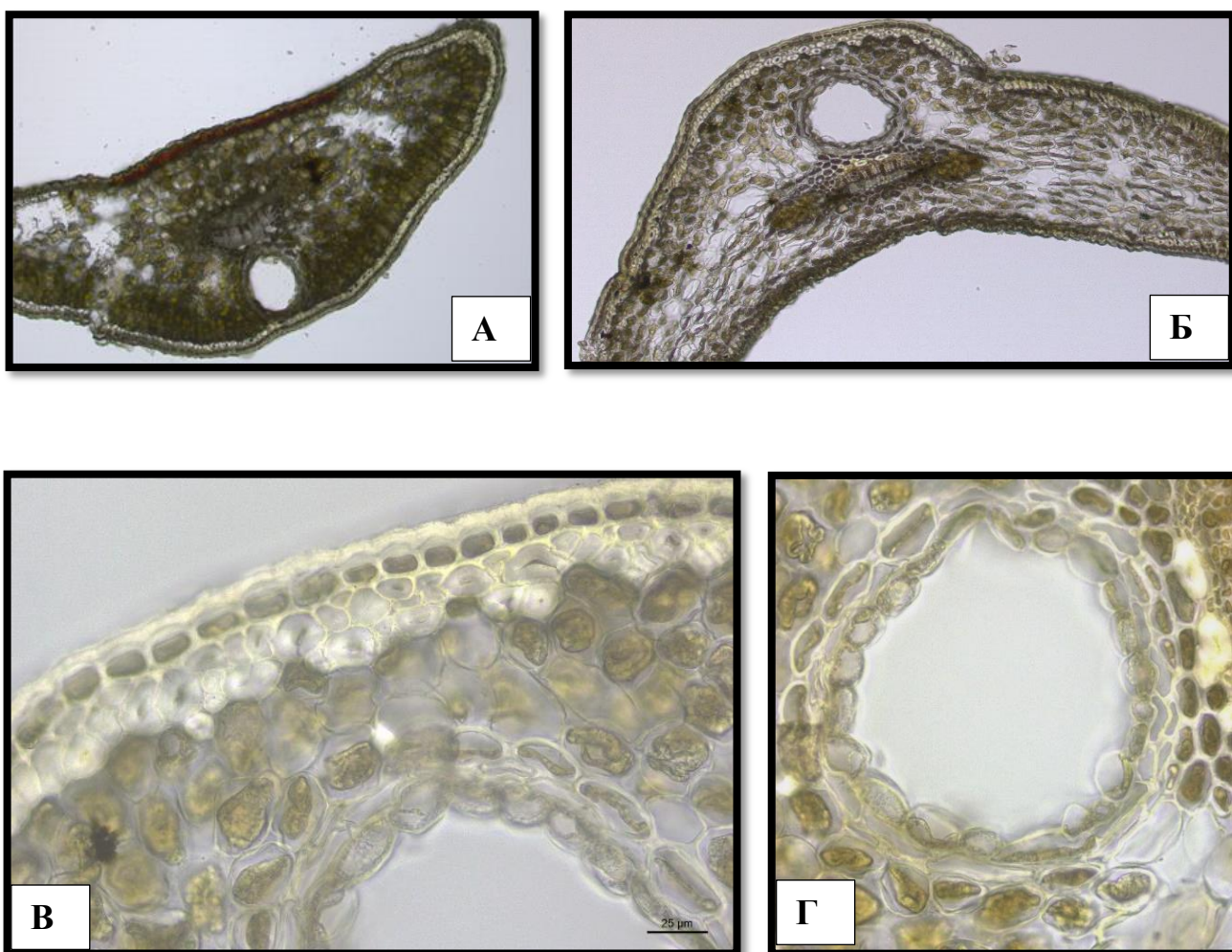


Рисунок 5 – Микроскопический анализ хвои можжевельника обыкновенного: А – Поперечный срез хвоинки, смоляной канал (увеличение 40х), Б – смоляной канал, гиподерма, проводящий пучок (увеличение 400х), В – эпидермис, гиподерма (увеличение 1000х), Г – поперечный срез хвоинки через смоляной канал (увеличение 1000х)

