

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

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

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор

Нестерова Ольга Владимировна

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО	14
1.1. Краткая историческая справка, характеризующая опыт использования сырья можжевельника	14
1.2. Краткая характеристика систематического положения, сырьевой базы видов рода можжевельник – <i>Juniperus</i>	20
1.3. Сведения о химическом составе можжевельника (род <i>Juniperus</i>).....	24
1.4. Фармакологические свойства и применение можжевельника в медицинской практике и других отраслях	29
1.5. Выводы к Главе 1	37
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
2.1. Объекты исследования, их характеристика.....	38
2.2. Макроскопический и микроскопический анализ.....	38
2.3. Идентификация лекарственного растительного сырья и его фитохимический анализ	39
2.3.1. Экстрактивные вещества.....	39
2.3.2. Дубильные вещества.....	39
2.3.3. Органические кислоты.....	43
2.3.4. Флавоноиды	45
2.3.5. Гидроксикоричные кислоты	48
2.3.6. Полисахариды.....	50
2.3.7. Определение эфирного масла	51
2.3.8. Определение каротиноидов и хлорофилла.....	53
2.3.9. Минеральный состав.....	55
2.4. Методы стандартизации сырья	57
2.5. Статистическая обработка данных.....	60

ГЛАВА 3. МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ И МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ	61
3.1. Макроскопическое и микроскопическое исследование плодов можжевельника обыкновенного	62
3.1.1. Внешние признаки	62
3.1.2. Микроскопия	64
3.2. Макроскопическое и микроскопическое исследование побегов можжевельника обыкновенного	67
3.2.1. Внешние признаки	67
3.2.2. Микроскопия	71
3.3. Макроскопическое и микроскопическое исследование хвои можжевельника обыкновенного.....	76
3.3.1. Внешние признаки	76
3.3.2. Микроскопия	78
3.4. Выводы к Главе 3	83
ГЛАВА 4. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХВОИ, ПЛОДОВ И ПОБЕГОВ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО	84
4.1. Оценка содержания экстрактивных веществ, извлекаемых различными растворителями, в исследуемом сырье	84
4.2. Качественное и количественное определение пигментов в сырье можжевельника обыкновенного	85
4.3. Сравнительная оценка содержания эфирного масла в плодах, хвое и побегах можжевельника обыкновенного и идентификация компонентов терпеноидной фракции	90
4.4. Оценка содержания свободных органических кислот	94
4.5. Качественное и количественное определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот.....	98
4.6. Качественное и количественное определение полисахаридов.....	106
4.7. Качественное и количественное определение минеральных веществ	109

4.8. Идентификация и количественное определение летучих веществ.....	111
4.9. Выводы к Главе 4	115
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ ХВОИ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО И ИЗВЛЕЧЕНИЯ НА ЕГО ОСНОВЕ	117
5.1. Определение числовых показателей сырья.....	117
5.2. Результаты валидации методики определения полифенольных веществ.....	121
5.3. Анализ некоторых показателей качества извлечений из побегов можжевельника обыкновенного	125
5.4. Определение антимикробной активности	127
5.5. Выводы к Главе 5	128
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	130
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	131
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	133
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	134
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	136
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	154
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	161

ВВЕДЕНИЕ

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 фенилпропаноиды 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, позволяющее 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 (*Corni 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 5th 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, хвоя 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.

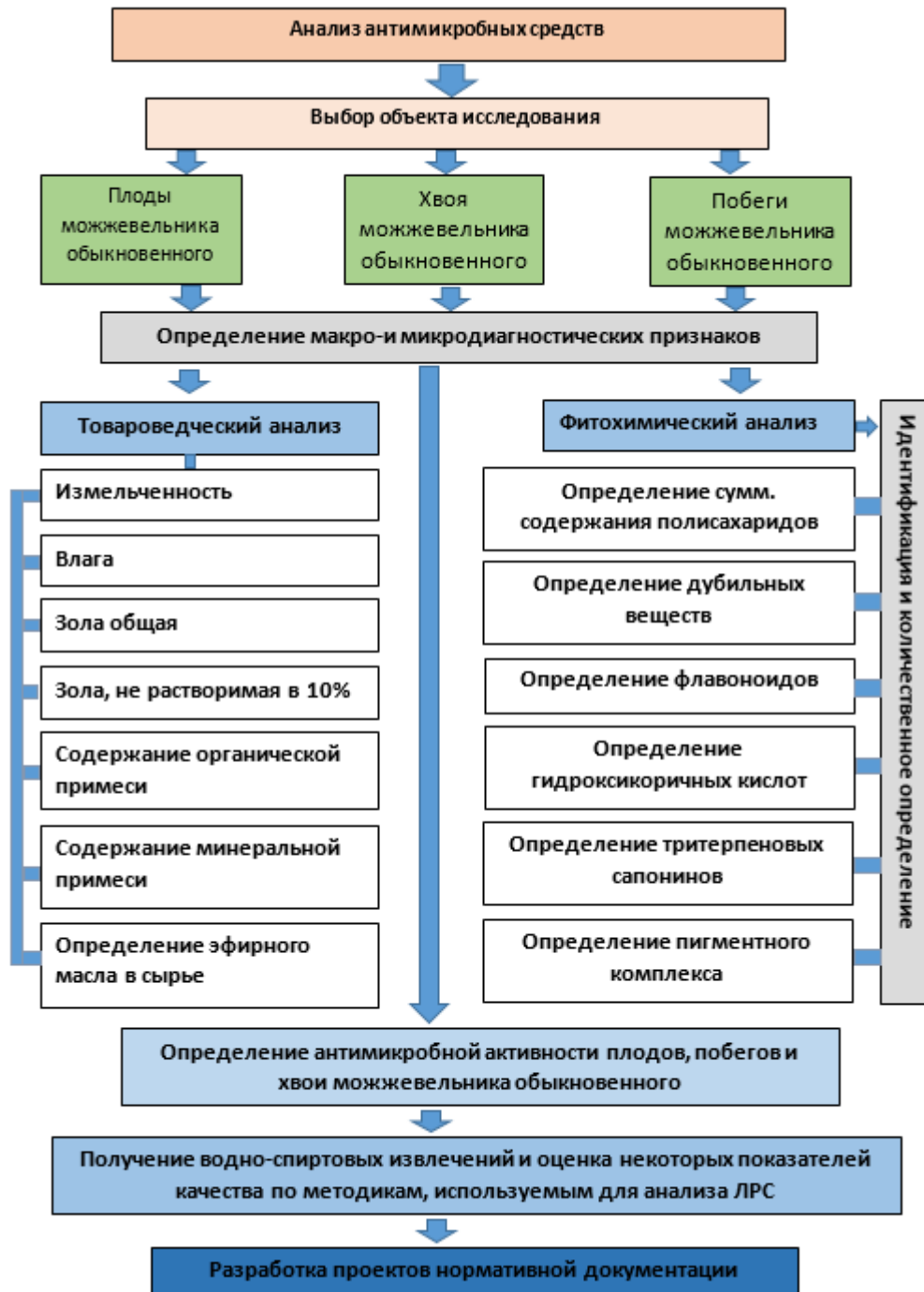


Рисунок 1 – План проведения исследований диссертационной работы

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО

1.1. Краткая историческая справка, характеризующая опыт использования сырья можжевельника

Род *Juniperus* или можжевельник [53], относится к семейству Кипарисовых, многие представители которого обладают выраженным фармакологическим действием, что обусловило использование данного рода в медицинской практике разных народов [21]. В качестве лекарственного растения можжевельник впервые применили в Древнем Египте, затем в Древней Греции и Риме [15]. Можжевельники, как все хвойные, выделяют фитонциды, губительные для различной болезнетворной микрофлоры. При растирании в руках хвоя издает резкий смолистый запах. Уверенность в антибактериальных свойствах можжевельника, обусловила его широкое использование в бытовой санитарии: ветками можжевельника окуривались дома, хлева при любой инфекции. Североамериканские индейцы, учитывая дезинфицирующие свойства можжевельника, применяли оригинальный способ излечения больных туберкулезом – этих больных надолго помещали в можжевельниковые заросли и не позволяли выходить оттуда до улучшения состояния. Плоды и хвоя можжевельника широко использовались в средневековой медицине для лечения заболеваний почек, воспалений суставов, легочных заболеваниях, при обработке застарелых ран. Итальянский врач Пьетро Андреа Грегорио Матиолли (1501-1577) в своем труде «Di Pedacio Dioscoride Anazarbeo libri cinque della historia, material medicinale» указывал известные на тот момент лекарственные растения, в том числе можжевельник (Di Pedacio Dioscoride Anazarbeo Libri cinque della historia, & materia medicinale Stampato in Venetia : Per Nicolo de Bascarini). Общий вид рукописи представлен на Рисунке 2.

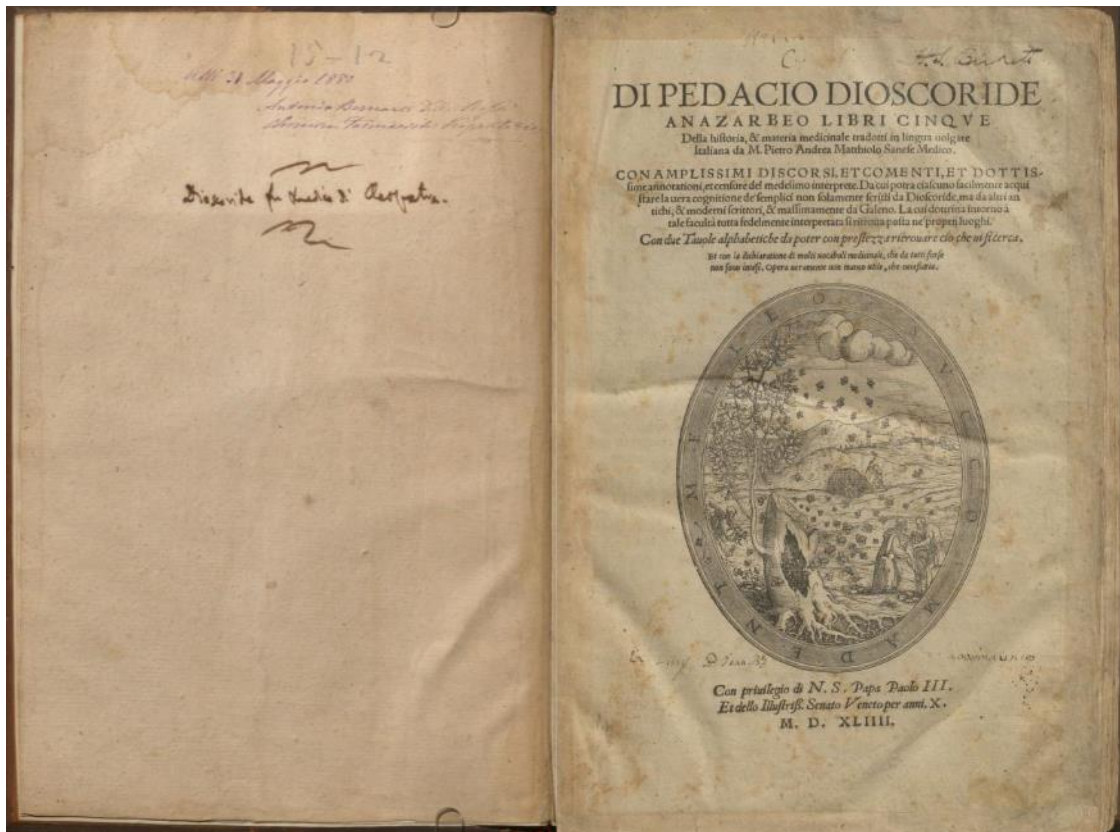


Рисунок 2 – Di Pedacio Dioscoride Anazarbeo Libri cinque della historia, & materia medicinale [https://archive.org/details/McGillLibraryosl_di_pedacio_dioscoride_anazarbeo_folioWZ240d594dm1544-20467/page/n5/mode/2up]

Издавна можжевельник применяется и в народной медицине. Его шишкоягоды и семена в свежем виде, в виде порошков, настоев употреблялись при водянке, кашле, астме, подагре, заболеваниях желудка и кишечника. Первое печатное сообщение о лечебных свойствах можжевельника появилось в 1772 г. в журнале «Экономический магазин». Упоминание о плодах можжевельника, а также рецепты получения водной вытяжки и наливки из данного сырья приведены в монографии И.М. Догеля «Основы фармакологии и рецептуры» (1900 г., издательство типографии Карла Риккера).

Позднее плоды можжевельника вошли в европейскую и российскую фармакопеи. Так, в российской фармакопее XI издания имеются статьи «Можжевельника обыкновенного плоды (*Juniperi communis fructus*)» и статья «мазь можжевельная (*Unguentum obei Juniperi*)», изготавливаемая по прописи:

1. Rp.: Olei Juniperi empyreumatici 2,0
Axungiae porcinae 48,0

2. Rp.: Olei Juniperi empyreumatici

Saponis viridis aa 25,0

Spiritus aethylici 50,0

M.f. unguentum

DS. Наносить на пораженные участки кожи.

Серьезное внимание можжевельнику уделено в книге «Руководство к фармацевтической и медико-хирургической практике» Х. Хагера с добавлениями профессора А.В. Петеля, изданной в конце XIX века. Издание содержит описание как самого растения, так и плодов и хвои, а также приводятся характеристики продуктов переработки: «можжевелового спирта», «сгущенного сока можжевеловых ягод», «масла можжевелового», «масла из древесины», «пригорелого масла», «можжевеловой воды», можжевелового линимента.

В России фабричное производство можжевелового спирта было нормативно закреплено в «Списке фармацевтических препаратов, разрешаемых к фабричному производству и оптовой продаже на фабриках, лабораторных и особых отделениях химических заводов» (Список фармацевтических препаратов, разрешаемых к фабричному производству и оптовой продаже на фабриках, лабораториях и особых отделениях химических заводов, устраиваемых на основании ст.ст. 398-407 Уст. врач. изд. 1905 г. [Утв. М-вом вн. дел 1 ноября 1908 г. – Санкт-Петербург]: тип. М-ва вн. дел, [1908]. – 10 с.).

Уже в начале XX века считалось, что плоды можжевельника обыкновенного, на основе которых делают настойки, отвары и целебное эфирное масло, имеют богатейший химический состав. В высушенных ягодах, помимо повышенной концентрации сахаров (порядка 40 %) и биологически активных летучих веществ (до 2 %), были определены органические кислоты (муравьиная, яблочная, уксусная), большое количество витамина С, калий, магний и кальций. Отвары из ягод можжевельника полезно пить при малокровии, астенических состояниях после перенесенной болезни и нарушениях менструального цикла. Это способствует повышению общего тонуса организма, улучшению кровообращения и помогает восстановить ослабленный иммунитет. Настои можжевельника

используют для полосканий полости рта при стоматите, фарингите и ангине, они быстро снимают отечность гортани и миндалин, и являются эффективным антисептиком.

При ревматических болях и проблемах с суставами может помочь курс теплых ванн с добавлением отвара хвои и плодов можжевельника. Эту же рецептуру можно уверенно применять при кожных заболеваниях (псориаз, экзема, экссудативный диатез), совмещая ее с приемом внутрь настоя из можжевельных ягод. В 1951 г. Тимошечкиной М.Е. были получены экспериментальные данные о прямом воздействии эфирного масла можжевельника на опухолевые клетки. Перевитая опухолевая ткань, помещенная в можжевельное масло, погибала, а в случае инъекции масла в опухолевую ткань наблюдался ее некроз и развитие плотной фиброзной капсулы [83].

Фитотерапевтами СССР были разработаны прописи сборов, включающих плоды можжевельника, утвержденные Фармакологическим комитетом Министерства здравоохранения СССР, некоторые рецепты приводятся на Рисунке 3 [73].

Назначение сборов	Состав	Применение
Сборы лекарственных растений, рекомендуемые при заболеваниях желудочно-кишечного тракта	Можжевельник обыкновенный (плоды) - 10.0 Фенхель обыкновенный (плоды) 20.0 Тмин обыкновенный (плоды) 20.0 Ромашка аптечная (цветки) 25.0 Мята перечная(листья) 25.0	Принимать в виде теплого настоя по ½ стакана 2 раза в день после еды утром и вечером при спастических состояниях кишечника
	Барбарис обыкновенный (плоды) 20.0 Береза повислая (листья) 20.0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 20.0 Полынь горькая (трава)20.0 Тысячелистник обыкновенный (трава) 20.0	Принимать по 1 стакану настоя 2-3 раза в день за 30 минут до еды при холецистите, холангите
Сборы лекарственных растений, рекомендуемые при болезнях почек и мочевыводящих путей	Можжевельник обыкновенный (плоды) 60,0 Фенхель обыкновенный (плоды) 20,0 Солодка голая (корень) 20,0 Принимать по 1/3—1/4	Принимать по 1/3—1/4 стакана отвара 3 раза в день как мочегонное средство. Противопоказан при беременности и острых воспалительных процессах в почках и мочевыводящих путях
	Стальник полевой (корень) 25,0 Петрушка огородная (корень) 25,0 Солодка голая (корень) 25,0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 25,0	Принимать по 1/3-1/4 стакана отвара 3 раза в день как мочегонное средство. Противопоказан при беременности и острых воспалительных процессах в почках и мочевыводящих путях
	Фенхель обыкновенный (плоды) 10,0 Бузина черная (цветки) 10,0 Тмин обыкновенный (плоды) 10,0 Адонис весенний (трава) 10,0 Петрушка огородная (плоды) 30,0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 30,0	Принимать по 1/3-1/4 стакана настоя 3-4 раза в день как мочегонное средство. Противопоказан при беременности и острых воспалительных процессах в почках и мочевыводящих путях

Назначение сборов	Состав	Применение
Сборы лекарственных растений, рекомендуемые при болезнях почек и мочевыводящих путей	Крапива двудомная (листья) 20,0 Аир болотный (корневище) 15,0 Мята перечная (листья) 10,0 Хвощ полевой (трава) 15,0 Бузина черная (цветки) 10,0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 15,0 Шиповник коричный (плоды) 15,0	Принимать по 1/2-1/3 стакана отвара в теплом виде 2-3 раза в день при мочекаменной болезни
	Шиповник коричный (плоды) 25,0 Стальник полевой (корень) 25,0 Адонис весенний (трава) 25,0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 25,0	Принимать по 1/2-1/3 стакана настоя в теплом виде 3 раза в день в качестве диуретического и противовоспалительного средства
	Береза повислая (листья) 20,0 Стальник полевой (корень) 20,0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 20,0 Чистотел большой (трава) 20,0 Лапчатка прямостоячая (трава) 20,0	Принимать по 1 стакану настоя в теплом виде на ночь при камнях в мочевом пузыре и в мочеточниках
	Шиповник коричный (плоды) 20,0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 20,0 Береза повислая (листья) 20,0 Марена красильная (корень) 40,0	Принимать по 1/3-1/4 стакана настоя глотками 3 раза в день как мочегонное средство при мочекаменной болезни
Сборы лекарственных растений, рекомендуемые при кожных заболеваниях	Шалфей лекарственный (листья) 10,0 Подорожник большой (листья) 10,0 Крапива двудомная (листья) 10,0 Полынь горькая (трава) 5,0 Тысячелистник обыкновенный (трава) 15,0 Зверобой продырявленный (трава) 15,0 Хвощ полевой (трава) 15,0 Кукурузные столбики с рыльцами 10,0 Можжевельник обыкновенный (плоды) 10,0	Принимать по 1/4-1/3 стакана настоя 3 раза в день до еды при экземе

Рисунок 3 – Схема рецептуры сборов, содержащих соплодия можжевельника обыкновенного [19, 27, 48, 57]

1.2. Краткая характеристика систематического положения, сырьевой базы видов рода можжевельник – *Juniperus*

Род *Juniperus* или можжевельник, относится к семейству Кипарисовые (*Cupressaceae*), которое включает в себя разнообразные хвойные растения, широко распространенные по всему миру. Этот род объединяет около 50-70 видов, которые обитают преимущественно в северном полушарии, включая Европу, Азию и Северную Америку. Можжевельники играют важную роль в экосистемах и обладают рядом функций, начиная от предоставления сырьевой базы для медицинского назначения и заканчивая экологическими, так как можжевельник является важной частью многих экосистем. [75, 137]

Можжевельники, как и другие растения семейства *Cupressaceae*, приспособлены к жизни в самых сложных условиях окружающей среды. Они прекрасно растут в засушливых регионах, что делает их важными для рекультивации земель. Благодаря своей способности предотвращать эрозию почвы, они создают благоприятные условия для произрастания других растений и таким образом можжевельники занимают значительную роль в экосистемах различных регионов. [134]

Род *Juniperus*, или Можжевельник, представляет собой обширную группу растений из семейства *Cupressaceae*, включающую как деревья, так и кустарники. Все представители рода являются вечнозелеными и это позволяет им успешно адаптироваться к различным климатическим условиям, от умеренных широт до субтропиков.

Листья у можжевельника варьируются по форме: у молодых растений они имеют игловидную структуру, тогда как у зрелых чаще встречаются чешуйчатые листья. Такая морфологическая особенность обеспечивает растениям защиту от потери влаги и избыточного испарения, особенно в засушливых регионах. [121]. Они легко приживаются в условиях с низким содержанием питательных веществ, что связано с их медленным ростом и способностью экономно расходовать ресурсы [126].

Таким образом, род *Juniperus* представляет собой уникальную группу растений, обладающих экологической и хозяйственной ценностью. Их адаптивность, декоративность и полезные свойства делают их востребованными как в природных экосистемах, так и в культурных ландшафтах.

Род *Juniperus* включает большое количество видов, каждый из которых обладает уникальными биологическими особенностями и широким спектром применения в различных областях – от экологии до медицины и промышленности. Среди них выделяются ключевые виды, которые заслуживают особого внимания [111].

Таблица 1 – Краткая характеристика некоторых видов рода *Juniperus*, используемых в качестве сырья в разных отраслях промышленности [52]

Название	Распространение	Описание	Применение
<i>Juniperus communis</i> – можжевельник обыкновенный	можжевельник обыкновенный один из наиболее известных видов рода, который широко распространён в Европе, Азии и Северной Америке	может принимать форму как кустарника, так и деревянистого растения, что делает его крайне универсальным.	Сырьё можжевельника обыкновенного широко применяется в пищевой промышленности. например, для ароматизации алкогольных напитков, таких как джин. Помимо этого, плоды обладают лекарственными свойствами и применяются в традиционной медицине для лечения заболеваний мочевыводящей системы и проблем с пищеварением
<i>Juniperus sabina</i> – можжевельник савинский	Встречается преимущественно в горных районах Европы, Азии и Северной Америки	Представитель кустарниковой формы рода, вид отличается высокой	В традиционной медицине савинский можжевельник используется для лечения кожных

Продолжение Таблицы 1

		устойчивостью к неблагоприятным климатическим условиям, включая низкие температуры и бедные почвы.	заболеваний благодаря его антисептическим и противовоспалительным свойствам. Кроме того, настои и экстракты на его основе находят применение в борьбе с ревматическими болями.
<i>Juniperus virginiana</i> – можжевельник вирджинийский	Этот вид широко распространён в Северной Америке	Крона конусовидная, плотная. Молодые экземпляры – с узкой яйцевидной кроной, которая с возрастом становится более раскидистой.	Известен благодаря своей прочной древесине, которая находит применение в строительстве и производстве мебели. В экологическом контексте вирджинийский можжевельник используется для предотвращения эрозии почв, а также для создания зелёных насаждений в засушливых районах.
<i>Juniperus osteosperma</i> – можжевельник жёсткосемянный	Вид распространён на юго-западе США, где он приспособился к засушливым условиям и каменистым почвам	Вырастают, как правило, до 3-6м, в исключительных случаях до 9м	Благодаря своей устойчивости к засухе и декоративным качествам, остеосперма является популярным растением в ландшафтном дизайне. Её часто используют для озеленения парков и создания декоративных композиций в садах, особенно в регионах с низким уровнем осадков.