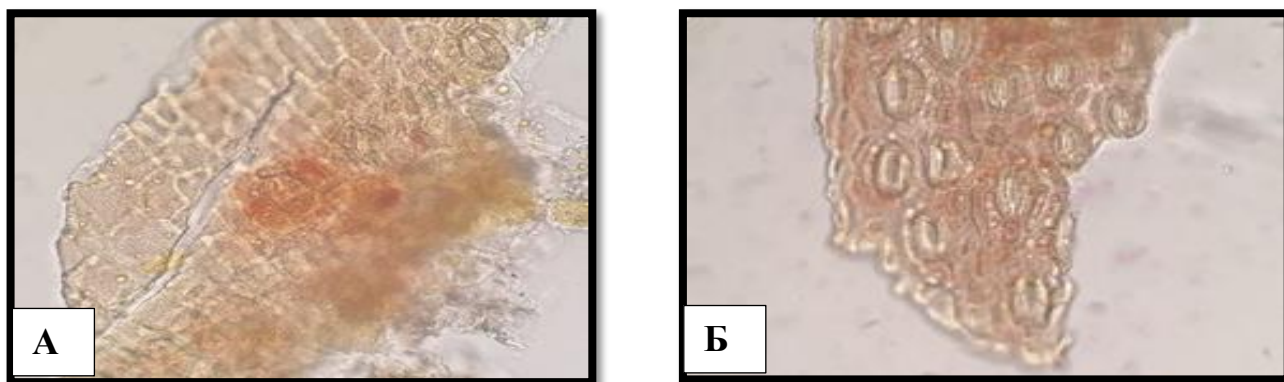


Рисунок 6 – Микроскопический анализ порошка хвои можжевельника обыкновенного: А – фрагмент эпидермиса, клетки мезофилла (увеличение 400х), Б – фрагмент эпидермиса с устьицами (увеличение 400х)

### Фитохимический анализ сырья *Juniperus communis* L.

Для исследований химического состава плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного были получены водные и водно-спиртовые извлечения, которые использовались для проведения качественных реакций с целью идентификации основных групп БАВ (флавоноидов, дубильных веществ, тритерпеновых сапонинов, полисахаридов, фенолкарбоновых кислот). Качественный анализ извлечений из сырья можжевельника обыкновенного, проводимый методом ТСХ в экспериментально отобранных системах растворителей позволил осуществить идентификацию указанных соединений. На предварительном этапе исследования изучаемого нами растительного сырья был проведен анализ содержания экстрактивных веществ (Рисунок 7) в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» с использованием указанных на рисунке экстрагентов. Учитывая полученные результаты, в дальнейших исследованиях использовались водно-спиртовые извлечения из сырья.

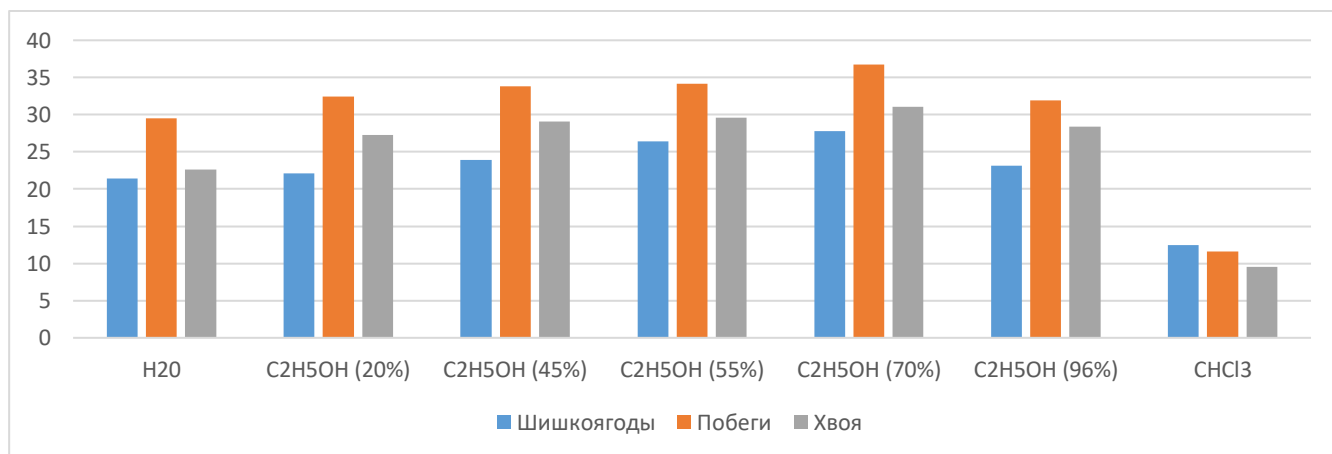


Рисунок 7 – Гистограмма выхода экстрактивных веществ из сырья можжевельника обыкновенного с использованием экстрагентов разной полярности

Хроматографический анализ этанольного извлечения из плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного, заготовленных в различные фазы вегетации, показал идентичность биологически активных веществ. Таким образом, в составе фракции фенолкарбоновых кислот плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного идентифицированы салициловая, п-гидроксibenзойная, протокатеховая, ванилиновая, галловая, сиреневая, кумаровая, кофейная, феруловая, синапиновая, вератриновая, хлорогеновая кислоты.

Максимальное извлечение экстрактивных веществ из сырья осуществляется из сырья побегов можжевельника обыкновенного. При этом обращает на себя внимание достаточно высокий выход (9,5 - 12,5%) гидрофобных веществ, извлекаемых из сырья органическим растворителем хлороформ (ГОСТ 20015-88 Хлороформ. Технические условия), что может быть связано как с наличием терпеноидной фракции, так и с содержанием пигментов, смол и других жирорастворимых веществ.

Определение качественного состава флавоноидов проводили методом ВЭЖХ в стандартных условиях, наиболее применимых для идентификации флавоноидного профиля при 363 нм. Путем сравнения времен удерживания со стандартными образцами во всех видах сырья идентифицированы рутин (время удерживания 7,9 мин), гиперозид (9,1), изокверцитин (9,9), кверцитин (21,9) Типичный хроматографический профиль представлен на Рисунке 8.

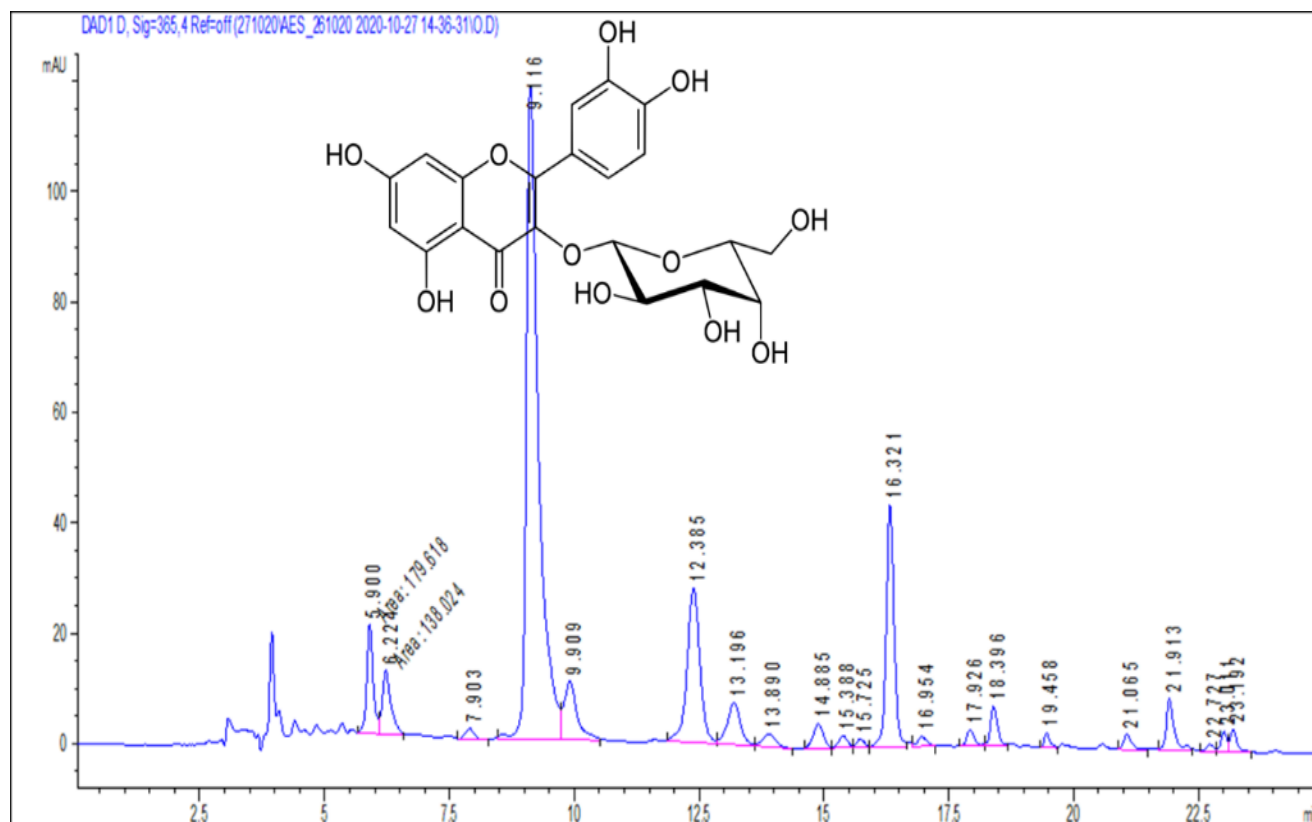


Рисунок 8 – ВЭЖХ-хроматограмма извлечения из побегов можжевельника обыкновенного (7,9 – рутин, 9,1 – гиперозид, 9,9 – изокверцитин, 21,9 – кверцитин)

Учитывая многочисленные литературные данные, подтверждающие непосредственную связь между содержанием в побегах можжевельника полифенольных веществ и фармакологической активностью, а также планируя включить метод количественной оценки суммарного содержания полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту в разрабатываемую нормативную документацию на побеги можжевельника обыкновенного, осуществили валидацию предлагаемой методики. Линейность методики проверяли на пяти отобранных экспериментальных точках (значениях концентрации). В соответствии с методикой получали водные извлечения из побегов можжевельника и развели 10, 11, 12, 13, 15 мл с водой очищенной для получения серии модельных растворов. Полученный коэффициент корреляции составил 0,9993, что отвечает критериям линейности (более 0,99) в анализируемом диапазоне концентраций и оптической плотности.

Экспериментальные данные полученные нами по валидационному показателю «Линейность» характеризуются наличием линейной зависимости между результатами, полученными по количественному содержанию полифенольных веществ в пересчете на галловую кислоту в побегах можжевельника обыкновенного и определяемыми значениями оптической плотности, что может быть рассмотрено как объективная возможность к применению методики для количественной оценки суммы полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту для оценки доброкачественности побегов можжевельника. Результат проверки линейности методики представлен на Рисунке 9.