Продолжение Таблицы 1

<i>Juniperus chinensis</i> – можжевельник китайский	Распространён в Китае и Японии	крона может быть пирамидальной, колонновидной или распротёртой, а хвоя отличается разнообразием оттенков – от насыщенно-зелёного до голубоватого	Плоды китайского можжевельника также находят применение в медицине, особенно в традиционной восточной практике, где их используют для лечения простудных заболеваний и укрепления иммунитета
---	--------------------------------	--	--

Таким образом, каждый из видов рода *Juniperus* обладает уникальными характеристиками, которые делают их важными как с экологической точки зрения, так и с позиции их использования в медицине, промышленности и ландшафтном дизайне.

Однако, несмотря на разнообразие видов можжевельника, большое значение имеют ареалы распространения и регионы промысловой заготовки можжевельника, прежде всего, на территории России. Промысловая заготовка сырья можжевельника (плодов, древесины, хвои, смол) охватывает ряд географических регионов, что связано с его ареалом произрастания. В Европе можжевельники представлены разнообразными видами, среди которых наиболее распространён можжевельник обыкновенный – *Juniperus communis*. Этот вид занимает разнообразные территории, от горных склонов до побережий.

Заготовка сырья можжевельника играет важную роль в экономике и промышленности различных стран мира. Эти растения обеспечивают ценным сырьем (плоды, древесина, хвоя и эфирные масла), которое широко используется в фармацевтической, косметической, пищевой промышленности. В зависимости от региона и вида можжевельника методы и цели заготовки могут значительно различаться.

Таким образом, заготовка можжевельника представляет собой многогранную деятельность, охватывающую различные отрасли и регионы. Эти растения играют важную роль не только в экономике, но и в поддержании устойчивости природных экосистем.

1.3. Сведения о химическом составе можжевельника (род *Juniperus*)

Анализ научной литературы показал рост интереса исследователей к широкому изучению Можжевельника, как источника природных флавоноидов [61], органических кислот, смолы и эфирного масла. Эфирное масло можжевельника содержит вещества монотерпеновой и дитерпеновой природы, выявлено наличие лигнанов и флавоноидов, основные из которых представлены на Рисунке 4.



Рисунок 4 – Основные группы БАВ плодов и побегов можжевельника обыкновенного

Эфирное масло промышленного выпуска, производимое методом перегонки с водяным паром из свежих, высушенных или ферментированных плодов можжевельника, реализуемое на территории РФ должно соответствовать

требованиям ГОСТ ISO8897-2017 «Масло эфирное можжевеловое» или стандарту ISO 88972010 (Oil of juniper berry (*Juniperus communis* L.)).

Исследование веществ лигнановой природы позволило выявить наличие в извлечениях из плодов и листьев можжевельника подофиллотоксина и деоксиподофиллотоксина, формулы которых представлены на Рисунке 5.

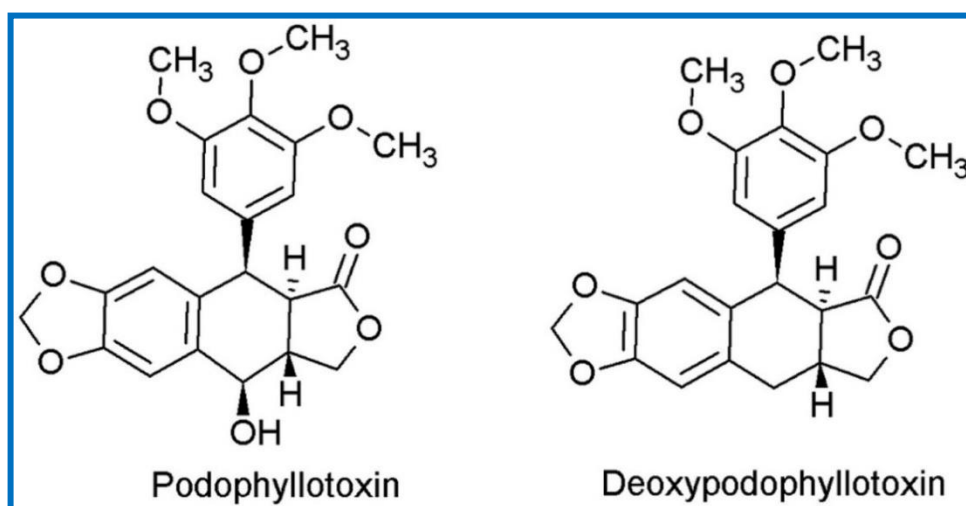


Рисунок 5 – Структурные формулы лигнановых веществ можжевельника обыкновенного

В исследовании выявлено преобладание фракции производных монотерпенов в эфирных маслах, полученных аквадистилляцией плодов и хвои можжевельника, произрастающего в Эстонии, однако указывается на имеющиеся различия компонентного состава [146]. Суммарное содержание сесквитерпенов в эфирном масле можжевеловой хвои составляет 32,6 %, тогда как масло, получаемое из плодов, содержит 12,8 % сесквитерпеновых веществ. Авторы отмечают, что доминантным компонентом эфирного масла можжевельника, получаемого как из плодов, так и из хвои является α -пинен. Доминирование α -пинена отмечается также нормами ГОСТ ISO8897-2017 «Масло эфирное можжевеловое» или стандарту ISO 88972010 (*Oil of juniper berry (Juniperus communis* L.)).

Соотношение доминирующих компонентов эфирных масел плодов и хвои можжевельника обыкновенного представлено на Рисунке 6.

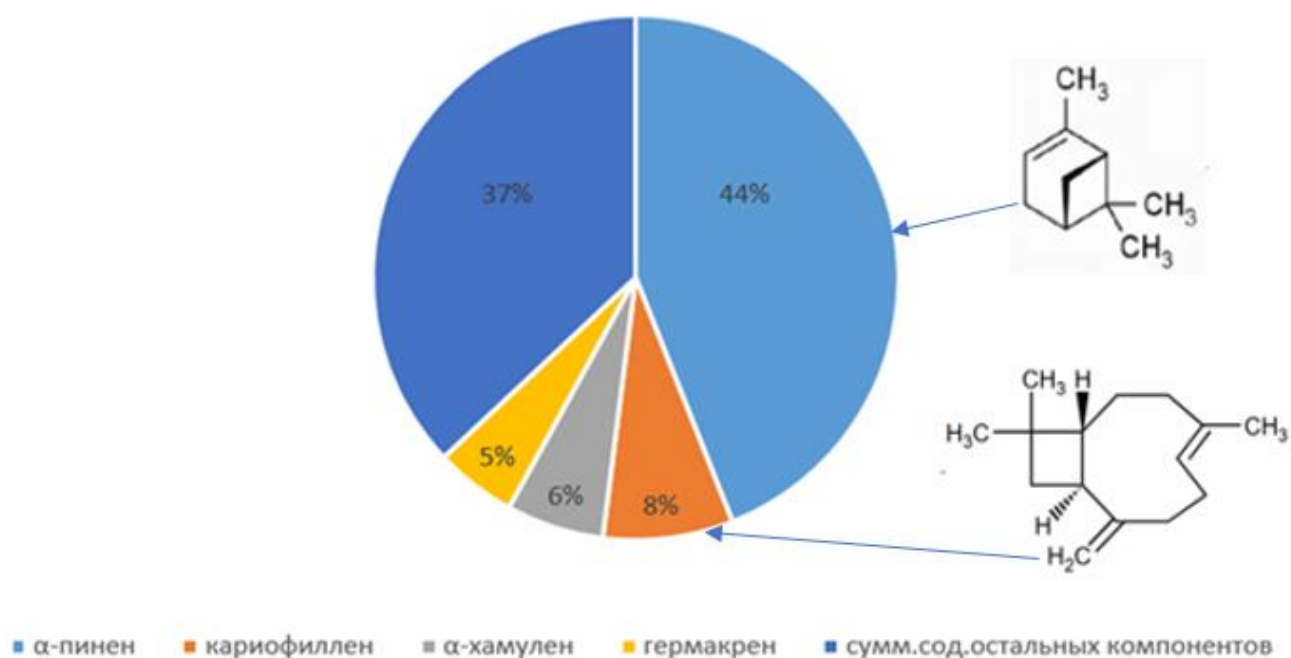


Рисунок 6 – Соотношение доминирующих компонентов эфирных масел плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного

Анализ научных статей, посвященных изучению компонентного состава эфирного масла хвои и плодов можжевельника, произрастающего в разных поясах, показал существенное доминирование α -пинена в большинстве случаев, однако другие доминирующие компоненты существенно отличаются в зависимости от места произрастания. По данным Angioni et al. эфирное масло можжевельниковой хвои, заготовленной в Италии, включает максимальное (до 60 %) количество сабинена, тогда как содержание α -пинена в данном сырье составляет не более 12 % [7]. По составу сесквитерпенов и дитерпенов выделяется можжевельник твердый – в эфирном масле зафиксировано значительное количество гермакрена D, у единственного из изученных представителей этого семейства установлено присутствие изопимарадиена (1,2%). Также характерным именно для этого вида являлось присутствие ациклических спиртов – неролидола (2,6 %) и фарнезола (2,4 %). В образце *J. rigida* из Японии авторами также установлено наличие гермакрена D, неролидола, фарнезена, однако в значительно меньшем количестве. Автор в своей работе указывает на существенные различия в составе эфирных масел можжевельника твердого в зависимости от региона произрастания, отмечая

значительную разницу в накоплении борнилацетата, α -пинена и некоторых минорных компонентов в образцах из Японии, Кореи и Китая. Можжевельник чешуйчатый единственный среди изученных представителей рода *Juniperus* имел в составе эфирного масла трициклические сесквитерпены лонгипинен (0,7 %) и лонгифолен (6 %), что выделяло его среди других видов можжевельника. Можжевельник казацкий также отличался достаточно высоким содержанием сесквитерпенов (7,9 %), в том числе накапливал относительно большое количество γ -муролена (3,9 %) и δ -кадинена (2,6 %).

Отечественными учеными был изучен компонентный состав эфирного масла плодов можжевельника, заготовленных в Московской, Ленинградской, Саратовской и Новосибирской областях. Авторами установлено, что преобладающей группой терпеноидов можжевельного масла являются бициклические монотерпены: α -пинен, β -пинен, камфен, причем во всех исследуемых образцах выявлено существенное доминирование α -пинена. Количественное содержание α -пинена в образцах эфирного масла можжевельника обыкновенного составляет от 30 до 60 %. В качестве маркерных соединений авторы предлагают рассматривать некоторых представителей моноциклических монотерпенов (*o*-цимен, α -лимонен), моноциклических спиртов (терпиненол, α -терпениол), бициклических сесквитерпенов (лонгифолен, кариофиллен). Такие компоненты как цинеол, α -пинен-оксид, пинокарвеол, терпенилацетат, каранол были выявлены только в эфирном масле, полученном из сырья, заготовленного в Саратовской области.

Очевидно, что состав эфирного масла плодов и хвои можжевельника связан с хемотипами и отличается географической вариабельностью. Существенные различия в компонентном содержании эфирного масла можжевельника разных районов произрастания, отраженные в научной литературе, обуславливают дальнейшие исследования в этой области, направленные на накопление фактического материала, выявления зависимости в содержании компонентов от условий произрастания и формирования прогнозов по заготовке данного сырья.

В исследовании был установлен состав основных веществ полифенольной природы, в составе которых авторами выделены гликозиды кверцетина, апигенина, изоскутеллярина. Количественная оценка суммарного содержания веществ фенольной природы, с использованием метода Фолина-Чокалтеу показала их наличие в количестве 59,17 мг\г экстракта плодов можжевельника.

Фракция флавоноидов [100] можжевельника способна ограничивать и локализовать течение ряда метаболических заболеваний, включая атеросклероз, артериальную гипертензию и ряд патологических процессов, в основе которых лежит воспалительная реакция. Флавоноиды характеризуются способностью регулировать окислительные процессы в организме и поддерживать функциональное состояние сосудистой системы. Способность влиять на процессы старения делает перспективным использование извлечений из можжевельника для профилактики геронтологических изменений [52, 95, 133].

Анализ научной литературы показал, что на настоящий момент в извлечениях из плодов можжевельника установлено наличие 2-гидроксипропановой, гидроксипентандиовой и 1,3,4,5-тетрагидроксициклогексанкарбоновой органических кислот [52, 110].

Показано наличие в сырье комплекса полисахаридов, с наличием которых связывают иммуномоделирующее действие сырья. Полисахариды можжевельника увеличивают сопротивляемость организма к вирусным и бактериальным инфекциям, поддерживают физиологический иммунный ответ и снижают воспалительные процессы. Для полисахаридов можжевельника также характерна функция пребиотиков, они поддерживают рост полезной микрофлоры кишечника. [141].

Все части растения содержат комплекс витаминов: каротиноиды, аскорбиновую кислоту, витамины группы В, включая В1 (тиамин), В2 (рибофлавин) и В3 (ниацин); витамин Е, что объясняет возможность использования сырья как поливитаминного средства.

Имеются данные, подтверждающие наличие в можжевельнике обыкновенном сапонинов тритерпеновой природы, а также лигнанов.[22, 107].

Таким образом, разнообразный химический состав можжевельника предполагает широкий спектр фармакологической активности лекарственных и косметических средств, полученных на основе его биологически активных комплексов.

1.4. Фармакологические свойства и применение можжевельника в медицинской практике и других отраслях

Можжевельник (*Juniperus*) представляет собой одно из наиболее интересных растений с выраженными лечебными свойствами, которые обусловлены его химическим составом. В фармакологии и фитотерапии используют различные части можжевельника – плоды, хвойные иглы, кору, древесину и смолы. Особенно известны его антисептические, противовоспалительные, мочегонные и анальгезирующие свойства. Множество фармакологических действий, обеспечиваемых его активными веществами (эфирные масла, флавоноиды, терпеноиды, органические кислоты), обосновывают использование можжевельника в лечении различных заболеваний [104].

Антисептическое и антимикробное действие

Одним из главных фармакологических эффектов можжевельника является его антимикробное действие. Эфирные масла, содержащиеся в плодах, хвое и ветвях можжевельника, обладают сильными антимикробными свойствами, что делает его эффективным средством для профилактики и лечения инфекционных заболеваний.

- В составе изопреноидной фракции сырья (*Juniperus communis* L) содержатся α -пинен(2,6,6-триметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен), β -пинен(6,6-Диметил-2-метиленбицикло[3.1.1]гептанПин-2(10)-ен), лимонен(1-метил-4-изопропенилциклогексен-1) и сабинен(4-метилен-1-(1-метилэтил)бицикло[3.1.0]гексан). Для данных соединений установлено наличие выраженной активности в отношении ряда патогенных бактерий, таких как *Staphylococcus*

aureus, *Escherichia coli*, а также противогрибковое и противовирусное действие. В научной литературе приводятся данные, демонстрирующие способность ингибировать рост устойчивых штаммов микроорганизмов, что предоставляет возможность использовать *Juniperus communis* L как перспективное средство для решения проблемы антибиотикорезистентности [116].

- Эфирное масло плодов и хвои находит применение в составе современных аэрозольных и ингаляционных средств для профилактики и терапии заболеваний дыхательных путей, таких как бронхит и ОРВИ, а также для антибактериальной санации воздуха в закрытых помещениях [109]. Также оно часто применяется для устранения неприятных запахов и улучшения качества воздуха в помещениях, благодаря чему создается комфортная и здоровая атмосфера [144].

Кроме того, плоды и хвоя можжевельника используются в народной медицине для наружного применения при кожных инфекциях, воспалениях и при лечении ран, благодаря их способности предотвращать развитие инфекционных процессов [107]. Применение настоев и экстрактов можжевельника способствует ускорению заживления тканей, снижению отечности и уменьшению риска вторичного инфицирования. В практике дерматологии можжевельник рассматривается как перспективное средство для комплексной терапии акне, экземы и других кожных заболеваний, обусловленных бактериальными и грибковыми инфекциями [131].

Исследования подтверждают, что флавоноиды и терпеноиды можжевельника влияют на снижение уровней провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), что делает его важным компонентом при лечении хронических воспалений [101]. В исследованиях польских ученых [140] приведена оценка содержания подофиллотоксина и деоксиподофиллотоксина в извлечениях из хвои 11 видов можжевельника (*Juniperus communis* L., *J. chinensis* L., *J. conferta* Parl., *J. Daurica* Pall., *J. depressa* Raf., *J. horizontalis* Moench., *J. sabina* L., *J. scopulorum* Sarg, *J. squamata* Buch.Ham, *J. virginiana* L., *J. x-media* Melle). В исследовании, проводимом на линии лейкозных клеток для химически чистого

подофиллотоксина, а также для извлечений из хвои *Juniperus communis* L. и *J. scopulorum* Sarg, полученных экстракцией этанолом установлено наличие цитостатической активности.

Имеются данные, характеризующие положительный опыт использования извлечений из сырья можжевельника для лечения воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата [127].

Наиболее подробно изучено мочегонное действие, характерное для извлечений из всех видов сырья можжевельника обыкновенного. Установлено, что водно-спиртовые извлечения из плодов и хвои можжевельника способны существенно увеличивать объем выделяемой мочи, что способствует интенсификации процессов детоксикации организма.

Флавоноиды кверцетин и рутин также положительно влияют на микроциркуляцию, улучшая кровоток в капиллярной сети почек и способствуя доставке необходимых для их работы веществ. Дополнительно они стабилизируют состояние сосудистых стенок, снижая их проницаемость, что предупреждает избыточное накопление жидкости в тканях организма. Такие свойства делают можжевельник полезным не только для мочевыделительной системы, но и для устранения отеков, связанных с другими патологиями [112].

Мочегонное действие можжевельника нашло применение в терапии цистита, пиелонефрита и мочекаменной болезни. В ходе эксперимента крысам перорально вводили настой можжевельника, эмульсию можжевельного масла с добавлением эмульгатора Tween 20 и 0,01 %-ный водный раствор терпенен4-ола в дозе 5 мл/100 г массы тела лабораторного животного для определения влияния на диурез. Наилучший результат был достигнут при использовании настоя плодов можжевельника, введение которого стимулировало существенную мочегонную активность (прирост диуреза + 43 % на второй день; + 44 % на третий день; $p < 0,05$), что позволило авторам предположить наличие сочетанного мочегонного эффекта, обусловленного совместным действием компонентов эфирного масла и веществами гидрофильной природы.

Кроме того, препараты растения эффективно справляются с отеками, возникающими на фоне сердечно-сосудистых заболеваний и гипертонии [132].

Эфирные масла можжевельника проявляют противовоспалительный эффект благодаря своим многосторонним свойствам. Терапевтически значимыми компонентами эфирного масла можжевельника, присутствующими в сырье разных регионов произрастания являются сабинен, камфора и мирцен. Известно, что сабинен (1-изопропил-4-метиленибицилогексан) оказывает противовоспалительное действие, что позволяет использовать его в терапии хронических болевых состояний, присущих патологическим состояниям мышечной и суставной ткани. Камфора(1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-он), проявляет местнораздражающий эффект, способствующий активации кровотока в очагах воспаления, что стимулирует интенсификацию метаболических реакций и скорейшему восстановлению [105]. Мирцен (7-метил-3-метилен-1,6-октадиен) проявляет миолитическое действие, позволяя ослабить болевые ощущения спастической природы. При совместном воздействии компоненты эфирного масла можжевельника обыкновенного проявляют синергический эффект способный подавлять болевой синдром.

Анальгезирующее действие можжевельника издавна применялось в медицине. Так извлечения из плодов можжевельника применяют в различных рецептурах мазей, линиментов, настоек и тд. Данные рецептуры используют в терапии ряда заболеваний опорно-двигательной системы. [131].

Все части растения содержат производные флавоноидов, что позволяет рассматривать сырье, как потенциальный источник средств, способных формировать протекторное действие на клетки, снижая показатель окислительного стресса и предотвращая вредное воздействие на клетки организма свободными радикалами. Научные данные демонстрируют, что длительное применение извлечений из сырья можжевельника способно снижать риск развития хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы и нейродегенеративных расстройств. В ряде исследований указывается на наличие синергического воздействия флавоноидов хвои можжевельника и аскорбиновой кислоты, которая также

присутствует в данном сырье в существенном количестве на общий антиоксидантный эффект [125]. Присущее сырью сосудоукрепляющее и кардиопротекторное действие может быть обусловлено значительным содержанием флавоноидов, таких как рутин и кверцетин, что обуславливает дальнейшее исследование сырья направленное на изучение динамики накопления данных соединений в плодах, хвое и побегах можжевельника и разработке методов стандартизации [119].

Кардиопротективное действие можжевельника заключается в его способности поддерживать нормальное кровяное давление и улучшать общее состояние сердечно-сосудистой системы. Регулярное использование можжевельника в составе лечебных препаратов может способствовать профилактике гипертонии, а также снижению риска осложнений, связанных с этим заболеванием [102].

Применение можжевельника особенно полезно для пациентов с варикозным расширением вен, нарушением микроциркуляции или повышенной ломкостью сосудов. Препараты на его основе, такие как настои, экстракты и мази, широко используются для восстановления тонуса сосудистой стенки и улучшения венозного кровообращения [146].

Анализ антимикробной активности эфирного масла можжевельника обыкновенного проводили в отношении 16 микроорганизмов (грамположительных и грамотрицательных) и одного штамма *Candida albicans*. Наибольшая эффективность исследуемых образцов была выявлена в отношении Золотистого стафилококка и *Streptococcus pyogenes*, а умеренная антимикробная активность в отношении *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, *Corynebacterium spp.* и *Campylobacter jejuni*. Ряд микроорганизмов (*Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter spp.*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*), а также *Candida albicans* показал устойчивость к антимикробной активности можжевельного масла [106].

Интересны результаты исследования [124] гепатопротекторной активности этилацетатного извлечения листьев можжевельника обыкновенного. Извлечение использовалось для купирования повреждения печени, вызванного введением

повреждающих доз парацетамола у крыс-альбиносов линии Вистар. Выявлено, что в группе, получавшей этилацетатное извлечение листьев можжевельника, наблюдается значительное снижение уровня аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови, общего билирубина, прямого билирубина и щелочной фосфатазы по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о наличии у можжевельника гепатопротекторного действия.

Препараты на основе плодов можжевельника

В Российской Федерации плоды можжевельника обыкновенного «Можжевельника плоды» являются официальным лекарственным средством, которые в виде водного настоя в составе урологических сборов рекомендуются в качестве диуретического, антимикробного и противовоспалительного средства.

Экстракты и настойки плодов можжевельника обыкновенного являются богатым источником биологически активных веществ. Эти экстракты широко используются в медицинской практике благодаря своим выраженным мочегонным, антисептическим и противовоспалительным свойствам. Экстракт плодов можжевельника может быть представлен в виде сухой или жидкой формы. Его основной компонент – эфирное масло, содержащее монотерпены, обладающие антимикробными и противовоспалительными свойствами. Кроме того, в составе экстракта содержатся флавоноиды, которые укрепляют стенки сосудов и обладают антиоксидантной активностью. Экстракт плодов можжевельника применяется при заболеваниях мочевыводящих путей, таких как цистит, пиелонефрит и мочекаменная болезнь. Препарат способствует улучшению оттока мочи и снижению воспаления [108].

Эфирное масло можжевельника обыкновенного получают из плодов и хвои растения. Благодаря своему уникальному составу, оно обладает выраженными антисептическими, противовоспалительными, анальгезирующими и мочегонными свойствами, что делает его востребованным в медицине, косметологии и ароматерапии. Эфирное масло можжевельника используется, как самостоятельное средство, так и в составе комплексных препаратов и смесей для наружного применения [111].