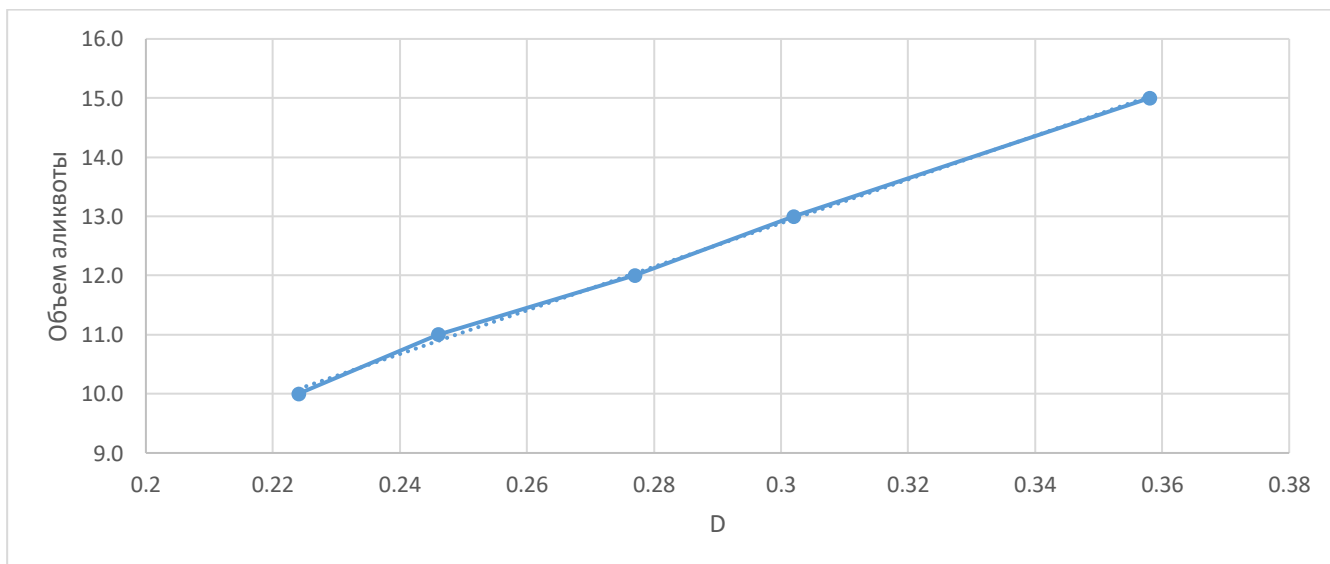


Рисунок 9 – Результат проверки линейности методики спектрофотометрического определения суммарного содержания полифенольных веществ в пересчете на кислоту галловую в побегах можжевельника обыкновенного

Воспроизводимость методики определяли по показателю прецизионности при выполнении анализов в одинаковых условиях. Проводился расчет показателя RSD (Таблица 1,2).

Таблица 1 – Воспроизводимость методики СФМ содержания полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксibenзойную кислоту

| Повторность | $\Sigma$ полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксibenзойную кислоту |          |          |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------|----------|
|             | № 1                                                                              | № 2      | № 3      |
| 1           | 1,447                                                                            | 1,395    | 1,441    |
| 2           | 1,449                                                                            | 1,391    | 1,438    |
| 3           | 1,451                                                                            | 1,387    | 1,443    |
| Хср         | 1,449                                                                            | 1,391    | 1,4407   |
| RSD, %      | 0,13803%                                                                         | 0,28756% | 0,17468% |

Таблица 2 – Результаты определения правильности методики определения полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксibenзойную кислоту

| Номер образца | Суммарное содержание полифенолов в пробе, г | Добавлена СО 3,4,5-тригидроксibenзойная кислота г | Ожидаемое содержание, г | Полученное содержание, г | Открываемость, % |
|---------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------|
| 1             | 0,0145                                      | 0,01                                              | 0,0245                  | 0,0229                   | 93,47            |
| 2             | 0,0145                                      | 0,02                                              | 0,0345                  | 0,0359                   | 104,06           |
| 3             | 0,0145                                      | 0,03                                              | 0,0445                  | 0,0467                   | 104,94           |
| 4             | 0,0141                                      | 0,01                                              | 0,0241                  | 0,0245                   | 101,66           |
| 5             | 0,0141                                      | 0,02                                              | 0,0341                  | 0,0338                   | 99,12            |
| 6             | 0,0141                                      | 0,03                                              | 0,0441                  | 0,0432                   | 97,96            |
| 7             | 0,0139                                      | 0,01                                              | 0,0239                  | 0,0246                   | 102,93           |
| 8             | 0,0139                                      | 0,02                                              | 0,0339                  | 0,0342                   | 100,88           |
| 9             | 0,0139                                      | 0,03                                              | 0,0439                  | 0,0431                   | 98,18            |

Методика может быть признана правильной поскольку значение  $RSD < 5$ .