Эфирное масло можжевельника используется при заболеваниях дыхательных путей: ингаляции с маслом эффективны при бронхите, простуде, гриппе и других респираторных инфекциях [116].

При заболеваниях почек и мочевого пузыря: эфирное масло обладает мягким мочегонным эффектом, помогая выводить лишнюю жидкость и снижать отеки [98].

При болях в суставах и мышцах: масло применяется для массажа, что способствует улучшению кровообращения, снятию воспаления и болевого синдрома при артрите, ревматизме и растяжениях [33].

Использование масла можжевельника в ароматерапии создает успокаивающую атмосферу, помогает снять стресс, улучшить сон и повысить иммунитет [16].

Экстракты и эфирное масло можжевельника широко используется в составе комбинированных фитопрепаратов. Эти препараты включают экстракты других растений, обладающих схожими фармакологическими свойствами, что позволяет усилить терапевтический эффект. Среди наиболее часто используемых дополнительных компонентов можно выделить золотарник, толокнянку, подорожник, шиповник, мяту и другие лекарственные растения. Такие комбинированные препараты применяются для лечения и профилактики урологических заболеваний.

Фитонейрол (Россия) [Акционерное общество «Красногорские лекарственные средства» (АО «Красногорсклексредства»)] многокомпонентный фитопрепарат, включающий экстракты можжевельника, толокнянки, шиповника, календулы и других растений; оказывает мягкое мочегонное и спазмолитическое действие, что делает его эффективным при циститах, пиелонефрите и в профилактических целях.

ГРЛС включает комплексный растительный препарат цистон производства Индии, содержащий экстракт можжевельника обыкновенного, который применяется для профилактики и лечения мочекаменной болезни. Цистон способствует растворению и выведению камней, снижает воспаление и улучшает общее состояние мочевыводящей системы [51].

Мази, бальзамы, гели и кремы с экстрактом можжевельника являются популярными средствами для местного применения, используемыми как в медицинских, так и косметических целях. Наличие в этих продуктах комплекса БАВ, выделяемых из плодов или хвои можжевельника обыкновенного обуславливает наличие анальгизирующего, противовоспалительное, и регенерирующего действия. Данные средства при регулярном использовании способны оказывать достаточно быстрое и длительное действие, способное стабилизировать состояние кожи, мышц и суставов [47].

Очевидно, что содержание в сырье можжевельника различных по полярности групп БАВ, включая производные изопренов в составе эфирного масла и многочисленные производные полифенолов, позволяет рассматривать плоды, хвою и побеги можжевельника как возможное сырье для производства средств, используемых в различных направлениях терапевтической практики, таких как

урология, кардиология, дерматология, а также для общего укрепления организма. Учитывая многовековой опыт использования сырья можжевельника в медицинской практике, а также последние данные научной литературы, характеризующей его состав и фармакологические свойства, по-прежнему, актуальным остается интерес к разработке методов анализа и стандартизации данного сырья. Вопросы стандартизации сырья можжевельника требуют усовершенствованных подходов, позволяющих оценивать содержание в плодах, хвое и побегах, как веществ гидрофобной, так и гидрофильной природы, поскольку их совокупное присутствие и обуславливает сочетанное, разнообразное фармакологическое действие.

Проблема осложняется еще и тем, что многие производители применяют различные способы переработки плодов и хвои можжевельника, что способствует изменчивости состава и, как следствие, выраженности фармакологического действия получаемых на основе данного сырья средств. Данный факт несомненно препятствует использованию растительных средств, содержащих извлечения из можжевельника в широкой терапевтической практике и снижает доверие медицинского сообщества к средствам растительного происхождения в целом.

1.5. Выводы к Главе 1

1. Проведено обобщение основных ботанических характеристик растения *Juniperus communis* L. В контексте диагностики семейства и рода, в ходе которого приведены специфические особенности строения, ареала произрастания, способов заготовки и возможности культивирования данного растения.

2. Установлено, что не смотря на недостаточную сырьевую базу, представленную как дикорастущими, так и культивируемыми растениями в следствии использования в качестве фармакопейного сырья только плодов можжевельника *Juniperi fructus*, потенциал данного растения используется ограничено. Нормативная документация на хвою и побеги можжевельника отсутствует, что определяет невозможность использования их в широкой медицинской практике.

3. Состав БАВ хвои и побегов можжевельника обыкновенного изучен недостаточно, более детальное изучение компонентов эфирного масла данного сырья демонстрирует связь состава терпеноидов с местом произрастания и существенно различается для регионов с умеренным и субтропическим климатом.

4. Растения рода *Juniperus* относятся к старейшим лекарственным растениям и использовались как в народной медицине, так и официальной медицине прошлых веков. Однако, в настоящее время медицинское применение сырья ограничено.

5. Проведенный информационно-аналитический поиск русскоязычных и англоязычных научных публикаций с использованием баз данных eLibrary, PubMed\MEDLINE, CYBERLENINCA продемонстрировал, что в ходе современных исследований особенностей фармакологического действия сырья можжевельника, подтверждены как исторические, так и новые аспекты, позволяющие рекомендовать указанное сырье в качестве диуретического, противовирусного, противомикробного, антиоксидантного, противоопухолевого средства [52].

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования, их характеристика

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-теневым 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 водные и спирто-водные извлечения из плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного приготовленные по ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары» ГФ РФ XV издания.

Стандартными образцами являлись коммерчески доступные соответствующие индивидуальные вещества, реализуемые на российском рынке [80].

2.2. Макроскопический и микроскопический анализ

При макроскопическом изучении использовалось указанное сухое лекарственное растительное сырье по методике ГФ РФ XV ОФС.1.5.1.0002 «Травы» ГФ РФ XIV, ОФС.1.5.1.0003 «Листья» [80]. Микропрепараты для выявления анатомо-диагностических признаков получали в соответствии с требованием ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» 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.

2.3. Идентификация лекарственного растительного сырья и его фитохимический анализ

2.3.1. Экстрактивные вещества

Предварительный количественный анализ, а также выбор последующих условий экстрагирования биологически активных веществ из сырья плоды, хвоя, побеги можжевельника обыкновенного проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Образцы сырья для исследований измельчались по размеру частиц, проходящих сквозь сито 7, 5, 3, 2, 1 мм. В качестве экстрагента использовали воду очищенную, спирт этиловый разной концентрации, хлороформ, ацетонитрил [65, 80].

2.3.2. Дубильные вещества

Для выявления веществ в лекарственном растительном сырье нами были использованы качественные реакции, широко применяемые для идентификации дубильных веществ (реакции с железоаммонийными квасцами, раствором желатина, раствора хинина и антипирина, бромной водой [6, 51]. Также качественный состав соединений, относящихся к группе дубильных веществ, проводили методом ТСХ.

Для исследования дубильных веществ плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного применялись пластины с закрепленным слоем силикагеля «Kromafil» Merck (размером 20x10 см, с размером частиц 5-17 мкм).

В качестве подвижной фазы была хроматографическая система: н-бутанол – уксусная кислота – вода в соотношении 40:12:28, проявившая наибольшую эффективность при разделении полифенольных соединений по данным литературы [2, 3, 4, 80]. Хроматографическую систему выстаивали в хроматографической камере в течение суток для насыщения [35, 58, 86, 90].

Для идентификации дубильных веществ использовались водные извлечения из исследуемого сырья. Точную навеску по 1 г плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного нагревали в воде очищенной ФС.2.2.0020 «Вода очищенная» $V = 50$ мл на кипящей водяной бане 30 минут с обратным холодильником, после чего доводили до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр. Для получения исследуемого раствора полученные извлечения доводили водой очищенной до исходного объема.

В качестве стандартных образцов нами использовались пирогаллол (ЧДА CAS 87-66-1; ТУ 6-09-4745-79; Индия), галловая кислота (CAS 149-91-7; Китай), танин (CAS 1401-55-4; Китай). Растворы стандартных образцов для хроматографического анализа готовили в 70 % спирте этиловом [52].

На линию старта хроматографической пластинки наносились извлечения из побегов хвои и плодов можжевельника объемом 5 мкл, также растворы сравнения равным объемом. Хроматографические пластинки высушивали до полного высушивания после чего их помещали в камеры с системой растворителей и хроматографировали восходящим методом.

Пластинки сушились в вытяжном шкафу до полного испарения растворителей. Детектирование индивидуальных зон абсорбции полифенольных компонентов проводили путем просмотра хроматограмм в УФ свете при длине волны 254 нм на приборе САМАГ, а также после обработки раствором железа хлорида (III) 1 % в спирте этиловом 96 % [80].

Количественное определение дубильных веществ осуществляли в соответствии с ГФ РФ XIV издания, ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье

и лекарственных растительных препаратах», метод 1 – титрование перманганатометрическое, индикатор метода – раствор индигосульфокислоты.

Титрование проводили раствором 0,02 М калия перманганата до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно был проведен контрольный опыт.

Для расчетов использовалась формула:

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

V – объем раствора $KMnO_4$ 0,02 М, пошедшего на титрование извлечения, мл;
 V_1 – объем раствора $KMnO_4$ концентрацией 0,02 М, пошедшего на титрование в контрольном опыте, мл; 0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл раствора калия перманганата 0,02 М (в пересчете на танин), г; a – навеска сырья, г; W – влажность растительного сырья, %; 250 – общий объем водного извлечения, мл; 25 – объем водного извлечения, пошедшего для титрования, мл.

Метод Фолина–Чокальтеу

В настоящем исследовании применялись этанольные экстракты, полученные из исследуемого сырья можжевельника обыкновенного (*Juniperi communis* L.), а также растворы галловой кислоты, (-)-эпикатехина и рутина.

Экстракция фенольных соединений осуществлялась с применением 96 %-ного этанола из высушенного и предварительно измельченного растительного материала в течение 45 минут при температуре 45 °С. Полученное извлечение с сырьем центрифугировали при 16000 об./мин в течение 2 минут, после чего надосадочная жидкость отделялась и использовалась для определения суммарного содержания фенольных соединений с применением реактива Фолина–Чокальтеу. Содержание фенольных соединений выражалось в миллиграммах эквивалента галловой кислоты на грамм сырья.

Растворы галловой кислоты, рутина и (-)-эпикатехина готовились путем разведения коммерческих препаратов («Serva», Германия) в 96 %-ном этаноле в диапазоне концентраций 10-150 мкг/мл. Указанные растворы использовались

для построения калибровочных графиков с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [142].

Спектры поглощения продуктов реакции, образующихся в результате взаимодействия реактива Фолина-Чокальтеу с галловой кислотой, (-)-эпикатехином, рутином, а также с этанольными извлечениями из хвои, побегов и плодов можжевельника обыкновенного фиксировались длине волн 600-900 нм. В процессе проведения экспериментов использовался прибор «Specord-40» (Германия).

Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением программного обеспечения Microsoft Excel 2010 и SigmaPlot 12.2. Представленные в таблице данные включают средние арифметические значения измерений и их стандартные ошибки. Достоверность различий между средними значениями оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0,050$ [94].

Методы [139] приготовления реактива Фолина-Чокальтеу и выполнение анализа: в круглодонную колбу объемом 200 мл помещали 5 г $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и 1,25 г $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, добавляли 35 мл воды и тщательно перемешивали. К полученному раствору добавляли 2,5 мл 85 %-ного раствора фосфорной кислоты и 5 мл концентрированной HCl (х.ч.). Колбу соединяли с обратным холодильником и нагревали смесь до кипения в течение 10 часов. После этого в раствор вводили 7,5 г Li_2SO_4 , 5 мл воды и одну каплю брома. Полученный раствор перемешивали и нагревали до полного удаления брома. После охлаждения объем раствора доводили водой до 50 мл, фильтровали и разводили водой до получения 1 Н. раствора кислоты. Кислотность полученного раствора определяли титрованием 0,1 н раствором NaOH в присутствии фенолфталеина.

Для анализа смешивали 5,0 мл водного раствора реактива Фолина-Чокальтеу, предварительно разбавленного в соотношении 1:10, добавляли 1,0 мл экстракта и 4,0 мл 7,5%-ного раствора карбоната натрия. Полученную смесь выдерживали в течение 60 минут при комнатной температуре. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре «Specord-40» (Германия) при длине волны 765 нм.

Содержание полифенольных соединений рассчитывали в эквивалентах рутина, тимола, галловой и протокатехиновой кислот на основе данных калибровочных кривых.

2.3.3. Органические кислоты

По данным научной литературы в последние годы интерес исследователей вызывает изучение состава органических кислот в лекарственном растительном сырье [123], что обусловлено высокой активностью органических кислот в метаболизме организма, широкому спектру их биологической активности, включая антисептическое и противовоспалительное действия (бензойная и салициловая кислоты), желчегонное (лимонная и яблочная кислоты), антиоксидантное (аскорбиновая, лимонная и яблочные кислоты и др.) [44, 45, 84, 122, 128, 129, 135] Присутствие слабых органических кислот, содержащихся в лекарственном растительном сырье, способствует сдвигу рН в щелочную сторону, экскреции уратов из организма, способствует пищеварению. При этом избыточное содержание щавелевой кислоты в организме может способствовать развитию мочекаменной болезни, ускорению формирования кристаллов оксалатов [113].

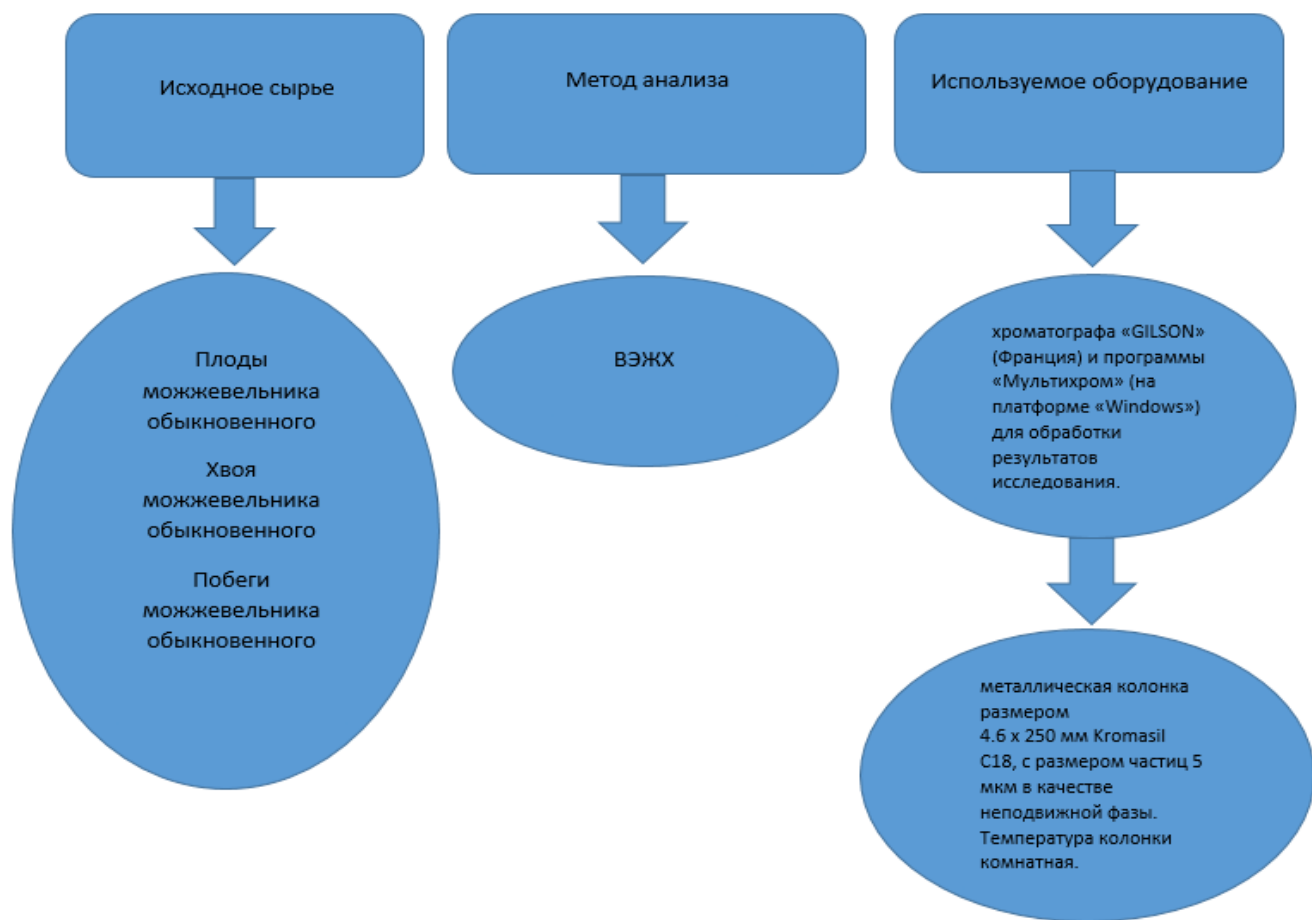


Рисунок 7 – Схема аппаратного процесса в анализе органических кислот сырья можжевельника обыкновенного

Скорость подачи элюента 1 мл/мин, время анализа составляло 20 минут. Обнаружение проводилось УФ-детектором при длине волны 210 нм [80].

Исследование проводили для водного извлечения плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного: брали точную навеску измельченного сырья (размер частиц не более 3 мм) 2,0 г помещали в колбу $V = 200$ мл, прибавляли воды очищенной $V = 70$ мл, присоединяли к обратному холодильнику. Нагревание проводили на кипящей водяной бане в течение 1 часа. Затем смесь охлаждали, фильтровали в мерную колбу $V = 100$ мл через бумажный фильтр, доводили объём до метки водой (исследуемый раствор).

Готовили серию растворов сравнения стандартных образцов органических кислот: кислоты янтарной (ГОСТ 6341-75, Россия), кислоты щавелевой (ГОСТ 22180-76, Россия), кислоты винной (ГОСТ 5817-77, Россия), кислоты лимонной

гидрата (ГОСТ 3652-69, Россия), кислоты яблочной (CAS 6915-15-7), галловой кислоты (CAS 149-91-7; Китай).

По 0,025 г аскорбиновой, лимонной, щавелевой, яблочной (маликовой), янтарной, виннокаменной, галловой кислот помещали в мерную колбу $V = 50$ мл, растворяли в 70 % этанола $V = 25$ мл и доводили тем же растворителем до метки.

Исследуемый раствор $V = 20$ мкл и растворы сравнения органических кислот по $V = 20$ мкл вводили в хроматограф и хроматографировали по вышеприведенной методике.

Количественное определение органических кислот проводили методом, описанным выше с расчетом площади пиков.

Для извлечения суммы органических кислот из лекарственного, а также пищевого растительного сырья была использована вода очищенная. Методика анализа – метод алкалиметрического титрования по ОФС ГФ XV ФС.2.5.0106 (Шиповника плоды) с использованием в качестве индикатора смеси фенолфталеина и метиленового синего.

2.3.4. Флавоноиды

Предварительный анализ сырья на присутствие веществ флавоноидной природы проводили с использованием наиболее часто применяемых качественных реакций, включая цианидиновую пробу, реакцию раскрытия флавоноидного цикла с образованием халкона в присутствии концентрированного раствора натрия гидроксида, борно-лимонную реакцию и реакцию со спиртовым раствором хлорида алюминия. Результаты всех реакций оказались положительными, что обуславливает необходимость дальнейшего исследования качественного состава флавоноидов [91]. Анализ состава флавоноидов проводили методом ТСХ, характеристики которого представлены на Рисунке 8.

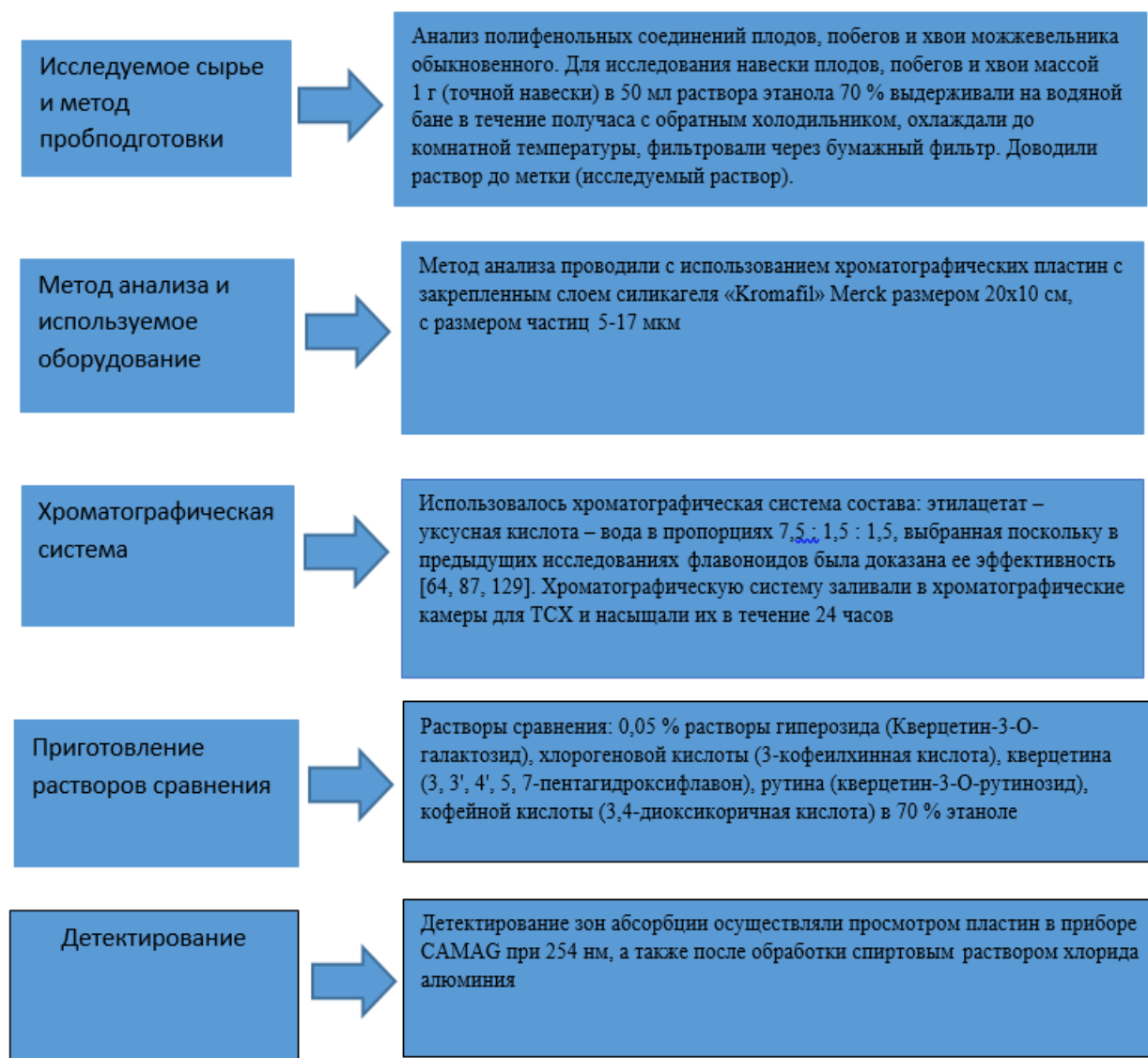


Рисунок 8 – Схема характеристики методов ТСХ, используемого для качественного анализа флавоноидов

Качественный состав флавоноидов (агликонов и гликозидов) в плодах, побегах и хвое можжевельника обыкновенного также проводили методом ВЭЖХ, характеристики которого приводятся на Рисунке 8.

Условия хроматографирования: хроматографическая колонка 250×4,6 Phenomenex Luna 5 мкм C18(2); сорбент – октадецилсиликагель (5 мкм); скорость подачи подвижной фазы 1,0 см³/мин; УФ-детектирование, $\lambda = 365$ нм. Объем вводимой пробы 20 мкл [80].

Элюент – 68 % раствор трихлоруксусной кислоты (рН 2,5) и 32 % ацетонитрила [71, 80].

Определение флавоновых гликозидов и флавоноловых агликонов проводилось по сравнению времени удерживания стандартов данных веществ [71, 80].

Схема Количественного определения суммы флавоноидов в можжевельнике обыкновенном определяемая методом в пересчете на рутин [27], представлена на Рисунке 9.

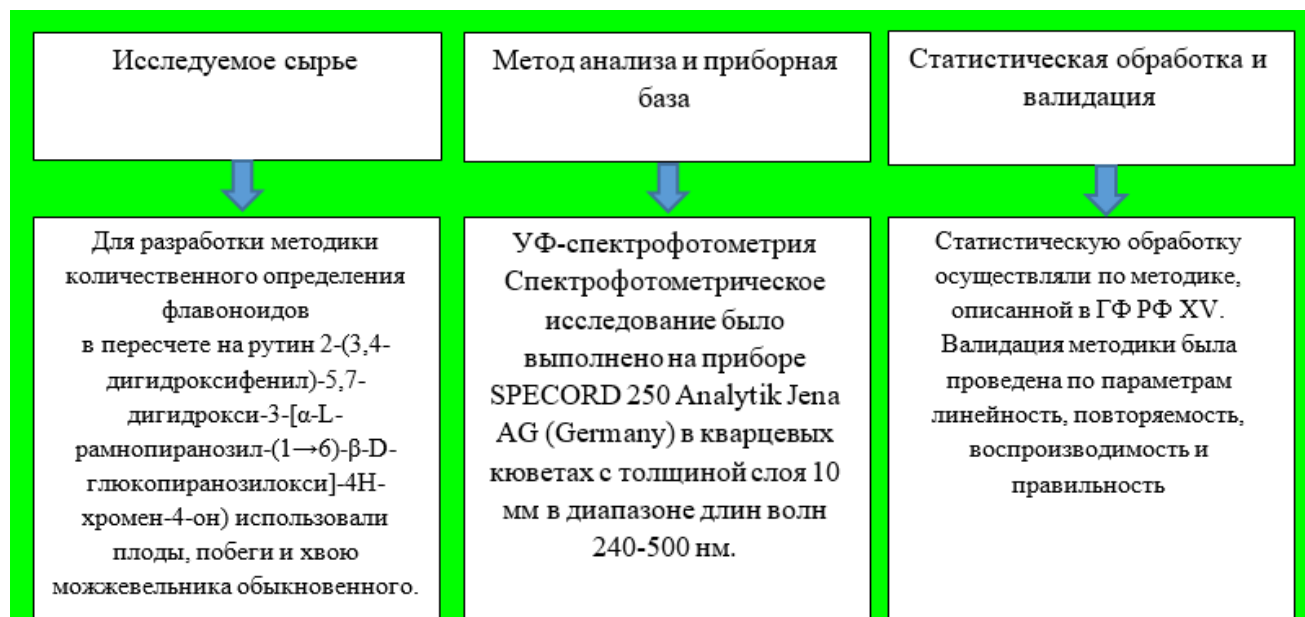


Рисунок 9 – Схема Количественного определения суммы флавоноидов в можжевельнике обыкновенном определяемая методом в пересчете на рутин [9, 10, 20, 55, 62, 63, 64, 69, 80]

От исследуемого сырья брали точную навеску, измельчали до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 2 мм, помещали в коническую колбу емкостью 200 мл, добавляли 100 мл спирта этилового и взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г. Далее колбу с сырьем и экстрагентом присоединяли к обратному холодильнику, нагревали на водяной бане в течение получаса при постоянном помешивании. После охлаждения растворы взвешивали и доливали спирт этиловый до необходимой массы. Далее фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 100 мл, отбрасывая первые 10 мл извлечения (раствор А). В 2 мерные колбы объемом 25 мл помещали раствора А по 1 мл, в первую прибавляли 2 мл раствора хлорида алюминия 2 %

спиртового, 0,1 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, доводили объем до метки этанолом 96 %, перемешивали (раствор Б) и оставляли в течение 25-30 минут. В качестве раствора сравнения использовали раствор из первой колбы без добавления раствора хлорида алюминия. Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре «Specord-40» (Германия) при длине волны 410 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм [51, 110].

Одновременно определяли оптическую плотность полученного раствора комплекса, полученного в результате взаимодействия стандартного образца рутина с $AlCl_3$.

Содержание суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) рассчитывали по формуле [40]:

$$X, \% = \frac{A * 100 * 25 * 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} * a * 2 * (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность раствора Б; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения рутина при длине волны 410 нм равный 248; a – навеска сырья, г; 2 – объем извлечения, взятый для анализа раствора Б; W – влагосодержание, %.

2.3.5. Гидроксикоричные кислоты

Для определения фенолкарбоновых кислот методом ВЭЖХ-МС применяют обращённо-фазовый режим элюирования с типичными для масс-спектрометрии подвижными фазами [36, 54, 66]. Анализ образцов методом ВЭЖХ проводили с использованием жидкостного хроматографа Acquity UPLC H-Class PLUS System (Waters, США) с масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения G3 QToF (Waters, США). Использовали обращённо-фазовую колонку Acclaim RSLC C18 (150 мм×3 мм, 3 мкм); Элюент А: 0,1 % муравьиная кислота в воде; Элюент Б: ацетонитрил. Скорость потока элюента: 0,4 мл/мин. В методике использовалось градиентное элюирование с возрастанием доли ацетонитрила, применяемого в качестве элюента в режиме от 5 до 97% в течение 240 секунд. . Характеристика

параметров методики изложена ранее [5]. Пробы вводили в объеме 1 мкл, что позволило избежать загрязнения системы, которое могло быть вызвано использованием интенсивно окрашенных объектов исследования.

Это позволяло избежать эффектов самоэлюирования для 100%-этанольных растворов в условиях начала градиента с большой доли водной фазы. При данном объеме ввода пики на хроматограмме имели хорошую форму и максимальную интенсивность. В конце градиента высокое содержание ацетонитрила (97 %) в подвижной фазе выдерживали 5 минут для полной очистки колонки от возможных сильно удерживаемых компонентов. Анализ образцов проводили в режиме регистрации отрицательных и положительных ионов. При сравнении результатов интенсивность пиков определяемых фенолкарбоновых кислот в режиме регистрации отрицательных ионов была ожидаемо выше в силу их кислотной природы. На полученных в режиме сканирования хроматограммах экстрактов идентифицировали фенолкарбоновые кислоты по отношению массы молекулярного аниона к заряду. Для найденного отношения m/z применяли программу автоматического подбора элементного состава. По молекулярному аниону $[M]$ - (ошибка определения точного значения массы не превышала 4 млн – 1) и молекулярной формуле делали вывод о соотношении пика на хроматограмме с фенолкарбоновой кислотой. При данном подходе невозможно различить структурные изомеры, у которых одна и та же молекулярная масса и формула. Для определения конкретных изомеров и подтверждения достоверности идентификации были проанализированы стандарты (реактивы) некоторых фенолкарбоновых кислот: салициловой, п-гидроксibenзойной, галловой, кумаровой и феруловой. Времена удерживания стандартных веществ совпадали с ранее определёнными фенолкарбоновыми кислотами в экстрактах. Для кислот, для которых не было стандартов, в таблице приведены, на наш взгляд, наиболее вероятные примеры, которые соответствуют $[M]$ – и молекулярной формуле, многие из которых определены в сырье впервые.

Количественное определение суммарного содержания гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту проводили методом

УФ-спектрофотометрии. Около 1 г (точная навеска) изучаемого сырья переносили в колбу конической формы (200 мл), после чего заливали весь рассчитанный экстрагент. Затем колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали при умеренном кипении на водяной бане в течение 30 минут. Извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу емкостью 100 мл. Растворы разводили до метки этанолом соответствующей концентрации (раствор А). 1 мл раствора А помещали в колбу объемом 25 мл и доводили объем до метки соответствующим раствором этанола и перемешивали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре Spesord при длине волны 325 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали спирт 70%. Gallic acid (anhydrous) CAS: 149-91-7;) выступала в качестве стандарта [80]. Расчет фенолкарбоновых кислот (в пересчете на Gallic acid) проводили используя формулу:

$$X, \% = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot \alpha \cdot (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность раствора Б; 100 и 25 – мерные колбы (рабочий объем), мл; $A_{1\%}^{1\text{см}}$ – удельный показатель поглощения галловой кислоты при длине волны 330 нм, равный 507; а – навеска сырья, г; 1 – объем извлечения, взятый для анализа, мл; W – влагосодержание, %.

2.3.6. Полисахариды

Идентификацию веществ полисахаридной природы осуществляли, используя качественные фармакопейные реакции.

Для оценки содержания полисахаридов в сырье можжевельника обыкновенного использовали метод гравиметрического определения по методике ФС 2.5.0032.15 «Подорожника большого листа» [80].

Полисахариды – высокомолекулярные продукты конденсации более 10 моносахаридов и их производных, связанных друг с другом О-гликозидными

мостиками. Полисахариды в зависимости от характера входящих в их состав моносахаридов и их производных могут быть разделены на два типа: гомополисахариды (построенные из моносахаридных единиц одного типа) и гетерополисахариды (построенные из остатков различных моносахаридов). Наиболее часто в составе полисахаридов встречаются из гексоз – глюкоза, фруктоза; из продуктов окисления моносахаридов – глюкороновая кислота и др. Типичным представителем гетерополисахаридов является инулин.

Полисахариды являются аморфными веществами, растворимыми в воде и нерастворимыми в органических растворителях; под воздействием кислотного или ферментативного гидролиза образуют моносахариды.

В соответствии с указанными свойствами определение содержания полисахаридов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения может быть осуществлено следующими методами:

- гравиметрии
- спектрофотометрии в видимой области спектра в соответствии с требованиями ГФ XV ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

2.3.7. Определение эфирного масла

Идентификацию эфирного масла в сырье осуществляли, поместив навески измельченных плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного в пробирку, снабженную газоотводной трубкой, с добавлением 3 мл воды очищенной. Конец газоотводной трубки помещали в лабораторный приемник, находящийся внутри лабораторного стакана, заполненного льдом. Жидкость в первой пробирке нагревали до кипения до тех пор, пока не образовывалось 1-2 мл дистиллята в приемнике. Половину дистиллята из каждого образца переносили в две пробирки, в которые добавляли 1-2 капли бромной воды или 1-2 капли 2 % раствора калия перманганата. Проведенные реакции продемонстрировали положительный

результат, что определило необходимость проведения хроматографических исследований компонентов эфирного масла, а также проведение количественной его оценки в образцах.

Анализ компонентов дистиллята методом ТСХ проводили на пластинках «Silufol» закрепленным слоем сорбента, используя в качестве подвижной фазы этилацетат – н-гексан; 3:17. В качестве стандартных образцов была использована камфора рацемическая. Детектирование проводили, опрыскивая хроматограммы раствором ванилина в серной кислоте 50 %. Также нами использовался метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ), широко применяемый для изучения сложных смесей терпеновых соединений [16, 24, 32, 34, 38, 39, 68, 78, 79].

Для газохроматографических экспериментов использовали систему 8890 GC System (Agilent, США), снабженную одноквадрупольным масс-селективным детектором 5977B (Agilent, США), турбомолекулярным насосом и термодесорбером Thermal Desorption Unit TDU-2 (Gerstel, Германия). Условия термодесорбции: скорость потока продувочного газа – 150 мл/мин, время десорбции соединений с сорбера – 30 мин, температура криоловушки во время сорбции соединений -10°C , десорбции 320°C , время десорбции веществ с криоловушки – 5 мин, температура переходной линии 290°C . ГХ/МС-условия: ввод пробы с делением потока 1:20, подвижная фаза – He, скорость потока элюента – 1 мл/мин. Температурный профиль термостата колонки: 40°C (5 мин), нагрев с 40 до 270°C со скоростью $8^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Температура ионного источника 230°C . Для разделения соединений использовали колонку HP-5MS (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм). Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения MassHunter (Agilent, США). Диапазон сканирования масс 50-1000 m/z.

В качестве сорбентов для пассивной сорбции использовали монолитный композит SiC (марки M4) и бутадиен-нитрильного каучука (БНК) в соотношении 3:1 (НИТУ «МИСиС», Россия), показавшие ранее хорошие результаты при сорбции летучих органических соединений. Сорбцию проводили подвешиванием

сорбционного материала над образцом (примерно 1 г) в стеклянном закрытом сосуде при комнатной температуре в течение 48 часов.

Количественная оценка содержания эфирного масла в сырье проводилась в соответствии с ОФС.1.5.3.0010.15 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Нами использовался Метод 1, применяемый для определения эфирного масла в лекарственном растительном сырье, содержащем значительную массовую долю эфирного масла, или если имеется возможность отобрать для анализа достаточно большую навеску. Данный метод применим для оценки содержания эфирного масла в сырье можжевельника обыкновенного, согласно имеющимся литературным данным, демонстрирующим термостабильность терпеноидов можжевельника.

Объем эфирного масла в градуированной части приемника измеряют после окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры. После 6-8 определений холодильник и градуированный приемник необходимо промыть последовательно ацетоном и водой.

Содержание эфирного масла в абсолютно сухом сырье в массо-объемных процентах (X) вычисляют по формуле [26]:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot (100 - W)}$$

где V – объем эфирного масла, мл;

a – навеска лекарственного растительного сырья/препарата, г;

W – влажность лекарственного растительного сырья/препарата, %.

2.3.8. Определение каротиноидов и хлорофилла

Объектом нашего исследования являлась хвоя можжевельника, заготовленная от образцов растений, культивируемых в Ботаническом саду Сеченовского университета, а также дикорастущих кустарников, произрастающих

в подлеске лесов Московской и Тверской областей. Заготовку сырья проводили в соответствии с рекомендациями государственной фармакопеи Российской Федерации - XV издания. Сушка сырья осуществлялась в сушильном шкафу в изотермическом режиме при 35С. Высушенное сырье измельчали на лабораторной мельнице ЛМ 2001 до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 2 мм. Идентификацию пигментов в исследуемом сырье осуществляли методом ТСХ. Пробоподготовка включала извлечение гидрофильных веществ из сырья водой очищенной при нагревании на водяной бане с обратным холодильником. Водное извлечение отбрасывалось, а остаток сырья использовался для извлечения пигментов 96 % спиртом этиловым на кипящей водяной бане с обратным холодильником. Качественный состав пигментов хвои можжевельника проводили на пластинках Silufol (Чехия), с использованием подвижной фазы гексан - изопропиловый спирт - раствор натрия карбоната водный (50:5:0,25), традиционно используемой при изучении хлорофиллов и каротиноидов в различных видах растительного сырья [8, 17, 28, 43, 50, 60, 85, 88, 99, 120]. В качестве стандартных образцов были использованы β -каротин (CAS 7235-40-7; Alfa Aesar) и хлорофилл α (CAS 479-61-8; Sigma-Aldrich).

Содержание хлорофиллов оценивали в трех аналитических повторностях методом прямой спектрофотометрии в исследуемых извлечениях при длинах волн 649, 664 и 470 нм на спектрофотометре SPECORD 50 plus. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 96%.

Для определения суммарного содержания каротиноидов точную навеску сырья 2 г заливали гексаном и настаивали при перемешивании в течение 30 минут. Экстракцию повторяли трижды. Оптическую плотность объединенных извлечений определяли при 470 нм. Раствором сравнения служил гексан (ЧДА) (CAS :110-54-3; ТУ 2631-158-44493179-13).

Определение содержания сумм каротиноидов и хлорофиллов исследуемого сырья осуществляли методом прямой спектрофотометрии. Пробоподготовка соответствовала, описанной нами ранее [57].

Расчет осуществляли по формулам, представленным на Рисунке 10.

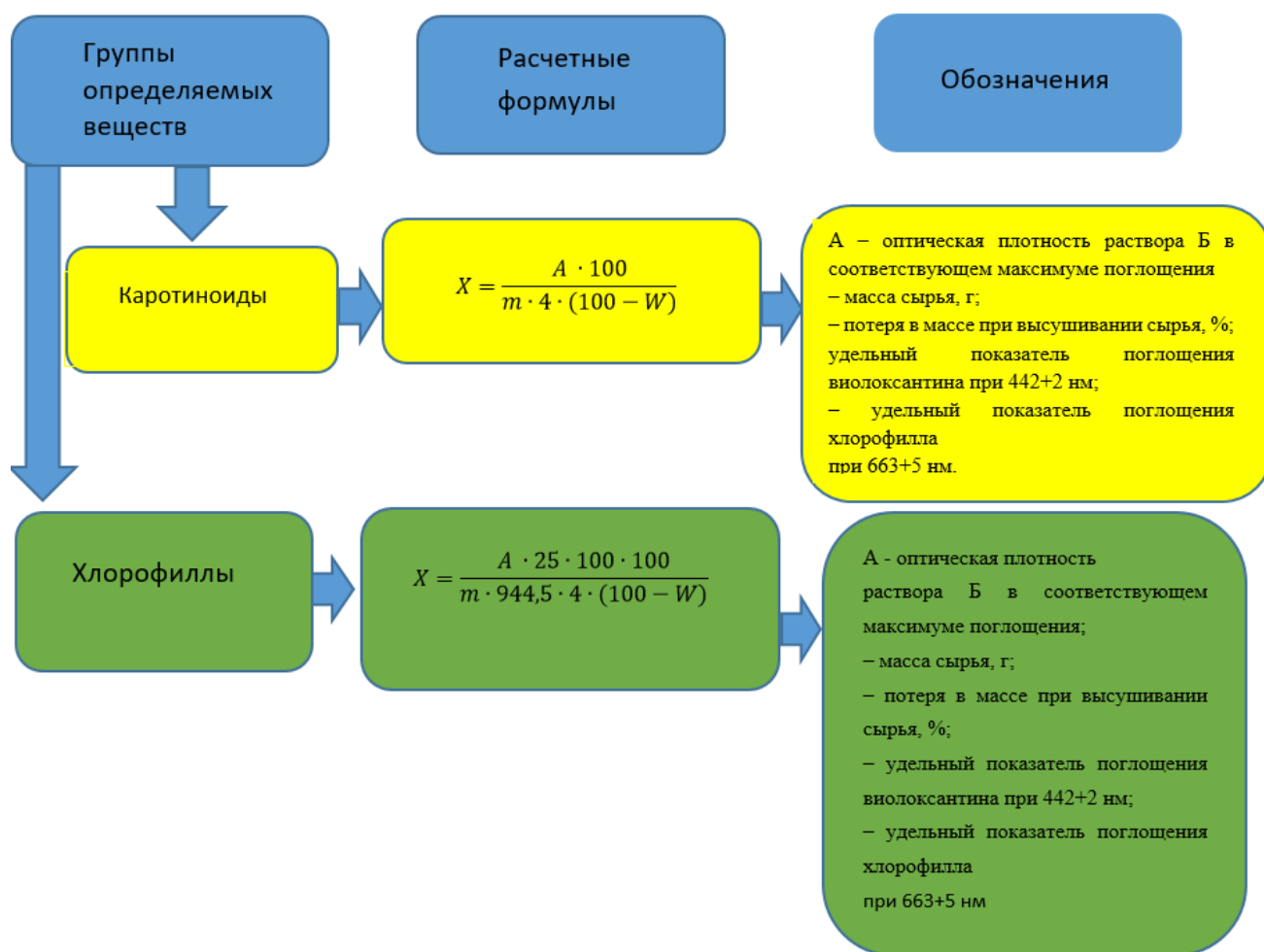


Рисунок 10 – Формулы, используемые для расчетов каротиноидов и хлорофиллов в методиках спектрофотометрического определения [51, 87, 103]

2.3.9. Минеральный состав

В последние годы интерес исследований вызывает изучение элементного состава лекарственного растительного сырья и определение количества и состава микроэлементов, вносящих вклад в суммарный фармакологический эффект лекарственного растительного сырья, а также определяющих его экологическую безопасность [19, 41, 56, 97, 114, 115, 145].

Озоление, предварительно измельченных плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного проводили в муфельной печи. В температурном интервале 450-500 °С в течение 120 минут при свободном доступе воздуха. Для измельчения сырье высушивали в изотермическом режиме после чего плоды, хвоя,

побеги можжевельника обыкновенного измельчали методом прямого ножевого удара с использованием мельницы ЛМ-202 (Плаун, Москва, Россия) в течение 120 секунд. В ходе побоподготовки соблюдался температурный режим до 30°C. Измельченное сырье, представляющее собой гомогенную массу грязно-фиолетового (плоды), зеленого(хвоя) или бурого(побеги) цвета просеивали через нейлоновое сито [13, 80]. Характеристика прибора, используемого в предлагаемой методике представлена на Рисунке 11.

Используемый прибор	Энергодисперсионном рентгено-флуоресцентном спектрометре EDX-7000 Shimadzu (Shimadzu Corporation, Киото, Япония)
Диапазон измеряемых элементов	^{11}Na - ^{92}U
Генератор	рентгеновский генератор – трубка с Rh-анодом
Охлаждение	воздушное охлаждение
Напряжение	4-50 кВ
Ток	1-1000 мкА
Облучаемая площадь	окружность диаметром 10 мм
Детектор	кремниевый дрейфовый детектор (SDD)
Метод подсчета	цифровой счетный фильтр
Содержание элементов	по значению интенсивности
Смена фильтров	Автоматическая смена фильтров выделяющих длины волн соответствующих элементов
Размер камеры	300 мм x 275 мм x 100 мм

Рисунок 11 – Характеристики энергии квантов рентгеновской эмиссии для определяемых в сырье элементов в используемой методике приведены на рисунке

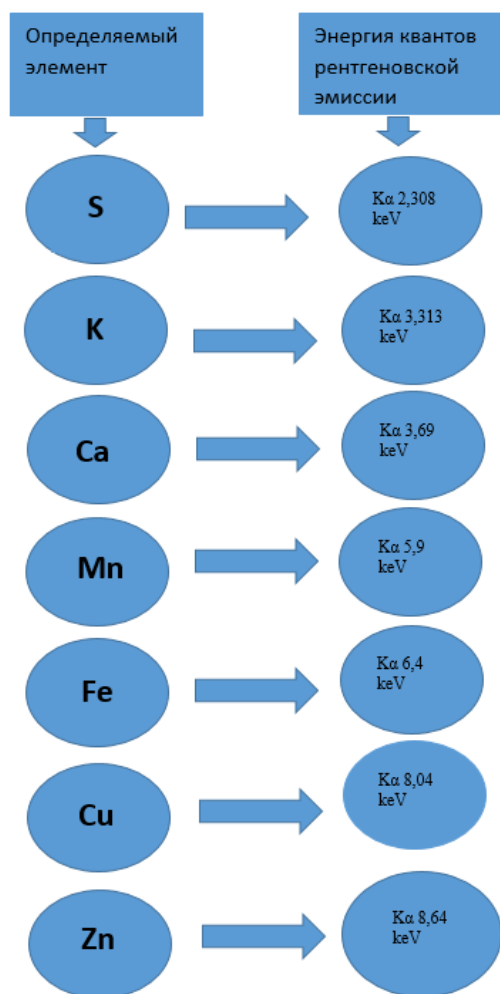


Рисунок 12 – Характеристики энергии квантов рентгеновской эмиссии [13]

2.4. Методы стандартизации сырья

По требованиям ОФС 1.1.0005.15 «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» был проведен отбор проб для товароведческого анализа исследуемого сырья – можжевельника обыкновенного [70, 72].

Определение числовых показателей качества плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного, характеристики которых приведены в таблице 2, проводили по методикам ГФ РФ XIV издания: ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»; ОФС.1.5.3.0005.15 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной

кислоте»; ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»; ОФС.1.5.3.0004.15 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [80]. Характеристики методов определения товароведческих показателей сырья описаны в Таблице 2.