Идентификацию компонентов терпеноидной фракции в сырье проводили методом газовой хроматографии с термодесорбцией и масс-спектрометрическим детектированием. Идентифицированные пики с индексами соответствия (Match Factors) более 900 представлены в Таблице 3. Для более надежной идентификации были рассчитаны экспериментальные индексы удерживания и сравнены с литературными (по библиотеке NIST 20L, SRD 69).

Получено хорошее совпадение индексов, что повышает надежность идентификации. Видно, что многие вещества присутствуют как в хвое, так и в плодах можжевельника. Присутствие на хроматограммах таких веществ как космен, пинокарвеол и 2-пинен-4-он может служить неким маркером наличия плодов можжевельника в БАД хвой.

Таблица 3 – Идентифицированные летучие органические соединения в сырье можжевельника обыкновенного

| №  | Время удерживания, мин | Вероятное* соединение      | Match Factor (усредненный) | плоды | побеги | Ri(lit) | Ri(exp) |
|----|------------------------|----------------------------|----------------------------|-------|--------|---------|---------|
| 1  | 9,55                   | $\alpha$ -Pinen            | 956                        | Есть  | Есть   | 936     | 938     |
| 2  | 10,36                  | Camphen                    | 914                        | Есть  | Есть   | 934     | 934     |
| 3  | 12,62                  | D-Limonen                  | 953                        | Есть  | Нет    | 1033    | 1034    |
| 4  | 12,76                  | p-Cymen                    | 931                        | Нет   | Есть   | 1034    | 1036    |
| 5  | 12,98                  | $\beta$ -cis-Ocimen        | 930                        | Есть  | Есть   | 1048    | 1049    |
| 6  | 13,32                  | $\gamma$ -Terpinen         | 964                        | Есть  | Есть   | 1062    | 1062    |
| 7  | 13,94                  | Terpinolen                 | 940                        | Есть  | Есть   | 1083    | 1085    |
| 8  | 14,11                  | p-Cymenen                  | 930                        | Есть  | Есть   | 1095    | 1091    |
| 9  | 14,45                  | Thujon                     | 928                        | Нет   | Есть   | 1101    | 1103    |
| 10 | 14,47                  | Cosmen                     | 933                        | Есть  | Нет    | 1134    | 1132    |
| 11 | 15,2                   | Pinocarveol                | 915                        | Есть  | Нет    | 1128    | 1129    |
| 12 | 15,34                  | Camphor                    | 940                        | Есть  | Нет    | 1137    | 1134    |
| 13 | 15,92                  | L-Borneol                  | 922                        | Есть  | Есть   | 1152    | 1153    |
| 14 | 16,42                  | 2-Pinen-4-on               | 944                        | Есть  | Нет    | 1170    | 1173    |
| 15 | 16,57                  | cis-Sabinol                | 901                        | Нет   | Есть   | 1170    | 1175    |
| 16 | 18,19                  | Bornyl acetate             | 951                        | Есть  | Нет    | 1285    | 1283    |
| 17 | 18,41                  | trans-Sabinyl acetate      | 933                        | Нет   | Есть   | 1297    | 1293    |
| 18 | 19,31                  | $\alpha$ -Terpinyl acetate | 905                        | Нет   | Есть   | 1350    | 1347    |
| 19 | 19,59                  | cis-Carvyl acetate         | 904                        | Нет   | Есть   | 1345    | 1351    |
| 20 | 19,932                 | Copaen                     | 929                        | Нет   | Есть   | 1378    | 1373    |

Продолжение Таблицы 3

|    |        |                     |     |      |      |      |      |
|----|--------|---------------------|-----|------|------|------|------|
| 21 | 20,745 | Caryophyllen        | 952 | Есть | Есть | 1410 | 1410 |
| 22 | 20,852 | $\gamma$ -Elemen    | 928 | Есть | Есть | 1409 | 1417 |
| 23 | 21,63  | $\gamma$ -Muurolen  | 920 | Есть | Есть | 1474 | 1469 |
| 24 | 22,67  | Cadinen             | 956 | Есть | Есть | 1541 | 1536 |
| 25 | 22,81  | Selina-3,7(11)-dien | 933 | Есть | Есть | 1551 | 1545 |
| 26 | 24,81  | Cadalen             | 950 | Есть | Есть | 1662 | 1665 |

Как видно из Таблицы 3 в сырье установлено наличие 26 веществ терпеноидной природы, из них в плодах идентифицированы 19, в побегах 20 компонентов. Такие соединения как  $\alpha$ -Pinen, Camphen, p-Cymen,  $\beta$ -cis-Ocimen,  $\gamma$ -Terpinen, Terpinolen, p-Cymenen, L-Borneol, Caryophyllen,  $\gamma$ -Elemen,  $\gamma$ -Muurolen,  $\gamma$ -Muurolen, Cadinen, Selina-3,7(11)-dien, Cadalen являются общими и для плодов, и для побегов можжевельника обыкновенного