Таблица 2 – Характеристики методов определения товароведческих показателей сырья [18]

Определяемый показатель	Исследуемое сырье	Нормативная документация	Расчетная формула
Влажность сырья, %	Плоды можжевельника обыкновенного	ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»	Влажность (W) лекарственного растительного сырья/препарата в процентах вычисляют по формуле: $W = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m}$ где m - масса до высушивания, г; m_1 - масса после высушивания, г.
	Побеги можжевельника обыкновенного		
	Хвоя можжевельника обыкновенного		
Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте разведённой 10 %, в сырье, %	Плоды можжевельника обыкновенного	ОФС.1.5.3.0005 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»	Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте разведённой 10 %, в сырье/препарате в процентах (X) вычисляют по формуле: $X = \frac{m_1 \cdot 100}{m_2}$ где m_1 – масса золы, г; m_2 – масса сырья/препарата, г
	Побеги можжевельника обыкновенного		
	Хвоя можжевельника обыкновенного		

Продолжение Таблицы 2

Содержание экстрактивных веществ в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье, %	Плоды можжевельника обыкновенного	ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	Содержание экстрактивных веществ в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье/препарате в процентах (X) вычисляют по формуле: $X = \frac{(m_1 - m_0) \cdot 100 \cdot 100 \cdot 50}{a \cdot (100 - W) \cdot 25}$ где m_1 – масса чашки с сухим остатком, г; m_0 – масса чашки, г; a – навеска лекарственного растительного сырья/препарата, г; W – влажность лекарственного растительного сырья/препарата, %
	Побеги можжевельника обыкновенного		
	Хвоя можжевельника обыкновенного		
Содержание каждого вида примеси, %	Плоды можжевельника обыкновенного	ОФС.1.5.3.0004 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	Содержание каждого вида примеси в процентах (X) вычисляют по формуле: $X = \frac{m_1 \cdot 100}{m_2}$ где m_1 – масса примеси, г; m_2 – навеска лекарственного растительного сырья/препарата, г
	Побеги можжевельника обыкновенного		
	Хвоя можжевельника обыкновенного		

Определение микробиологической чистоты сырья плодов, побегов и хвои можжевельника обыкновенного проводили согласно статье ГФ РФ XV издания ОФС.1.5.3.0002 «Определение степени зараженности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов» [80].

Содержание радионуклидов в сырье можжевельника обыкновенного определяли по методике ГФ РФ XV издания ОФС.1.5.3.0001 «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

2.5. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка всех экспериментальных данных проходила по методике ГФ РФ XV издания при помощи критерия Стьюдента и критерия Фишера. Результаты считали достоверными при вероятности 95% ($p \leq 0,05$).

ГЛАВА 3. МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ И МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ

Для стандартизации плодов, побегов и хвои можжевельника необходимо провести исследование цельного, измельченного и порошкованного сырья *Juniperus communis* L. Существующая нормативная документация, представленная ФС 2.5.0028.15 «Можжевельника обыкновенного плоды» содержит характеристики подлинности только для цельных плодов, поэтому дополнение отсутствующих фармакопейных характеристик (морфолого-анатомические признаки измельченных и порошкованных плодов) является актуальной задачей. Кроме того, многие из заявленных признаков не подтверждены микрофотографиями, а также отсутствуют данные идентификации измельченного резаного сырья.

С целью разработки критериев подлинности новых видов сырья – хвои и побегов можжевельника обыкновенного, в соответствии стандартам качества, нами было проведено полное анатомо-морфологическое исследование данных видов сырья.

Методика исследования внешних признаков сырья соответствовала требованиям ГФ РФ XV издания ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» и ОФС.1.5.1.0007 «Плоды». Анализу подвергалось цельное и измельченное сырье, предварительно просеянное через сито (7мм), а также порошок (сырьё, проходящее через сито 2 мм) [80].

Микроскопическое изучение объектов исследования выполнялось в соответствии с ОФС ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения».

3.1. Макроскопическое и микроскопическое исследование плодов можжевельника обыкновенного

3.1.1. Внешние признаки

Подробное описание внешних признаков цельных плодов приведено в ФС.2.5.0028.15 (ГФ XIV) «Можжевельника обыкновенного плоды».

Цельное сырье представляет собой плоды шишкоягоды 6-10 мм в диаметре, цилиндрической формы, шаровидные, иногда овальные или эллиптические, часто по бокам вдавленные, гладкие, блестящие, реже матовые. Плоды образованы 3-мя сросшимися семенными плодолистиками. На верхушке заметен трёхлучевой шов, образованный сросшимися чешуевидными мегаспорофиллами, иногда они с выдающимися кончиками, отвёрнутыми назад; при основании плода заметны под лупой (10х) 2 трёхлистные мутовки из светло-коричневых чешуек (неоплодотворённые чешуевидные мегаспорофиллы шишки). В мякоти находится 3 (иногда 1 или 2) семени. Семена овально-продолговатые, тупо-трехгранные, выпуклые снаружи и плоские на соприкасающихся сторонах, длиной 4-5 мм. Кожура семени твёрдая. Цвет плодов снаружи почти чёрный или фиолетовый с коричневым оттенком, иногда с серо-голубым восковым налетом (Рисунок 13). Цвет мякоти зеленовато-коричневый, цвет семян желтовато-коричневый. Запах характерный. Вкус водного извлечения сладковатый, пряный.



Рисунок 13 – Плоды можжевельника обыкновенного

Измельчённое сырьё состоит из смеси фрагментов шишкоягод можжевельника, преимущественно зрелых, окрашенных в различные оттенки бурого. Частицы сырья проходят через сито с отверстиями диаметром 5 мм и представляют собой кусочки околоплодника (эпикарпия, мезокарпия), семян, а также оболочек и клеточных масс мякоти.

При изучении под лупой (увеличение 10×) или стереомикроскопом (увеличение 16×) в составе измельчённого сырья визуализируются: фрагменты кожистого эпикарпия, плотные, гладкие или слабо шероховатые, окрашенные в тёмно-красный, бордовый, буро-красный, фиолетово-красный или чёрно-красный цвет. Поверхность местами может быть покрыта восковым налётом. Мякоть (мезокарпий) представлена рыхлыми или плотными включениями, буровато-красного или красно-коричневого цвета, с возможным наличием эфирномасличных включений. Фрагменты эндокарпия и семян, мелкие, плотные, округлые или неровной формы, светло-коричневого, буровато-жёлтого или охристого цвета. Поверхность гладкая или слегка блестящая. При раздавливании отдельных частиц часто наблюдается слабый маслянистый блеск, характерный для эфиромасличного сырья (Рисунок 14).

Цвет сырья варьирует от светло-коричневого, буро-жёлтого и красно-коричневого до тёмно-красного и чёрно-бордового, что связано с разной зрелостью плодов и природой анатомических фрагментов. Запах специфический, ароматный, смолисто-пряный, характерный для эфиромасличных плодов можжевельника. Вкус пряный, слегка сладковатый, с хвойно-смолистыми нотами и легкой горечью. Водное извлечение может иметь слабый пряный вкус.



Рисунок 14 – Измельченные плоды можжевельника обыкновенного

Порошок плодов можжевельника обыкновенного представляет собой смесь частиц эпикарпия, мезокарпия и семян шишкоягод, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет тёмно-коричневый с чёрными и буро-красными вкраплениями. Запах сильный, смолисто-хвойный, специфический, вкус горьковатый, с пряными и смолистыми нотами (Рисунок 15).



Рисунок 15 – Порошок плодов можжевельника обыкновенного

3.1.2. Микроскопия

Характеристика анатомо-диагностических признаков **цельных плодов** можжевельника изложена в фармакопейной статье ФС.2.5.0028.15 (ГФ XIV)

«Можжевельника обыкновенного плоды». К наиболее важным относятся: строение клеток эпидермиса округло-многоугольной формы с утолщенными стенками, двухрядная гиподерма с красновато-коричневым содержимым, паренхимные клетки мякоти,местилища с эфирным маслом, проводящие пучки с сосудами и трахеидами ксилемы с пористым и спиральным утолщением, каменистые клетки.

Измельченное сырье и порошок

Для приготовления микропрепаратов из измельченных плодов и порошка использовалась методика «давленного препарата» (ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»). К анатомодиагностическим признакам, характерным для измельченных плодов и порошка, относятся: участки эпидермиса, состоящие из полигональных клеток с неравномерно утолщенными клеточными стенками (Рисунки 16, 17); обрывки паренхимы с округлыми клетками иногда с неправильной формы выростами; проводящие элементы представлены трахеидами; каменистые клетки одиночные или группами, иногда сопровождающиеся призматическими кристаллами оксалата кальция.

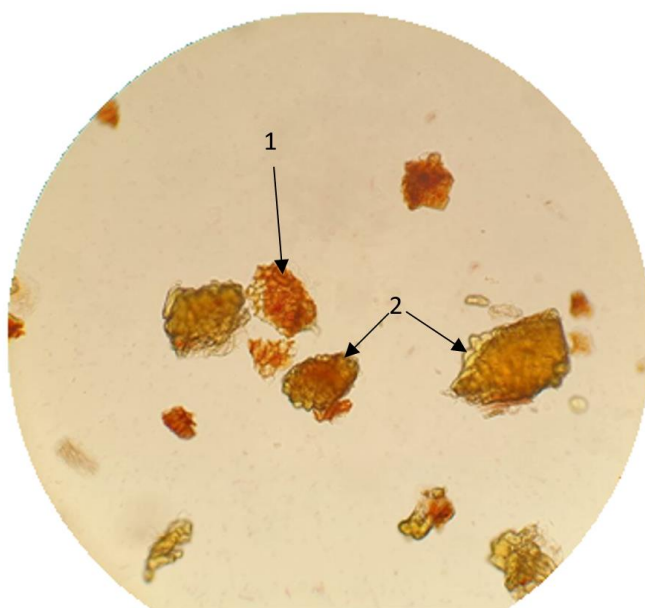


Рисунок 16 – «Давленный» препарат плодов можжевельника обыкновенного (порошок): 1 – фрагмент эпидермиса, 2 – группа каменистых клеток, увеличение 40х

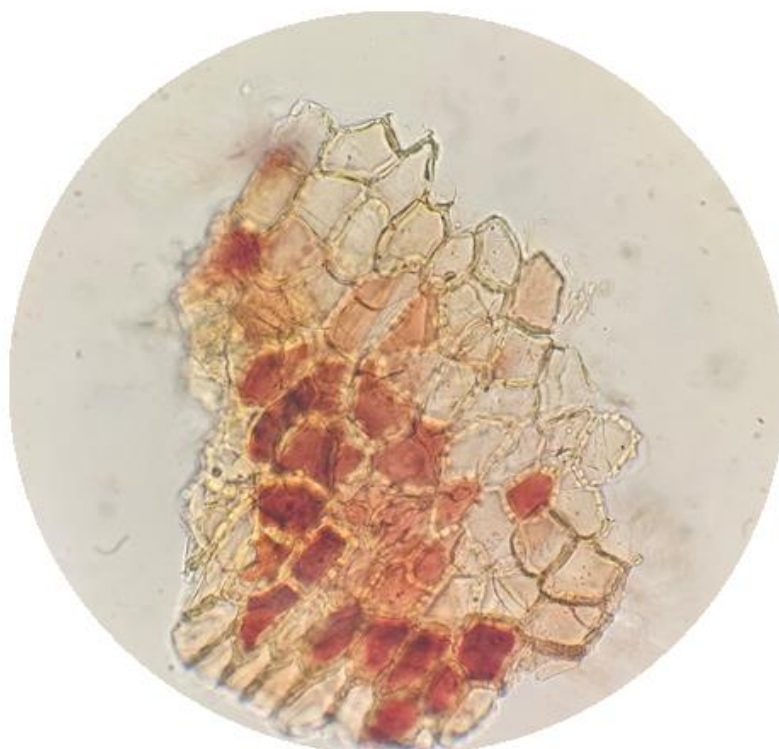


Рисунок 17 – «Давленный» препарат плодов можжевельника обыкновенного (измельченное сырье). Фрагмент эпидермиса. Увеличение 400х

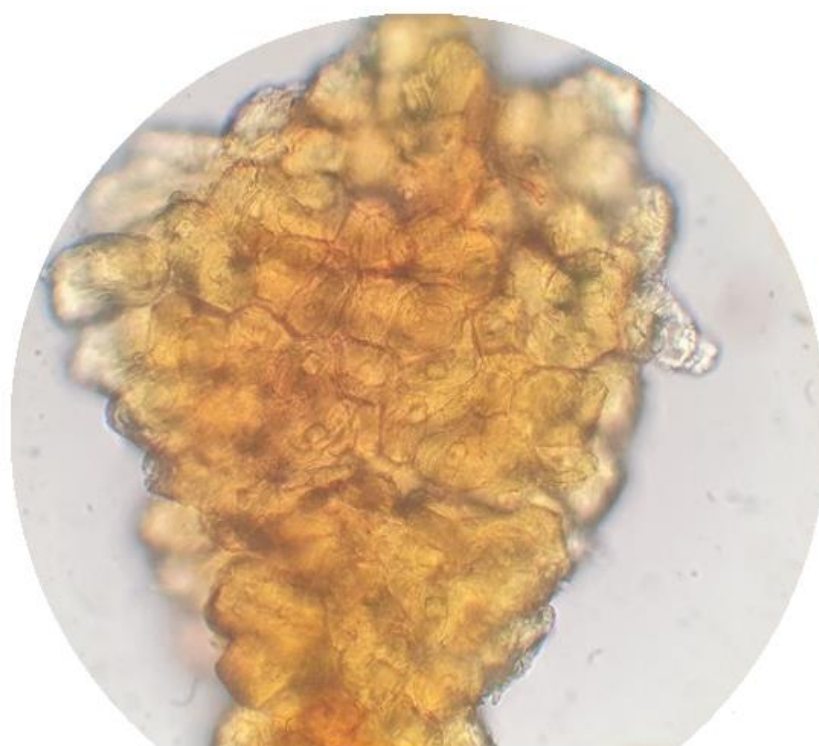


Рисунок 18 – «Давленный» препарат плодов можжевельника обыкновенного (измельченное сырье). Группа каменных клеток с кристаллами оксалата кальция. Увеличение 400х

3.2. Макроскопическое и микроскопическое исследование побегов можжевельника обыкновенного

3.2.1. Внешние признаки

Цельное сырье



Рисунок 19 – Цельное сырье побегов можжевельника обыкновенного

Исследуемое сырье – *Cornus Juniperi* включает стебли разного срока вегетации (1,2,3 год развития) покрытые хвоинками (листьями). Хвоинки (листья) имеют игловидную форму, жесткие, прикрепляются мутовками по три; размер хвоинок в длину составляет от 5 до 15 мм, в ширину- 0,5- 1 мм; окраска хвоинок отличается по сторонам. Так верхняя сторона окрашена в темно-зеленый цвет, имеет блестящую поверхность, с характерной продольной светлой полосой в виде бороздки. Нижняя сторона листа заметно светлее, гладкая. Край листа цельный, слегка завернут вовнутрь [52, 80].

В составе сырья побеги встречаются стебли цилиндрической формы, цвет сырья в зависимости от возраста зелёный (стебли в составе побегов первого или второго года вегетации) или рыжеватый (побеги 3 года вегетации), гладкие или слегка бороздчатые. Зеленые – гладкие, рыжеватые – с отслаивающейся пробкой. Диаметр стеблей - 1–3 мм, на поверхности стебля могут локализоваться мелкие точечные вкрапления смолы. У побегов первого и частично второго года кора тонкая, гладкая, у побегов третьего года – немного грубее, коричневатая. Запах характерный, пряный, смолистый. Вкус горьковатый, слегка пряный.

Основные диагностические признаки морфологического строения сырья и внешний вид представлены в Таблице 3 и Рисунке 19.

Таблица 3 – Морфологические признаки побегов можжевельника обыкновенного

Признак	<i>Juniperus communis</i>
Побеги	Одревесневшие, покрыты коркой с мутовчатым расположением иголок из трёх штук
Строение и размер листьев	Хвоя можжевельника обыкновенного острая, игловидная, трёхгранная (с трёхгранным сечением). Длина хвоинок варьируется от 1 до 1,5 см, ширина около 1 мм
Форма	острая, игловидная, трёхгранная
Верхушка, основание и влагалище листа	Верхушка иголки можжевельника тонкая и острая, основание иголки фиксируется в ветке, образуя мутовчатую структуру из трёх иголок, влагалище отсутствует
Край листа	гладкий, ровный край, без зубчатости или зазубрин
Жилкование листа	имеется одна центральная жилка, проходящая вдоль всего листа

Продолжение Таблицы 3

Опушение	отсутствует
Наличие воскового налета	присутствует
Цвет	Хвоя тёмно-зелёная на верхней стороне, с сизоватым налётом, из-за которого она может выглядеть голубовато-зелёной
Запах, вкус	Горьковато-смолистый, пряный. Запах смолистый и древесный.

Измельченное сырье

Рисунок 20 – Внешний вид измельченных побегов можжевельника обыкновенного

Смесь кусочков стеблей и листьев, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10х) или стереомикроскопом (16х) должны быть видны фрагменты листовой пластинки

с блестящей поверхностью светло-зеленой, серовато-зеленого, темно-зеленого цвета (верхняя кожистая сторона). Видна ребристая поверхность стеблей зеленовато-рыже-коричневого цвета (Рисунки 20, 21). Запах характерный, пряный, смолистый. Вкус горьковатый, слегка пряный.

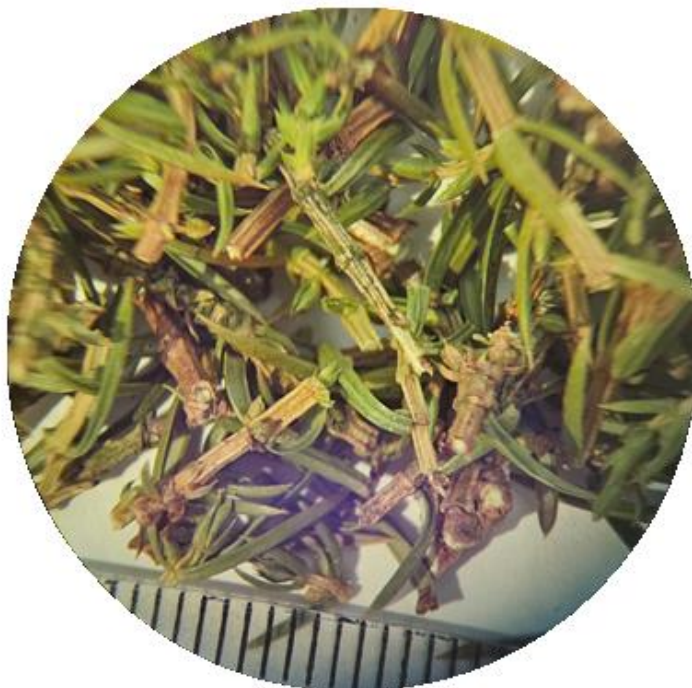


Рисунок 21 – Внешний вид измельченных побегов можжевельника обыкновенного (увеличение x16)

Порошок

Порошок побегов можжевельника обыкновенного включает отдельные компоненты кусочков хвоинок и стеблей, способных просеиваться сквозь сито 2 мм. Цвет порошка зеленовато-коричневый с беловатыми и коричневыми вкраплениями (Рисунок 22). Запах характерный, пряный, смолистый. Вкус горьковатый, слегка пряный.



Рисунок 22 – Порошок побегов можжевельника обыкновенного

3.2.2. Микроскопия

Цельное сырье

Для изучения микроскопических признаков цельных побегов использовали микропрепараты поперечных срезов хвои и стебля. Для этого хвоинки и кусочки стеблей замачивались сутки в воде, затем помещали в смесь этанол глицерин 1:1 на трое суток. Из размягченной хвои, заключенной в пробку, делали поперечные срезы.

Микроскопическое строение листьев можжевельника обыкновенного описано в подразделе 3.3.2. для листьев можжевельника обыкновенного.

Поперечный срез многолетнего стебля округлый в очертании. Покровная ткань представлена перидермой, состоящей из нескольких слоев плоских тангентально удлиненных клеток, иногда видны остатки отслаивающегося эпидермиса и гиподермы (Рисунки 23 и 24).

Линия камбия делит срез на коровую и древесную часть. В центре располагается ткань сердцевины. Кора имеет заметное деление на первичную и вторичную кору. В первичной коре располагаются смоляные каналы. Вторичная

кора имеет более упорядоченную структуру с сердцевинными лучами и механическими волокнами. Древесина имеет лучистое строение. Проводящая ткань древесины представлена трахеидами, расположенными рядами, чередующимися одно-, двурядными сердцевинными лучами (Рисунки 24, 25, 26).

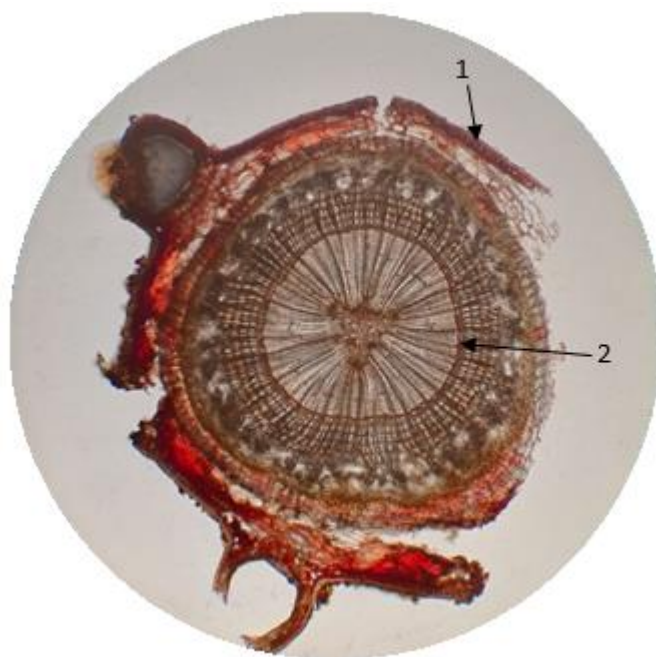


Рисунок 23 – Поперечный срез стебля. Общий вид (увеличение 40х):
1 – отслаивающиеся эпидермис и гиподерма; 2 – камбий

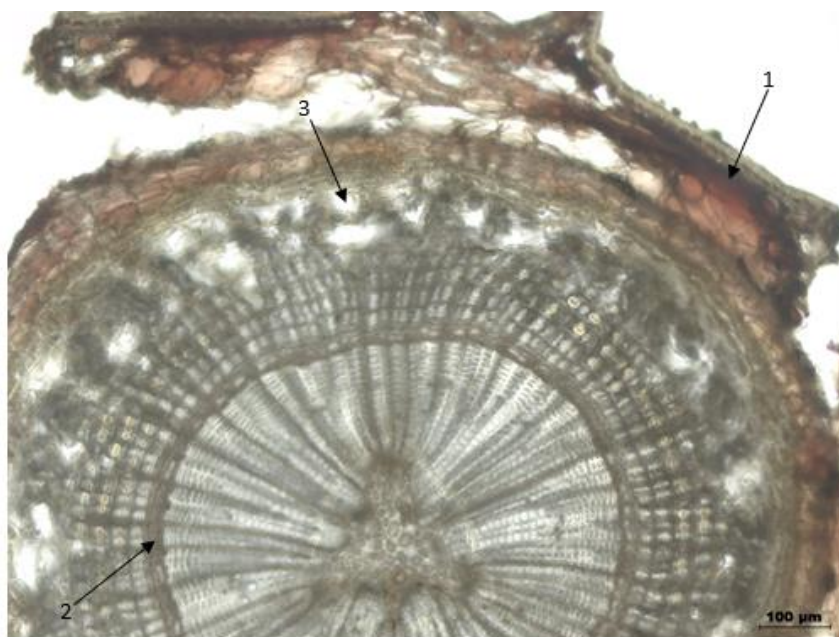


Рисунок 24 – Поперечный срез стебля (увеличение 100х):
1 – отслаивающиеся эпидермис и гиподерма; 2 – камбий; 3 – смоляной канал

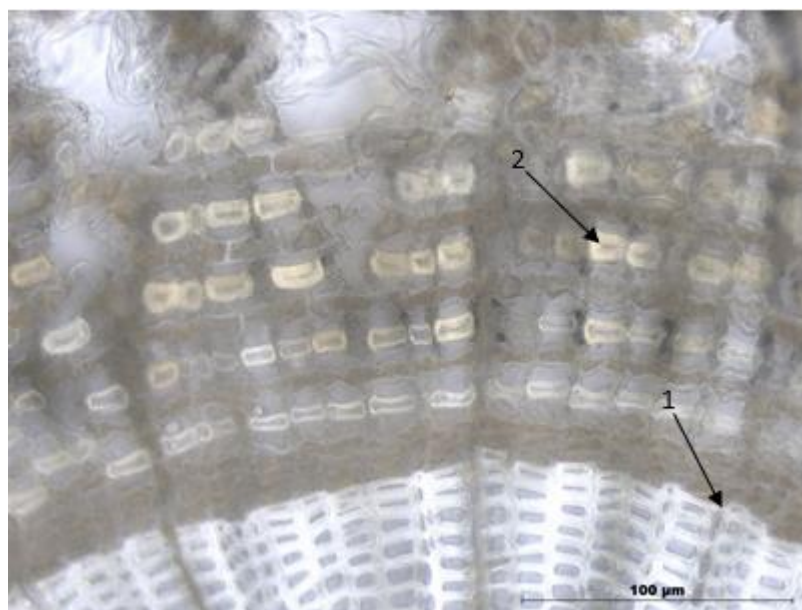


Рисунок 25 – Поперечный срез стебля: 1 – линия камбия, 2 – механическое волокно коровой части (увеличение 400х)

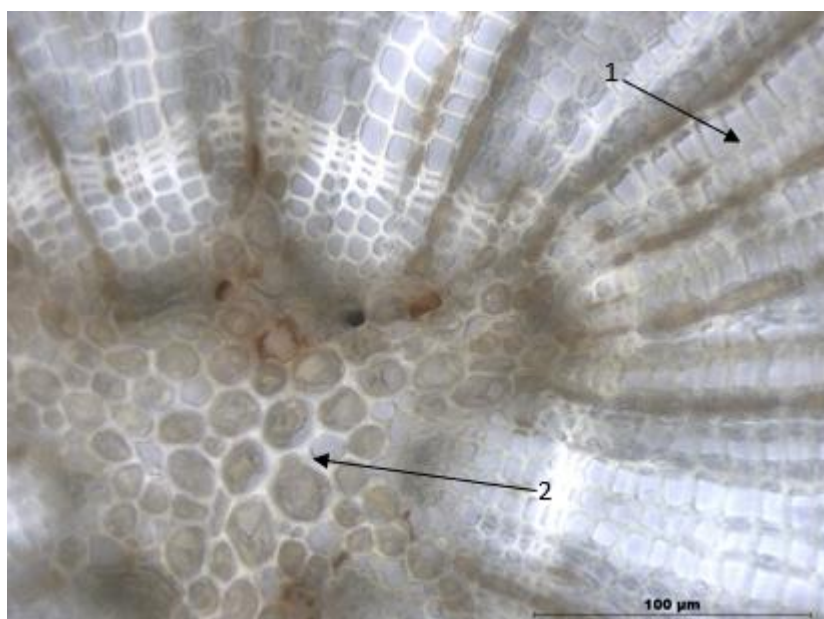


Рисунок 26 – Поперечный срез стебля: 1 – древесина, 2 – сердцевина (увеличение 400х)

Измельченное сырье

Для микроскопического анализа измельченного сырья целесообразно использовать методики приготовления микропрепаратов такие же как для цельного: поперечные срезы хвои и стебля. См. подраздел для цельного сырья.

Порошок

Основное диагностическое значение при микроскопическом анализе порошка имеют: участки эпидермиса хвои с полигональными прямостенными клетками, фрагменты эпидермиса с устьицами аномоцитного типа, обрывки мезофила из округлых и овальных клеток с зеленовато-коричневого содержимым, фрагменты покровных тканей стебля, состоящие из пластов удлиненных прямостенных клеток коричневого цвета; участки проводящей системы листьев и стеблей с пористыми трахеидами; механические волокна коровой древесной части стебля (Рисунки 27, 28, 29).



Рисунок 27 – Порошок побегов: 1 – Фрагмент покровной ткани стебля.
Увеличение 40х

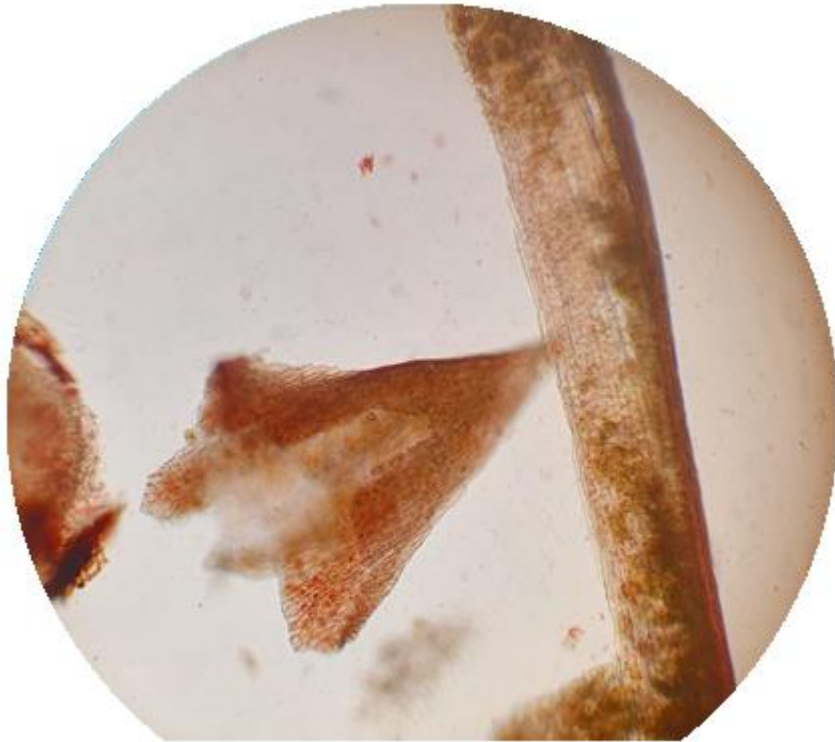


Рисунок 28 – Порошок побегов. Фрагменты эпидермиса хвой. Увеличение 40х

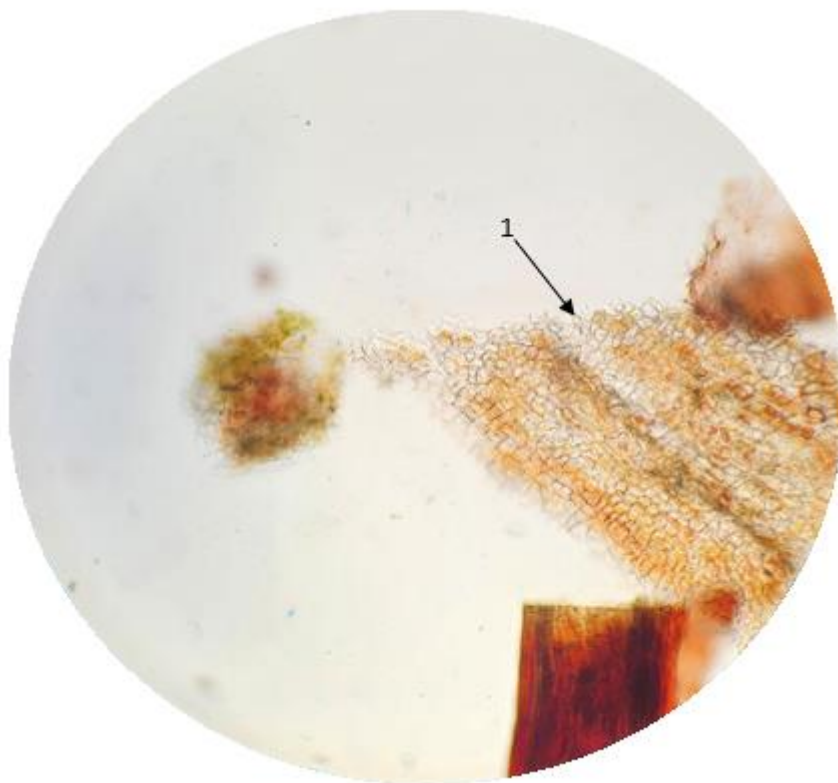


Рисунок 29 – Порошок побегов: 1 – Фрагмент покровной ткани стебля.
Увеличение 40х

3.3. Макроскопическое и микроскопическое исследование хвои можжевельника обыкновенного

3.3.1. Внешние признаки

Цельное сырье



Рисунок 30 – Цельное сырье хвои можжевельника обыкновенного

При описании внешних признаков исследуемого сырья было установлено, что листья можжевельника обыкновенного представляют собой отдельные хвоинки игловидной формы, длиной 5-10 мм и шириной до 1-2мм, прямые или слегка изогнутые, одиночные, у некоторых у основания видны зачатки ответвляющихся побегов, хвоинки жесткие, заостренные и почти трехгранные, желобчатые; черешок отсутствует, поверхность с обеих сторон зеленая, блестящая, с характерной продольной светлой полосой в виде бороздки с верхней стороны. Нижняя сторона листа зеленая. Край хвоинки цельный.

Запах характерный, пряный, смолистый. Вкус горьковатый, слегка пряный.

Основные характерные диагностические признаки и внешний вид представлены на Рисунке 30 и в Таблице 4.

Таблица 4 – Основные морфологические признаки хвои можжевельника обыкновенного

Признак	<i>Juniperus communis</i>
Строение и размер листьев	Хвоя можжевельника обыкновенного острая, игловидная, трёхгранная (с треугольным сечением). Длина хвоинок варьируется от 1 до 1,5 см, ширина около 1 мм.
Форма	Острая, игловидная, трехгранная
Верхушка, основание и влагалище листа	Верхушка иголки можжевельника тонкая и острая, основание иголки фиксируется к ветке, образуя мутовчатую структуру из трёх иголок, влагалище отсутствует
Край листа	Гладкий, ровный край, без зубчатости или зазубрин.
Жилкование листа	Имеется одна центральная жилка, проходящая вдоль всего листа.
Опушение	Отсутствует
Наличие воскового налета	Присутствует
Цвет	Хвоя тёмно-зелёная на верхней стороне, с сизоватым налётом, из-за которого она может выглядеть голубовато-зелёной
Запах, вкус	Горьковато-смолистый, пряный. Запах смолистый и древесный

Порошок



Рисунок 31 – Порошок хвои можжевельника обыкновенного

Фрагменты хвоинок, проходящих сквозь сито размером 2 мм. Цвет порошка зеленый, светло-зеленый (Рисунок 31). Запах характерный, пряный, смолистый. Вкус горьковатый, слегка пряный.

3.3.2. Микроскопия

Цельное сырье

Для изучения микроскопических признаков цельных хвоинок использовали микропрепараты поперечного среза. Для этого хвоинки замачивались сутки в воде, затем помещали в смесь этанол глицерин 1:1 на трое суток. Из размягченной хвои, заключенной в пробку, делали поперечные срезы.



Рисунок 32 – Поперечный срез хвоинки: 1 – смоляной канал. Увеличение 40х

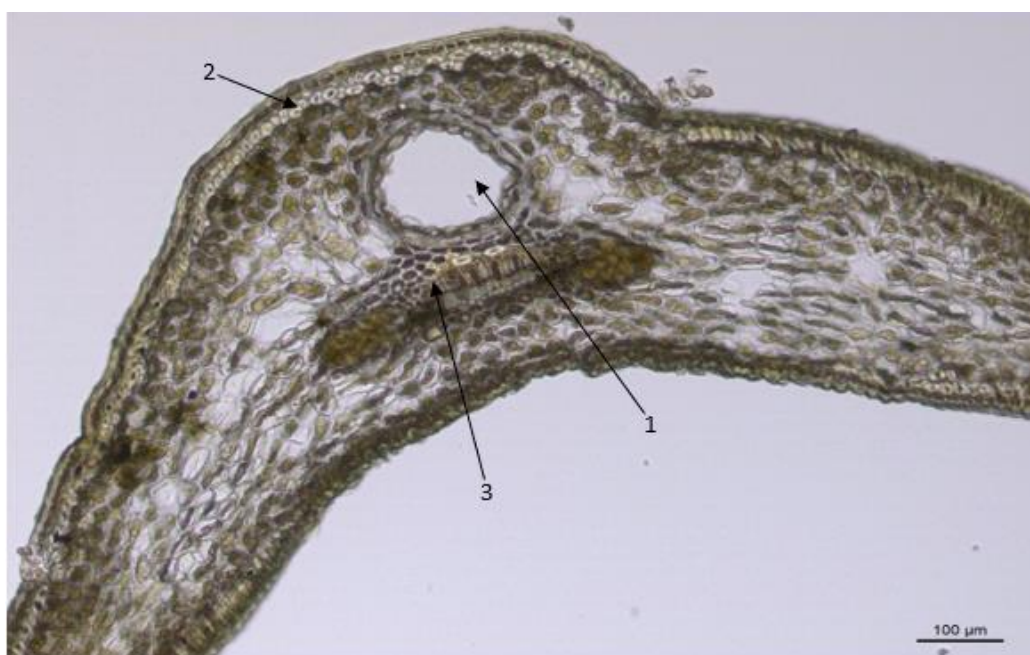


Рисунок 33 – Поперечный срез хвоинки: 1 – смоляной канал, 2 – гиподерма, 3 – проводящий пучок. Увеличение 400х

Поперечный срез хвоинки имеет округло-треугольную форму с нижней стороны выпуклую, иногда с выступающим килем с верхней стороны плоскую

или слегка вогнутую (Рисунки 32, 33). Хвоинка покрыта эпидермисом с утолщенным наружным кутикулярным слоем. Устьица расположены только на верхней стороне, погруженные до уровня гиподермы. Под эпидермисом по всему периметру располагается одно, реже двурядной гиподермой, клетки которой имеют равномерно утолщенную одревесневшую клеточную стенку (Рисунки 33, 34). Проводящий пучок один, расположен по центру (Рисунок 26). Рядом с пучком по центру с нижней стороны располагается один округлый смоляной канал (Рисунок 35). Клетки паренхимы округлые, с нижней стороны клетки столбчатого мезофила располагаются более плотно.



Рисунок 34 – Поперечный срез хвоинки: 1 – эпидермис, 2 – гиподерма.
Увеличение 1000х

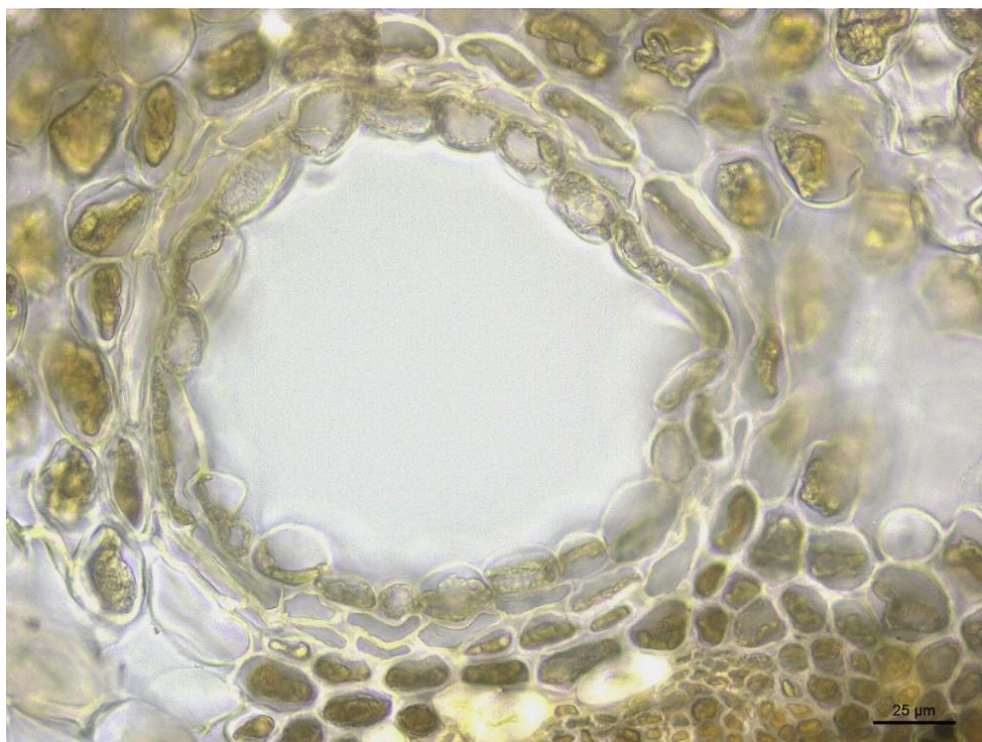


Рисунок 35 – Поперечный срез хвоинки через смоляной канал. Увеличение 1000х

Порошок

При рассмотрении микропрепарата порошка видны фрагменты эпидермиса с полигональными прямостенными клетками. Участки эпидермиса с устьицами аномоцитного типа, участки мезофила из округлых и овальных клеток с зеленовато-коричневого содержимым (Рисунки 36, 37). Участки проводящей системы с пористыми трахеидами.

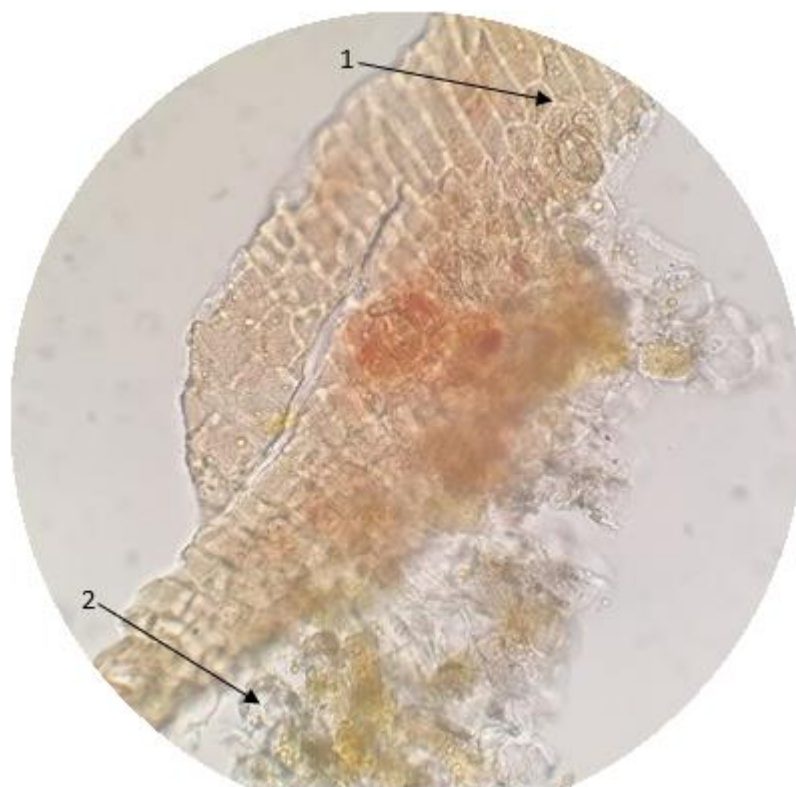


Рисунок 36 – Порошок хвои. Увеличение 400х:
1 – Фрагмент эпидермиса, 2 – клетки мезофилла



Рисунок 37 – Порошок хвои. Фрагмент эпидермиса с устьицами. Увеличение 400х

3.4. Выводы к Главе 3

1. Установлены характеристики подлинности внешних признаков листьев и побегов можжевельника обыкновенного цельного, измельченного и порошка. К ним относятся размеры и формы хвоинок, цвет и характер поверхности стеблей, листорасположение, характерные запах и вкус.

2. Определены микроскопические показатели подлинности для побегов и листьев можжевельника обыкновенного. Диагностическое значение листа имеет наличие гиподермы, смоляного канала. Для побегов характерно вторичное строение стебля, с особенностями строения коры и древесины.

3. Дополнено фармакопейное описание характеристик подлинности измельченных и порошкованных плодов можжевельника описанием внешнего вида и анатомо-диагностических признаков.