Для оценки содержания в сырье основных групп биологически активных веществ было проведено их количественное определение с использованием наиболее употребимых в фармакогностических исследованиях методов. Результаты анализа представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Количественное содержание основных групп БАВ в сырье можжевельника обыкновенного

| Определяемая группа веществ                               | Метод количественного определения | Результаты количественного определения, %, в сырье |                 |                 |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------|-----------------|
|                                                           |                                   | Плоды                                              | Хвоя            | Побеги          |
| Эфирное масло                                             | Перегонка с водяным паром         | 1,48 $\pm$ 0,55                                    | 1,86 $\pm$ 0,13 | 1,21 $\pm$ 0,12 |
| Тритерпеновые сапонины в пересчете на олеаноловую кислоту | СФМ                               | 4,24 $\pm$ 0,04                                    | 2,68 $\pm$ 0,03 | 2,32 $\pm$ 0,01 |
| Полисахариды                                              | Гравиметрия                       | 8,01 $\pm$ 0,02                                    | 4,32 $\pm$ 0,01 | 3,42 $\pm$ 0,03 |
| Гидроксикоричные кислоты                                  | УФ-спектроскопия                  | 1,89 $\pm$ 0,06                                    | 1,10 $\pm$ 0,2  | 1,39 $\pm$ 0,53 |
| Флавоноиды                                                | СФМ                               | 1,79 $\pm$ 0,03                                    | 1,68 $\pm$ 0,03 | 1,47 $\pm$ 0,02 |

Для побегов можжевельника проведено определение числовых показателей и предложены нормы для включения в разрабатываемую нормативную документацию, представленные в Таблице 5.

Таблица 5 – Результаты оценки числовых показателей и микробиологической чистоты в побегах можжевельника обыкновенного

| Анализ                           | Показатели                                                 | Определено при анализе проб побегов можжевельника обыкновенного | Предлагаемые нормы                |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Числовые показатели              | Побеги, утратившие естественную окраску                    | 2,95-3,78%                                                      | Не более 4%                       |
|                                  | Частицы, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм | 5,65-5,98%                                                      | Не более 6%                       |
|                                  | Органическая примесь                                       | 0,12-0,24%                                                      | Не более 0.5%                     |
|                                  | Минеральная примесь                                        | 0,15-0,21%                                                      | Не более 0.3%                     |
|                                  | Влажность                                                  | 11,1-11,4%                                                      | Не более 12%                      |
|                                  | Зола общая                                                 | 3,78-3,84%                                                      | Не более 4%                       |
|                                  | Зола нерастворимая в 10% кислоте соляной                   | 0,52-0,65%                                                      | Не более 1%                       |
|                                  | Содержание эфирного масла                                  | 0,93-1,21%                                                      | Не менее 0,91%                    |
|                                  | Содержание полифенольных соединений                        | 1,387-1,451%                                                    | Не менее 1,3%                     |
|                                  | Экстрактивные вещества, извлекаемые 70% спиртом            | 35,2-36,7%                                                      | Не менее 35%                      |
| Микробиологическая чистота       | Аэробные бактерии                                          | $1,7 \times 10^3$                                               | $1,0-1,7 \times 10^3$             |
|                                  | Дрожжевые и плесневые грибы                                | $1,4 \times 10^2$                                               | $1,0 \times 10^2-1,4 \times 10^2$ |
|                                  | <i>Escherichia coli</i>                                    | Не обнаружены                                                   | Отсутствует                       |
|                                  | Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>                        | Не обнаружены                                                   | Отсутствует                       |
|                                  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                              | Не обнаружены                                                   | Отсутствует                       |
|                                  | <i>Staphylococcus aureus</i>                               | Не обнаружены                                                   | Отсутствует                       |
|                                  | <i>Salmonella</i>                                          | Не обнаружены                                                   | Отсутствует                       |
| Содержание радионуклидов (Sr-90) |                                                            | —                                                               | —                                 |

В лабораторных условиях нами были получены водные и водно-спиртовые извлечения из побегов можжевельника обыкновенного. Некоторые показатели их качества представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Результаты определения некоторых характеристик и показателей качества извлечений из побегов можжевельника обыкновенного

| Характеристики и показатели полученных извлечений            | Извлечения                                                                                                                 |                                                                                                                            |                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                              | Экстрагент вода очищенная 1:10                                                                                             | Экстрагент спирт этиловый 70% 1:5                                                                                          | Экстрагент спирт этиловый 70% 1:10                                                                                         |
| Описание                                                     |                                                                                                                            |                                                                                                                            |                                                                                                                            |
| Внешний вид                                                  | Прозрачная коричнево-бурая жидкость                                                                                        | Прозрачная коричнево-зеленоватая жидкость                                                                                  | Прозрачная зеленовато-коричневая жидкость                                                                                  |
| Запах                                                        | Специфический, пряный, можжевеловый                                                                                        | Специфический, пряный, можжевеловый                                                                                        | Специфический, пряный, можжевеловый                                                                                        |
| Определение некоторых показателей извлечений                 |                                                                                                                            |                                                                                                                            |                                                                                                                            |
| Сухой остаток, %                                             | 6,34±0,28                                                                                                                  | 5,87±0,19                                                                                                                  | 3,41±0,24                                                                                                                  |
| Плотность, г\мл                                              | 1,0112±0,018                                                                                                               | 0,9122±0,015                                                                                                               | 0,9314±0,019                                                                                                               |
| Определение основных групп БАВ                               |                                                                                                                            |                                                                                                                            |                                                                                                                            |
| Раствор квасцов железо-аммониевых (полифенольные соединения) | Черно-синее окрашивание, развитие черно-синей окраски свидетельствует о наличии дубильных веществ                          | Черно-синее окрашивание, развитие черно-синей окраски свидетельствует о наличии дубильных веществ                          | Черно-синее окрашивание, развитие черно-синей окраски свидетельствует о наличии дубильных веществ                          |
| Цианидиновая проба (флавоноиды)                              | Розовое окрашивание, при добавлении гранул цинка в присутствии концентрированной HCl свидетельствует о наличии флавоноидов | Розовое окрашивание, при добавлении гранул цинка в присутствии концентрированной HCl свидетельствует о наличии флавоноидов | Розовое окрашивание, при добавлении гранул цинка в присутствии концентрированной HCl свидетельствует о наличии флавоноидов |
| Спирт этиловый, 96% (полисахариды)                           | Образование сероватой мути, при добавлении 96% спирта свидетельствует о наличии полисахаридов                              | Образование сероватой мути, при добавлении 96% спирта свидетельствует о наличии полисахаридов                              | Образование сероватой мути, при добавлении 96% спирта свидетельствует о наличии полисахаридов                              |
| Пенообразование (сапонины)                                   | Образование устойчивой пены, свидетельствует о наличии веществ сапониновой природы                                         | Образование устойчивой пены, свидетельствует о наличии веществ сапониновой природы                                         | Образование устойчивой пены, свидетельствует о наличии веществ сапониновой природы                                         |

Продолжение Таблицы 6

| Количественное содержание действующих веществ, %         |       |       |       |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Полифенольные соединения в пересчете на кислоту галловую | 0,342 | 0,458 | 0,283 |

Антимикробное действие побегов можжевельника обыкновенного определяли, используя метод диффузии в агар в оптимальных питательных средах. На предварительном этапе в чашки Петри помещали предварительно простерилизованный агар, используемый как нижний слой, после чего наносили стерильную питательную среду с внесенными в нее микроорганизмами, используемыми для оценки наличия антимикробного действия у исследуемых извлечений. Чашки с содержимым подсушивали в термостате и на поверхность среды располагали насыщенные исследуемыми извлечениями, а также контрольные стерильные диски. Чашки выдерживали в течение 24 часов при 35С в термостате, после чего производили замер радиуса задержки радиуса роста и жизнедеятельности микроорганизмов. Результаты представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Результаты анализа антимикробного действия извлечений из побегов можжевельника обыкновенного

| Тест-микроорганизм                     | Радиус зоны подавления роста, мм |                                                               |                         |                          |
|----------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                                        | Спирт этиловый 70%, контроль     | Исследуемые извлечения из побегов можжевельника обыкновенного |                         |                          |
|                                        |                                  | Вода очищенная                                                | Спирт этиловый 70%, 1:5 | Спирт этиловый 70%, 1:10 |
| <i>Escherichia coli</i> 675            | 2,4                              | 2,1                                                           | 9,4                     | 4,9                      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 2,6                              | 2,3                                                           | 8,3                     | 3,8                      |
| <i>Candida albicans</i>                | 1,6                              | 4,1                                                           | 6,9                     | 4,6                      |

Полученные нами данные по определению антимикробного действия демонстрируют наличие умеренной антимикробной активности извлечений из побегов можжевельника обыкновенного в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus*), грамотрицательных (*Escherichia coli*) микроорганизмов и фунгистатической активности в отношении дрожжеподобных грибов (*Candida albicans*), превышающей действие контроля (спирт этиловый 70%). При этом использование меньших концентраций сырья при приготовлении водно-спиртовых извлечений снижало антимикробное действие.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатом данной работы является разработка показателей качества плодов и побегов можжевельника обыкновенного как перспективного растительного сырья, обладающего антимикробным действием. Установлено близкое значение как содержания биологически активных веществ в плодах и побегах можжевельника обыкновенного, произрастающих в Московской и Тверской областях, так и антимикробного действия в отношении использованных в эксперименте тест-культур микроорганизмов, что позволяет осуществлять стандартизацию данного сырья с использованием единых показателей качества.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведено информационно-аналитическое изучение научной литературы и нормативной документации, необходимой для формирования современных требований к качеству плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного.

2. Проведен анализ анатомо-морфологического строения цельного и измельченного сырья побеги и хвоя можжевельника обыкновенного, на основании которого выявлены основные диагностические признаки, позволяющие осуществить идентификацию данного сырья, и подготовлены рекомендации для включения в раздел «Определение подлинности», планируемой НД, определены диагностические признаки для измельченного и порошкового сырья плоды можжевельника для внесения изменений в действующую ФС «Можжевельника обыкновенного плоды» ФС.2.5.0028.15.

3. Проведено определение качественного состава и количественного содержания основных БАВ (пигментного комплекса, эфирного масла, флавоноидов, органических и гидроксикоричных кислот, дубильных веществ, суммарного содержания полисахаридов в хвое и побегах можжевельника обыкновенного; разработаны и апробированы методики подтверждения подлинности и оценки количественного содержания указанных веществ.