ГЛАВА 4. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХВОИ, ПЛОДОВ И ПОБЕГОВ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО

4.1. Оценка содержания экстрактивных веществ, извлекаемых различными растворителями, в исследуемом сырье

На предварительном этапе исследования изучаемого нами растительного сырья был проведен анализ содержания экстрактивных веществ в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» с использованием в качестве экстрагентов воды очищенной (ФС.2.2.0020 «Вода очищенная»), этанола и хлороформа. Результаты анализа представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Результаты определения содержания эфирных веществ в сырье можжевельника обыкновенного

Объект	Содержание экстрактивных веществ в сырье, %						
	H ₂ O	C ₂ H ₅ OH (20 %)	C ₂ H ₅ OH (45 %)	C ₂ H ₅ OH (55 %)	C ₂ H ₅ OH (70 %)	C ₂ H ₅ OH (96 %)	CHCl ₃
Шишкочягоды	21,4 ±0,86	22,1 ±0,85	23,9 ±0,68	26,4 ±0,47	27,8 ±0,37	23,1 ±0,54	12,5 ±1,14
Побеги	29,5 ±0,35	32,4 ±0,44	33,8 ±0,37	34,2 ±0,41	36,7 ±0,39	31,9 ±0,35	11,6 ±1,22
Хвоя	22,6 ±0,72	27,3 ±0,59	29,1 ±0,43	29,6 ±0,35	31,1 ±0,33	28,4 ±0,37	9,5 ±1,50

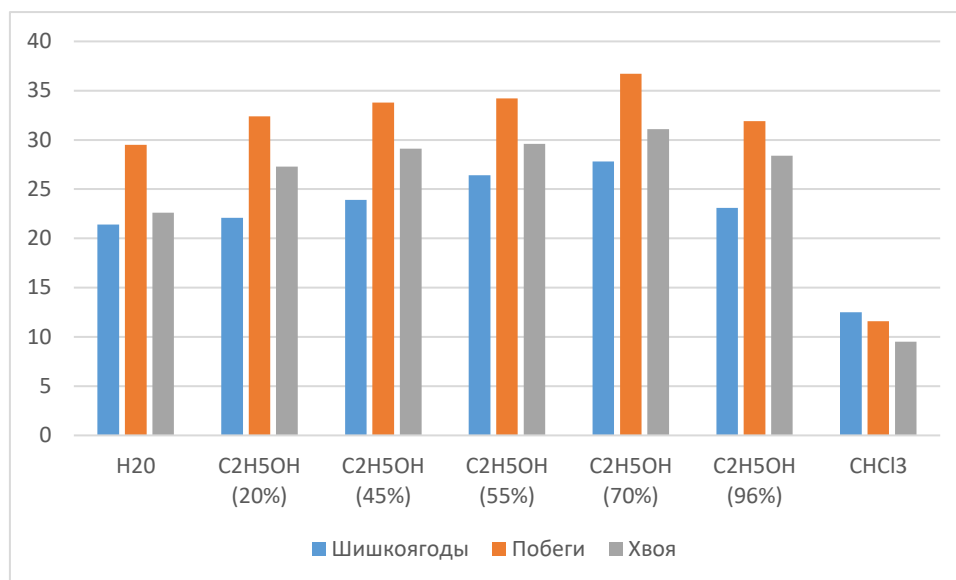


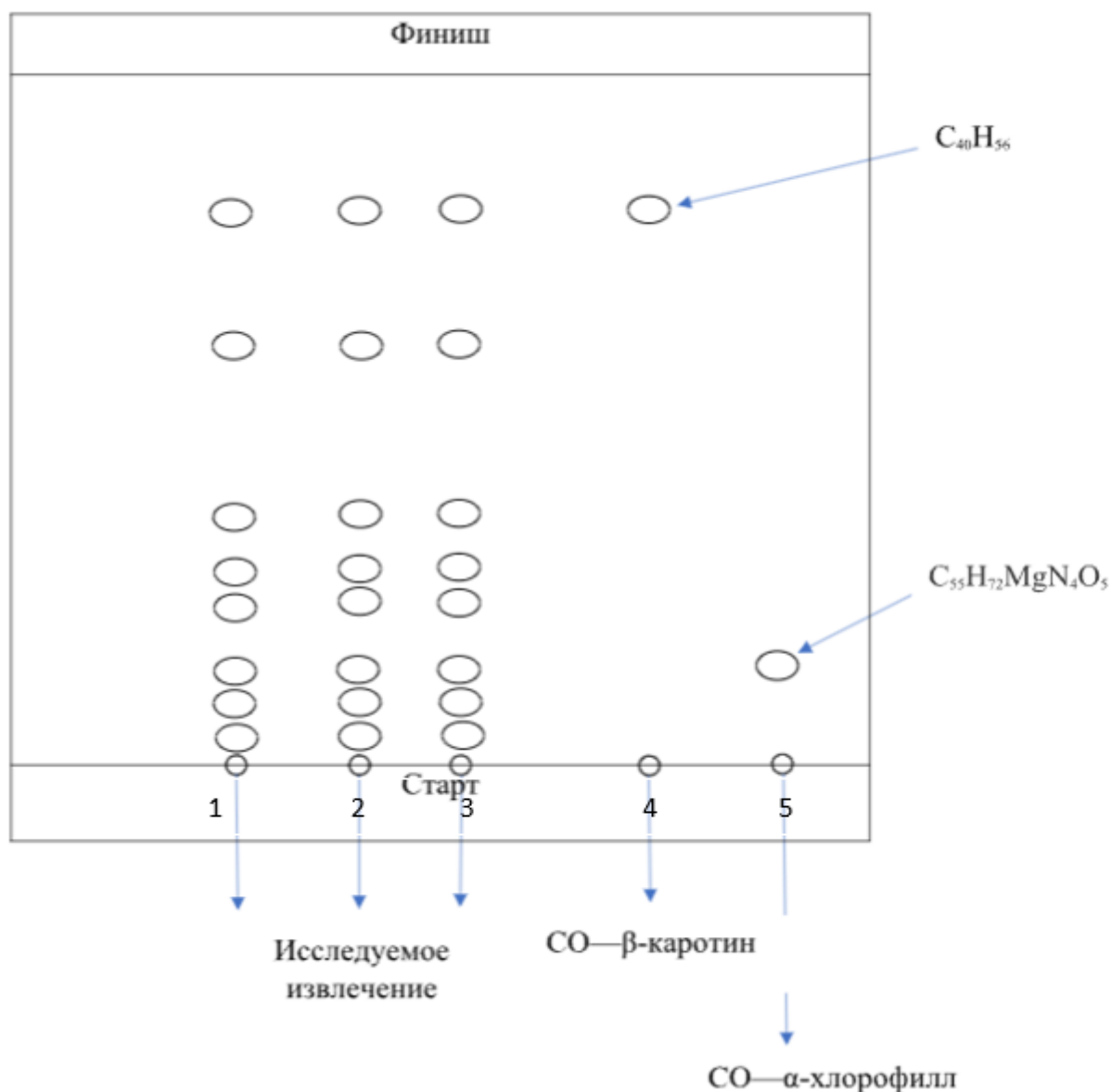
Рисунок 38 – Гистограмма выхода экстрактивных веществ из сырья можжевельника обыкновенного с использованием экстрагентов разной полярности

Как видно из таблицы 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.

4.2. Качественное и количественное определение пигментов в сырье можжевельника обыкновенного

Учитывая полученные результаты определения содержания экстрактивных веществ в сырье можжевельника обыкновенного, продемонстрировавшие достаточно высокий выход гидрофобной фракции, извлекаемой хлороформом, а также отсутствие данных научной литературы, характеризующих содержание в сырье пигментов (каротиноидов и хлорофиллов), нами был проведен анализ направленный на изучение данной группы БАВ в исследуемом сырье. В ходе

анализа качественного состава пигментов хвои можжевельника обыкновенного методом тонкослойной хроматографии было обнаружено визуально 8 пятен в извлечениях из всех отобранных нами образцов, при просматривании пластинки в УФ-свете обнаружено 6 пятен [57]. Общий вид хроматограммы пигментов исследуемого сырья представлен на Рисунке 39.



Примечание: пятно № 1 извлечение из хвои можжевельника обыкновенного; пятно № 2 извлечение из побегов можжевельника обыкновенного; пятно № 3 извлечение из плодов можжевельника обыкновенного; пятно № 4 стандартный образец β-каротина; пятно № 5 стандартный образец α-хлорофилла.

Рисунок 39 – Общий вид хроматографического разделения пигментов исследуемого сырья

Результаты хроматографического анализа пигментов сырья можжевельника обыкновенного представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Результаты качественного анализа пигментов извлечений из хвои можжевельника [57]

Обнаруженное вещество	Окраска пятна в видимом свете	Окраска пятна в УФ-свете	Значение Rf
β -каротин	Желтоватое пятно	Ярко-желтое пятно	0,78
Неидентифицированное пятно	Салатово-травяное пятно	Желто-оранжевое пятно	0,61
Неидентифицированное пятно	Зеленоватое пятно	Оранжевое пятно	0,38
Неидентифицированное пятно	Грязно-коричневое пятно	Свечение отсутствует	0,29
Неидентифицированное пятно	Грязно-зеленое пятно	Оранжевое пятно	0,24
Хлорофилл α	Зеленовато-синее пятно	Розоватое пятно	0,12
Неидентифицированное пятно	Зеленовато-желтое пятно	Красновато-оранжевое пятно	0,08
Неидентифицированное пятно	Желтое пятно	Свечение отсутствует	0,03

Путем сравнения значений R_f обнаруженных пятен с значениями R_f стандартных образцов идентифицированы β -каротин и хлорофилл α .

Также было проведено спектрофотометрическое определение, при котором выявлены максимумы поглощения для каротиноидов и ксантофиллов (470 нм), хлорофилла α (664 нм), хлорофилла β (649 нм). Учитывая интерес исследователей к накоплению БАВ в сырье можжевельника обыкновенного в разные периоды вегетации [136], нами для анализа пигментного комплекса использовались виды сырья, заготовленные в разные вегетативные периоды. Использовалось виргинальное и старое генеративное сырье. Результаты анализа представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Результаты количественного анализа содержания пигментов в хвое, собранной с виргинальных и старых генеративных побегов можжевельника обыкновенного [57]

Объект исследования	Онтогенетическая стадия	Содержание хлорофилла α , %	Содержание хлорофилла β , %	Содержание хлорофилла $\alpha+\beta$, %	Содержание каротиноидов	Содержание суммы пигментов
Хвоя можжевельника, заготовленная в Тверской области	Виргинильные	1,02 $\pm 0,38$	0,67 $\pm 0,56$	1,69 $\pm 0,40$	0,64 $\pm 0,37$	2,33 $\pm 0,54$
	Старые генеративные	1,01 $\pm 0,51$	0,63 $\pm 0,24$	1,64 $\pm 0,42$	0,59 $\pm 0,42$	2,23 $\pm 0,73$
Хвоя можжевельника, заготовленная в Московской области	Виргинильные	0,97 $\pm 0,91$	0,48 $\pm 0,18$	1,45 $\pm 0,98$	0,52 $\pm 0,09$	1,97 $\pm 0,72$
	Старые генеративные	0,94 $\pm 0,62$	0,47 $\pm 0,20$	1,41 $\pm 1,01$	0,49 $\pm 0,40$	1,90 $\pm 0,36$

Продолжение Таблицы 7

Хвоя можжевельника, заготовленная в Ботаническом саду Сеченовского Университета	Виргинильные	0,88 ±0,62	0,51 ±0,3	1,39 ±0,75	0,47 ±0,3	1,86 ±0,67
	Старые генеративные	0,85 ±0,7	0,48 ±0,3	1,33 ±0,78	0,44 ±0,19	1,77 ±0,71

Как видно из данных таблицы возраст сырья не оказывает существенного значения на суммарное содержание пигментов, так разница между суммарным значением пигментов в хвое, собранной с виргинильных и генеративных побегов, составляет от 3,6 до 4,8 %.

Согласно литературным данным от влияния антропогенных факторов в условиях мегаполиса может происходить снижение содержания хлорофиллов в составе пигментного комплекса, что наблюдается и в нашем случае [74, 89, 92].

Так содержание пигментного комплекса в виргинильном сырье, заготовленном в Тверской области на 20,2 %, а в Московской области на 5,6 % выше чем в сырье, заготовленном в Ботаническом саду Сеченовского университета. А в сырье, заготовленном из старых генеративных побегов, составляет 20,6 и 6,8 % соответственно.

Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать хвою можжевельника в качестве перспективного источника получения каротиноидов и хлорофиллов, а также следует отметить необходимость дальнейших исследований влияния антропогенных факторов на содержание пигментного комплекса в сырье для последующей разработки инструкции по заготовке нового сырья хвои и побеги можжевельника обыкновенного.

4.3. Сравнительная оценка содержания эфирного масла в плодах, хвое и побегах можжевельника обыкновенного и идентификация компонентов терпеноидной фракции

Качественные реакции на терпеноиды в спиртовых извлечениях из свежей и высушенной хвои можжевельника обыкновенного, а также на непредельные соединения в составе аквадистилляционного эфирного масла показали идентичность результатов для образцов, заготовленных от дикорастущего и культивируемого сырья [23]. Результаты качественного анализа представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Результаты качественного анализа образцов хвои можжевельника обыкновенного [23]

Методика качественной реакции	Ожидаемый результат	Хвоя можжевельника обыкновенного, заготовленная от дикорастущих растений		Хвоя можжевельника обыкновенного, заготовленная от культивируемых растений	
		Свежее сырье	Высушенное сырье	Свежее сырье	Высушенное сырье
Спиртовые извлечения из образцов хвои можжевельника обыкновенного					
К 2 мл спиртового извлечения аккуратно приливали 1 мл 1% раствора и диметиламинобензальдегида в кислоте серной концентрированной	В случае присутствия в исследуемой пробе терпеноидов на границе фаз происходит образование интенсивно окрашенного вишневого кольца	На границе раздела фаз образовалось вишневое кольцо	На границе раздела фаз образовалось вишневое кольцо	На границе раздела фаз образовалось вишневое кольцо	На границе раздела фаз образовалось вишневое кольцо

Продолжение Таблицы 8

К 1 мл спиртового извлечения аккуратно приливали 1 мл 1% раствора ванилина в кислоте серной концентрированной.	В случае Присутствия в исследуемой пробе терпеноидо в на границе фаз происходит образование фиолетового окрашивания	На границе раздела фаз образовалось фиолетовое окрашивание	На границе раздела фаз образовалось фиолетовое окрашивание	На границе раздела фаз образовалось фиолетовое окрашивание	На границе раздела фаз образовалось фиолетовое окрашивание
Эфирное масло из образцов хвои можжевельника обыкновенного					
К 1 мл эфирного масла приливали раствор калия перманганата (реакция Вагнера)	В случае присутствия непредельных соединений происходит обесцвечивание раствора калия перманганата с образованием небольшого хлопьевидного осадка марганца оксида (IV)	Наблюдал и обесцвечивание раствора калия перманганата с образованием бурого коричневого хлопьевидного осадка	Наблюдали обесцвечивание раствора калия перманганата с образованием бурого коричневого хлопьевидного осадка	Наблюдали обесцвечивание раствора калия перманганата с образованием бурого коричневого хлопьевидного осадка	Наблюдали обесцвечивание раствора калия перманганата с образованием бурого коричневого хлопьевидного осадка

Продолжение Таблицы 8

К 1 мл эфирного масла добавляли 10 капель бромной воды	В случае присутствия непредельных соединений происходит обесцвечивание бромной воды	Наблюдали обесцвечивание бромной воды	Наблюдали обесцвечивание бромной воды	Наблюдали обесцвечивание бромной воды	Наблюдали обесцвечивание бромной воды
--	---	---------------------------------------	---------------------------------------	---------------------------------------	---------------------------------------

В результате хроматографического анализа после детектирования на всех хроматограммах обнаруживалась зона адсорбции лилово-фиолетового цвета, имеющая значение $R_f=0,87$, что соответствует по значению и окраске R_f стандартного образца α -пинена. Также в образцах из свежего сырья выявлены 11 зон, имеющих разную интенсивность окраски – от желтого до сиреневого цвета, тогда как в высушенном сырье обнаружено дополнительно 9 зон адсорбции. Интенсивность окраски пятен так же отличалась. Полученные результаты свидетельствуют об изменениях в составе фракции терпеноидов, происходящих в процессе сушки, и актуализируют дальнейшие исследования в данном направлении.

Количественное определение эфирного масла проводили с измельченными образцами сырья, полученные образцы эфирного масла были использованы для оценки ряда показателей их качества [23]. Результаты анализа представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Результаты количественного определения эфирного масла в хвое можжевельника обыкновенного [23]

Исследуемое сырье	Содержание эфирного масла, %	Описание полученного эфирного масла
Хвоя можжевельника обыкновенного (дикорастущее сырье) свежая	1,86±0,13	Бесцветная жидкость со свежим, интенсивным древеснистым ароматом.
Хвоя можжевельника обыкновенного (дикорастущее сырье) высушенная	1,27±0,11	Бесцветная жидкость со свежим древеснистым ароматом
Хвоя можжевельника обыкновенного (культивируемое сырье) свежая	1,69±0,15	Бесцветная жидкость со свежим, интенсивным древеснистым ароматом
Побеги можжевельника обыкновенного (культивируемое сырье) высушенные	0,95±0,11	Бесцветная жидкость со свежим древеснистым ароматом
Побеги можжевельника обыкновенного (дикорастущее сырье) свежая	1,21±0,12	Коричневатая жидкость с сильновыраженным древесно-хвойным ароматом
Побеги можжевельника обыкновенного (дикорастущее сырье) высушенная	0,93±0,10	Коричневатая жидкость с сильновыраженным древесно-хвойным ароматом
Побеги можжевельника обыкновенного (культивируемое сырье) свежая	1,21±0,12	Коричневатая жидкость с сильновыраженным древесно-хвойным ароматом

Как видно из данных таблицы процесс сушки приводит к снижению содержания эфирного масла на 31,7 % в случае дикорастущего сырья и 28,4 % в случае культивируемого сырья. Учитывая полученные данные, можно

рекомендовать включение в показатели качества хвои можжевельника обыкновенного показателя содержание эфирного масла не менее 1%, а также оптимизировать режим сушки для лучшего обеспечения сохранения эфирного масла в сырье.

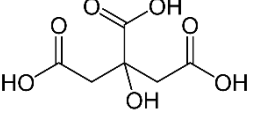
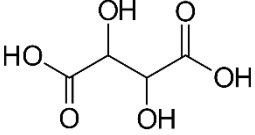
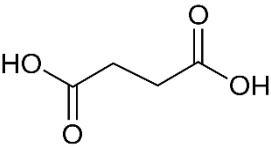
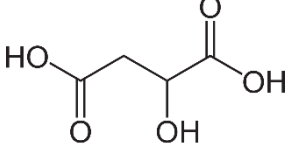
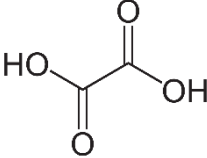
4.4. Оценка содержания свободных органических кислот

В последние годы растет интерес к определению органических кислот, ценной группы БАВ, участвующих в цикле Кребса и регулирующих рН баланс организма в целом. Имеются данные об антиоксидантном и противовоспалительном действии многих представителей этой группы, что определило необходимость изучения состава свободных органических кислот в плодах, побегах и хвое можжевельника обыкновенного [117]. Качественный и количественный анализ содержания свободных органических кислот проводили методом ВЭЖХ. Результаты представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Результаты хроматографического определения органических кислот в сырье можжевельника обыкновенного

Формула и наименование органической кислоты	Исследуемое сырье	Rt	Содержание мг\г (в пересчете на сухое вещество)
Аскорбиновая гамма-лактон 2,3-дегидро- L-гулоновой кислоты 	Плоды	5,487	32,3
	Хвои	5,489	47,5
	Побеги	5,486	23,4

Продолжение Таблицы 10

Лимонная 3-гидрокси-3- карбокспентандиовая кислота 	Плоды	10,961	18,9
	Хвои	10,962	21,1
	Побеги	10,959	15,2
Винная 2,3- дигидроксибутандиовая кислота 	Плоды	3,806	9,6
	Хвои	3,807	14,3
	Побеги	3,808	7,3
Янтарная этан-1,2-дикарбоновая кислота 	Плоды	12,629	68,7
	Хвои	12,630	63,2
	Побеги	12,628	53,1
Яблочная Гидроксибутандиовая кислота 	Плоды	4,864	193,4
	Хвои	4,866	181,9
	Побеги	4,864	46,9
Щавелевая Этандиовая кислота 	Плоды	3,428	36,7
	Хвои	3,427	54,2
	Побеги	3,426	23,7

Количественное определение суммарного содержания органических кислот проводили методом алкалиметрического титрования, а результаты анализа представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Суммарное содержание органических кислот в пересчете на яблочную кислоту

Объект	Содержание органических кислот %	Статистическая обработка
Побеги Ботанический Сад	1,92	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 9,28 \bar{x} 1,856 Среднеквадратичное отклонение σ 0,0477 Стандартная ошибка 0,0213
	1,82	
	1,80	
	1,88	
	1,86	
Побеги Тверская область	2,12	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 11,06 \bar{x} 2,212 Среднеквадратичное отклонение σ 0,0217 Стандартная ошибка 0.0097
	2,18	
	2,21	
	2,24	
	2,22	
Побеги Московская область	2,29	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 11,6 \bar{x} 2,32 Среднеквадратичное отклонение σ 0,0316 Стандартная ошибка 0.0141
	2,31	
	2,37	
	2,33	
	2,30	
Хвоя Ботанический Сад	2,38	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 11,82 \bar{x} 2,364 Среднеквадратичное отклонение σ 0,0385 Стандартная ошибка 0,0172
	2,34	
	2,32	
	2,42	
	2,36	
Хвоя Тверская область	2,76	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 14,06 \bar{x} 2,812 Среднеквадратичное отклонение σ 0,0687 Стандартная ошибка 0,0307
	2,84	
	2,88	
	2,86	
	2,72	

Продолжение Таблицы 11

Хвоя область	Московская	2,69	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 13,39 \bar{x} 2,678 Среднеквадратичное отклонение σ 0,0576 Стандартная ошибка 0,0258
		2,72	
		2,74	
		2,64	
		2,60	
Плоды Сад	Ботанический	3,39	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 17,39 \bar{x} 3,478 Среднеквадратичное отклонение σ 0,061 Стандартная ошибка 0.0273
		3,45	
		3,49	
		3,51	
		3,55	
Плоды область	Тверская	3,84	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 19,48 \bar{x} 3,896 Среднеквадратичное отклонение σ 0,075 Стандартная ошибка 0,0335
		3,96	
		3,82	
		3,99	
		3,87	
Плоды область	Московская	3,91	Общее количество n 5 Sum $\sum x$ 20,12 \bar{x} 4,024 Среднеквадратичное отклонение σ 0,0844 Стандартная ошибка 0,0377
		3,97	
		4,08	
		4,12	
		4,04	

Анализ полученных данных демонстрирует присутствие органических кислот как в плодах, так и в хвое и побегах можжевельника обыкновенного. Ожидаемо максимальное количество органических кислот накапливается в сырье плоды можжевельника. Однако их количество в хвое и побегах также позволяет ожидать нормализации метаболических процессов в организме пациента при использовании данного сырья в комплексной терапии.

4.5. Качественное и количественное определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот

В образцах найдены 6 гидроксibenзойных кислот, 4 гидроксикоричные кислоты (Таблица 12). Сравнивая интенсивности одних и тех же пиков, полученных в идентичных условиях, можно сопоставить относительное содержание фенолкарбоновых кислот в образцах. Для всех образцов вытяжки 50-процентным этиловым спиртом давали более интенсивные пики по всем найденным соединениям (Таблица 12, выделено зелёным). Для большинства гидроксibenзойных кислот их наиболее интенсивные пики были в образцах хвои можжевельник (3В), кроме ванилиновой (4В) и *n*-гидроксibenзойной (1В), для большинства гидроксикоричных кислот – в образцах молодых побегов можжевельника обыкновенного (4В), кроме синапиновой (2В) (Таблица 12, выделено синим). Среди всех найденных фенолкарбоновых кислот интенсивные пики были для *n*-кумаровой, дигидроксibenзойной и диоксикоричной кислот, наименее интенсивные – для гидроксi-диметоксибензойной кислоты. Были также идентифицированы некоторые производные фенолкарбоновых кислот: диметоксибензойная кислота и дигидроксiциннамоилхинная кислота, последняя не была обнаружена в образцах плодов можжевельника (1(В, С), 2(В, С) [5].

Следует отметить, что кумаровая кислота в наибольшем количестве обнаруживается в молодых побегах можжевельника (4В), тогда как синапиновая кислота – в плодах можжевельника (1С, 1В, 2В). Содержание кумаровой, феруловой и кофейной кислот уменьшалось в ходе лигнификации (молодые побеги < хвоя < плоды). Уровень синапиновой кислоты к концу лигнификации (1С, 1В, 2В) существенно возрастал, и зрелые клетки содержали в десятки раз больше свободной синапиновой кислоты, чем феруловой. Это указывает на активное гидроксiлирование феруловой кислоты с последующим ее метилированием.

Различие в динамике свободных оксикоричных кислот при созревании ранних и поздних типов растительной ткани указывает на возможное различие в метаболизме кислот и разном их участии в биосинтезе лигнина. Эти данные

поддерживают предположение о существовании двух альтернативных путей преобразования фенилпропановых структур, использование которых в растениях зависит от вида растений и типа клеток [76] и, очевидно, от эндогенных условий их развития (например, обеспеченности влагой) в самом растении.

Таблица 12 – Относительная интенсивность сигналов фенолкарбоновых кислот и их производных на хроматограммах спиртовых экстрактов хвои и плодов можжевельника, полученных методом ВЭЖХ-МС. (Интенсивность пиков образца 3С принята за единицу) [5]

Гидроксibenзойные кислоты	Мол. формула	[M] ⁻	t _R	Относительная интенсивность сигнала						
				1С	1В	2С	2В	3В	4С	4В
Салициловая кислота	C ₇ H ₆ O ₃	137,024	18,05	0,19	0,38	0,05	0,30	2,51	0,42	1,17
п-гидроксibenзойная кислота	C ₇ H ₆ O ₃	137,024	8,49	1,16	1,63	0,11	0,26	1,22	0,32	1,54
<i>Протокатеховая кислота*</i>	C ₇ H ₆ O ₄	153,019	4,76	0,68	0,96	0,25	1,29	1,42	0,38	1,11
<i>Ванилиновая кислота</i>	C ₈ H ₈ O ₄	167,035	4,77	0,42	0,76	0,27	2,52	1,83	1,28	3,54
Галловая кислота	C ₇ H ₆ O ₅	169,014	2,24	0,07	0,17	0,06	0,64	1,61	0,12	0,41
<i>Сиреневая кислота</i>	C ₉ H ₁₀ O ₅	197,045	14,43	0,04	0,12	0,02	0,25	3,50	0,24	0,75
Гидроксикоричные кислоты										
Кумаровая кислота	C ₉ H ₈ O ₃	163,040	14,48	0,24	0,35	0,16	1,07	2,06	0,70	6,03
<i>Кофейная кислота</i>	C ₉ H ₈ O ₄	179,035	11,42	0,21	0,47	0,25	2,84	6,87	1,39	18,23
Феруловая кислота	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193,050	16,03	0,16	0,21	0,25	2,40	3,72	1,75	8,69
<i>Синапиновая кислота</i>	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	223,061	17,79	18,04	19,62	1,10	20,61	4,59	4,40	12,28
Производные										
<i>Вератриновая кислота</i>	C ₉ H ₁₀ O ₄	181,050	19,48	1,37	2,28	0,14	0,44	2,18	0,63	1,98
<i>Хлорогеновая кислота</i>	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353,088	7,00	-	-	-	-	2,28	0,58	0,86

Примечание: *Курсивом отмечены предполагаемые изомеры кислот, определяемых по точному значению *m/z* без стандартных соединений.