4. Проведено определение числовых показателей для нового лекарственного растительного сырья – побеги можжевельника обыкновенного, определены нормы, рекомендованные к включению в разрабатываемую НД «Побеги можжевельника обыкновенного», составившие для побегов можжевельника обыкновенного: влажность – не более 11.1-11.4 %, зола общая – не более 3.78-3.84 %, зола, нерастворимая в 10 % растворе кислоты хлористоводородной – не более 0.52-0.65%, измельченность – 1-3 мм, пожелтевшие листья и черешки – не более 3 %, органическая примесь – не более 0,5%, минеральная примесь – не более 0,5 %, микробиологическая чистота – категория 4А.

5. Проведен анализ водных и водно-спиртовых извлечений, полученных из побегов можжевельника обыкновенного, в ходе которого было подтверждено соответствие их качественного состава составу БАВ исходного сырья, а также осуществлено определение ряда показателей качества.

6. Изучена антимикробная активность извлечений (настой, настойка и жидкий экстракт) из сырья можжевельника. Установлено, что все изучаемые извлечения из побегов можжевельника обыкновенного проявляют умеренное антимикробное действие в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus*), грамотрицательных (*Escherichia coli*) микроорганизмов и фунгистическую активность в отношении дрожжеподобных грибов (*Candida albicans*), превышающую действие контроля (спирт этиловый 70%). Установлено, что использование меньших концентраций сырья при приготовлении водно-спиртовых извлечений снижало антимикробное действие.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследования позволяют эффективно и рационально использовать в медицине и фармацевтической практике новое растительное сырье – **побеги и хвоя можжевельника обыкновенного**. Разработанные в ходе проведенных автором исследований подходы к стандартизации побегов и хвои можжевельника обыкновенного могут быть применены в учебном процессе по курсу «Фармакогнозия» для высших учебных заведений. Особо важным представляется, приводимое автором научное обоснование введения в отечественную номенклатуру побегов и хвои можжевельника обыкновенного, в дополнении к разрешенному к медицинскому применению сырью – плоды можжевельника обыкновенного, что позволит расширить ассортимент российского растительного сырья.

### ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проведенные исследования могут использоваться для разработки лекарственных и гигиенических средств антимикробного действия на основе извлечений из предлагаемого сырья плодов и хвои можжевельника обыкновенного, а также последующего совершенствования методов определения подлинности и доброкачественности данных средств.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Ermakov, A.** The study of organic acids of juniper needles / A. Ermakov, O. Nesterova // *Phytofarm 2023: Сборник материалов XXIV Международного Съезда*, Санкт-Петербург, 25–27 мая 2023 года. – Санкт-Петербург: федеральное государственное бюджетное

образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2023. – Р. 29.

2. **Ермаков, А. Р.** Разработка метода идентификации и оценка количественного содержания эфирного масла в хвое можжевельника обыкновенного / А. Р. Ермаков, О. В. Нестерова, Е. С. Терновская / **Медико-фармацевтический журнал «Пульс»**. – 2024. – Т. 26. – № 6. – С. 150-154.

3. **Ермаков, А. Р.** Анализ веществ маркеров хвои можжевельника обыкновенного / А. Р. Ермаков, О. В. Нестерова, Д. А. Доброхотов // Сборник материалов конференции Интеграционные Связи Фармацевтической экологии, Москва, 30 октября – 1 ноября 202. – С. 42-44.

4. Analysis of the Composition of Some Phenolcarboxylic Acids and Terpenes in the Fruits and Needles of Common Juniper (*Juniperus communis* L.) by Gas and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry / **A. R. Ermakov**, N. V. Bobkova, O. V. Nesterova, G. V. Nesterov, A. V. Pirogov, E. S. Chichkanova, I. A. Anan'eva, D. S. Prosuntsova, A. N. Kuz'menko / **Journal of Analytical Chemistry**. – 2025. – Vol. 80. – № 11. – P. 1938-1944. [Scopus]

5. Оценка содержания пигментов хвои можжевельника обыкновенного методами тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии / **А. Р. Ермаков**, И. И. Соколенова, Д. А. Доброхотов, А. А. Филиппова, Н. Ю. Гарнова, О. В. Нестерова // **Медико-фармацевтический журнал «Пульс»**. – 2025. – Т. 27. – № 5. – С. 135-140.

6. Идентификация фенольных соединений и количественное определение фенолкарбоновых кислот в сырье можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*) / **А. Р. Ермаков**, Н. Г. Захарова, Д. А. Доброхотов, А. К. Жевлакова, О. В. Нестерова // **Медико-фармацевтический журнал «Пульс»**. – 2025. – Т. 27. – № 11. – С. 111-116.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЛРС – Лекарственное растительное средство

ХОБЛ – Хроническая обструктивная болезнь лёгких

БАВ – Биологически активные вещества

СФМ – Спектрофотометрия

ТСХ – Тонкослойная хроматография

ВЭЖХ – Высокоэффективная жидкостная хроматография