Таблица 13 – Ориентировочные концентрации кислот в плодах и хвое можжевельника ($n=2$, $P=0,95$, $Sr = 0,1-0,15$) [5]

Кислота	[M]	Брутто ф-ла	Концентрация, мг/л							
			1С	1В	2С	2В	3С	3В	4С	4В
Салициловая	137,024	$C_7H_6O_3$	0,14	0,3	0,03	0,2	0,8	2,0	0,4	1,0
<i>n</i> - Гидроксибензойная	137,024	$C_7H_6O_3$	3,0	4,4	0,3	0,8	3,0	3,0	0,8	4,6
Галловая	169,014	$C_7H_6O_5$	0,1	0,2	0,1	1,0	1,3	2,0	0,2	0,6
Кумаровая	163,040	$C_9H_8O_3$	0,2	0,3	0,2	1	0,9	2,0	0,6	5,4
Ферруловая	193,050	$C_{10}H_{10}O_4$	0,2	0,3	0,4	5	2	7	3	17

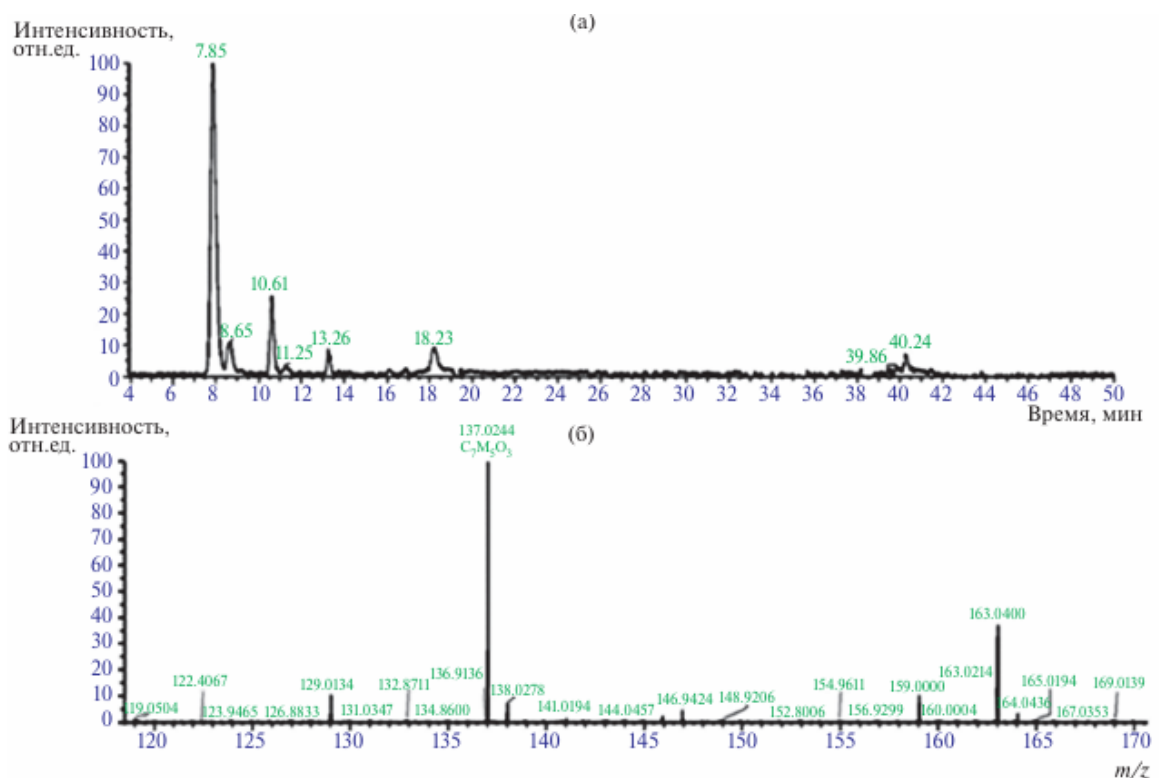


Рисунок 40 –Хроматограмма (а) и масс-спектр (б) образца 2С из плодов можжевельника обыкновенного, соответствующий пику с временем удерживания 7.85 мин ($m/z = 137.024$, *p*-гидроксибензойная кислота) [5]

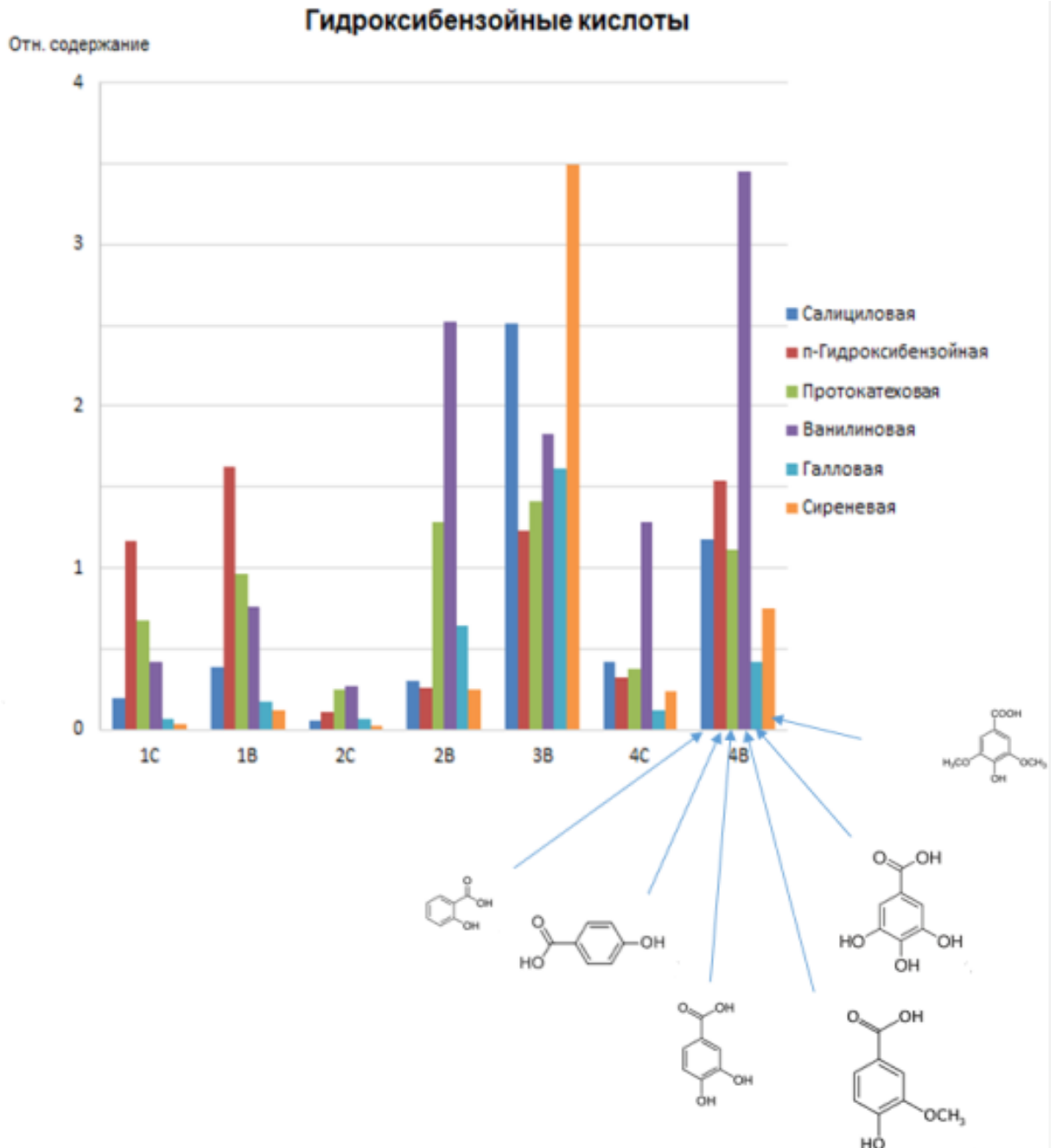


Рисунок 41 – Гистограмма относительного содержания гидроксibenзойных кислот в извлечениях из сырья можжевельника обыкновенного; по оси абсцисс указан вид сырья: 1С – незрелые плоды можжевельника обыкновенного, культивируемого; 1В – незрелые плоды можжевельника обыкновенного, дикорастущего; 2С – зрелые плоды можжевельника обыкновенного, культивируемого, 2В – зрелые плоды можжевельника обыкновенного, дикорастущего, 3В – хвоя можжевельника обыкновенного, дикорастущего; 4С – хвоя можжевельника обыкновенного, дикорастущего, 4В – побег можжевельника обыкновенного, дикорастущего; 4С – побег можжевельника обыкновенного, культивируемого)

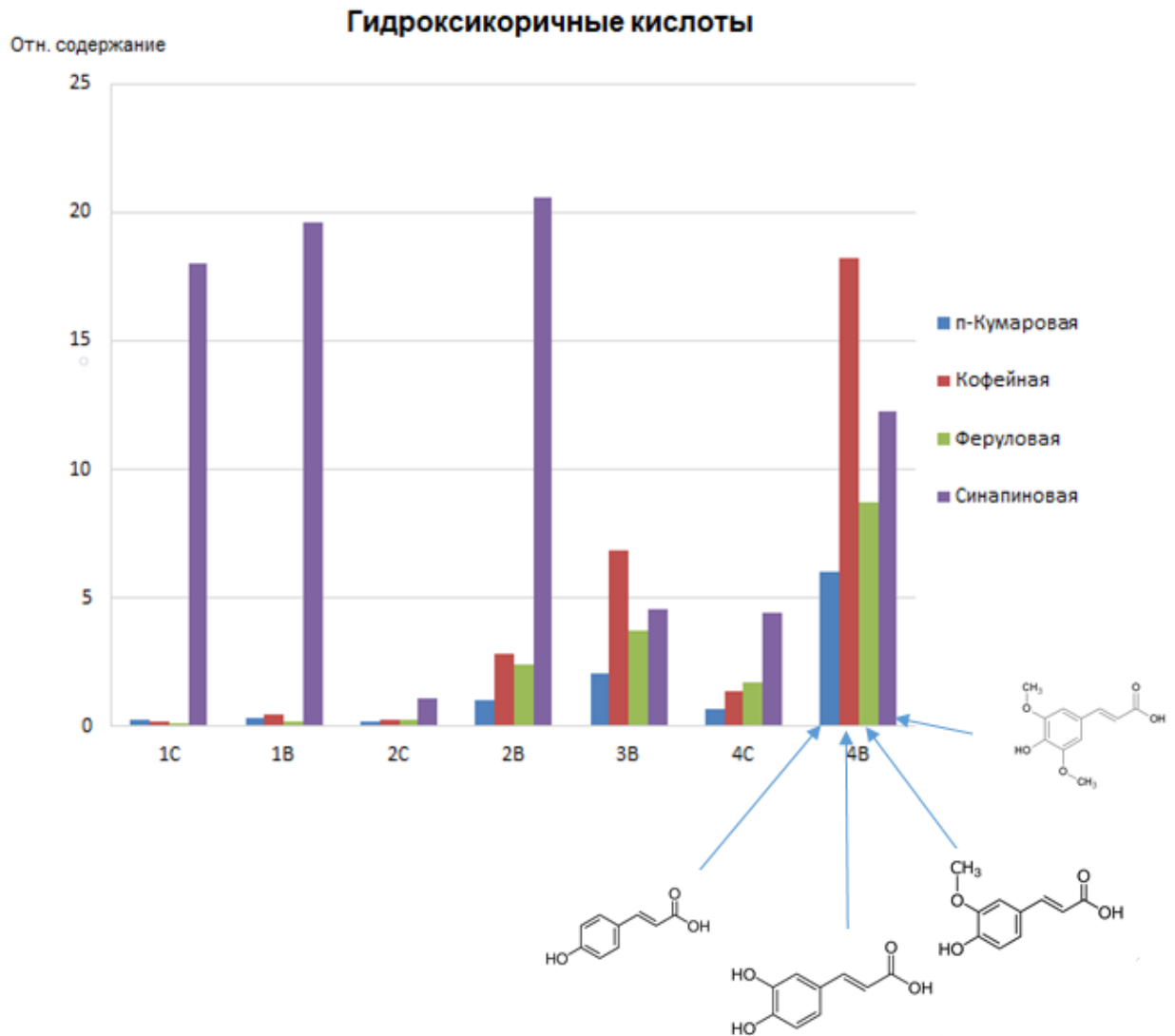


Рисунок 42 – Гистограмма относительного содержания гидроксикоричных кислот в извлечениях из сырья можжевельника обыкновенного; по оси абсцисс указан вид сырья: 1С – незрелые плоды можжевельника обыкновенного, культивируемого; 1В – незрелые плоды можжевельника обыкновенного, дикорастущего; 2С – зрелые плоды можжевельника обыкновенного, культивируемого, 2В – зрелые плоды можжевельника обыкновенного, дикорастущего; 3В – хвоя можжевельника обыкновенного, дикорастущего; 4С – хвоя можжевельника обыкновенного, дикорастущего, 4В – побег можжевельника обыкновенного, дикорастущего; 4С – побег можжевельника обыкновенного, культивируемого)

Количественное определение гидроксикоричных кислот проводили с учетом полученных данных по идентификации состава гидроксикоричных кислот. Анализ проводили методом прямой УФ-спектрофотометрии. Общий вид УФ-спектров представлен на Рисунках 43-44.

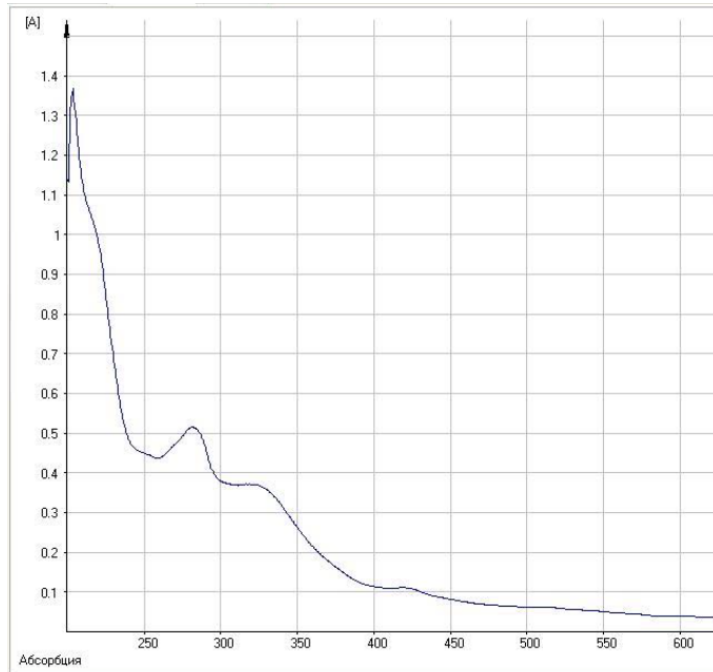


Рисунок 43 – УФ-спектр 70% этанольного извлечения из сырья хвоя можжевельника обыкновенного

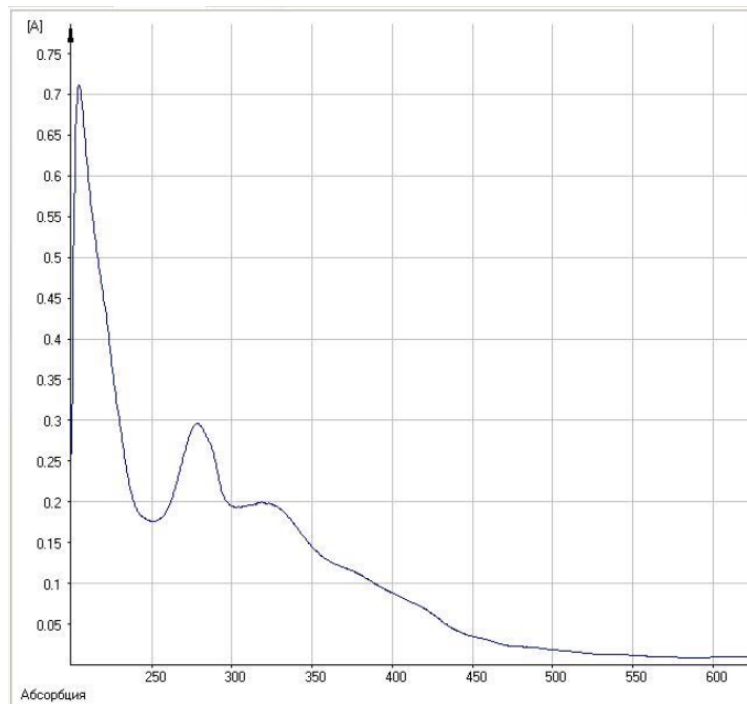


Рисунок 44 – УФ-спектр 70% этанольного извлечения из сырья побегов можжевельника обыкновенного

Результаты количественного определения представлены в Таблице 14.

Таблица 14 – Количественный анализ суммарного содержания гидроксикоричных кислот в пересчете на галловую кислоту

Объект	Содержание гидроксикоричных кислот в пересчете на галловую кислоту, %	Статистическая обработка
Хвоя	1,126, 1,034, 1,141, 1,087, 1,129	Общее количество n 5, Sum $\sum x$ 5,517, \bar{x} 1,1034, Среднеквадратичное отклонение σ 0,0438, Стандартная ошибка 0,196
Плоды	1,891, 1,901, 1,918, 1,886, 1,878	Общее количество n 5, Sum $\sum x$ 9,474, \bar{x} 1,8948, Среднеквадратичное отклонение σ 0,0154, Стандартная ошибка 0,069
Побеги	1,479, 1,212, 1,327, 1,4874, 1,461	Общее количество n 5, Sum $\sum x$ 6,9664, \bar{x} 1,39328, Среднеквадратичное отклонение σ 0,1205, Стандартная ошибка 0,539

Как видно из данных таблицы максимальное содержание фенолкарбоновых кислот характерно для плодов можжевельника, при этом максимальная ошибка эксперимента наблюдается при определении содержания фенолкарбоновых кислот в побегах можжевельника обыкновенного, что может быть обусловлено разным количеством плодов, которые сохранились при заготовке сырья (количество плодов на индивидуальных заготовленных побегах сильно варьирует).

Определение качественного состава флавоноидов проводили методом ВЭЖХ в стандартных условиях, наиболее применимых для идентификации

флавоноидного профиля при 363 нм. Типичный хроматографический профиль представлен на Рисунке 45.

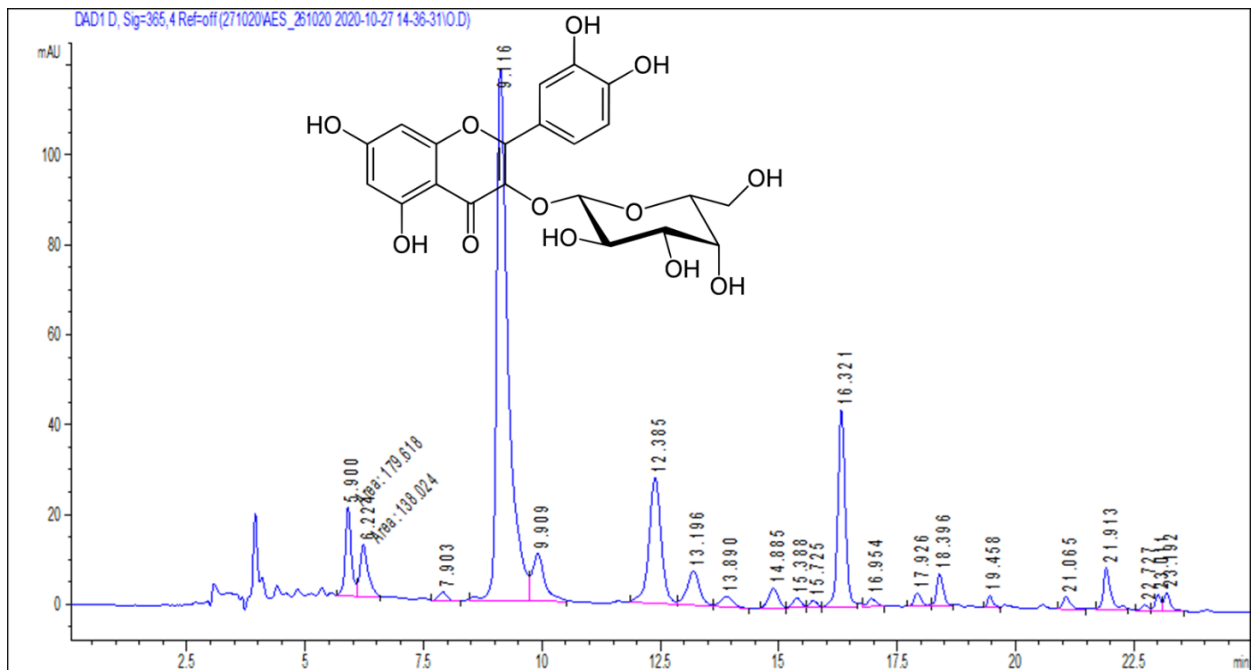


Рисунок 45 – Хроматограмма извлечения из побегов можжевельника обыкновенного (последовательность выхода пиков индивидуальных компонентов соответствует указанным в Таблице 15)

Таблица 15 – Определение флавонолов и флавоновых гликозидов в извлечении из сырья можжевельника

Определяемые вещества	Время удерживания, мин
флавонолы и флавоноловые гликозиды: в т.ч.	
рутин	7,9
гиперозид	9,1
изокверцитрин	9,9
кверцетин	21,9

Количественное определение суммарного содержания флавоноидов проводили методом УФ-спектрофотометрии. Результаты представлены в Таблице 16.

Таблица 16 – Оценка суммарного содержания флавоноидов в пересчете на рутин

Объект исследования	Содержание флавоноидов	Метрологические характеристики
Плоды	1,74;1,81;1,80;1,84;1,77	n=5 $\sum x=8,96$ $\bar{x}_{cp}= 1,792$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,038340 $\Delta \bar{x} = 0,0477$ $\varepsilon=0,0266$
Хвоя	1,68;1,74;1,63;1,69;1,68	n=5 $\sum x=8,42$ $\bar{x}_{cp}= 1,684$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,039115 $\Delta \bar{x} = 0,0486$ $\varepsilon=0,0289$
Побеги	1,47;1,48;1,51;1,46;1,44	n=5 $\sum x=8,96$ $\bar{x}_{cp}= 1,472$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,0258843 $\Delta \bar{x} = 0,0322$ $\varepsilon=0,0219$

4.6. Качественное и количественное определение полисахаридов

Качественные реакции на полисахариды подтвердили их наличие во всех видах исследуемого сырья.

Оценку суммарного содержания полисахаридного комплекса проводили в исследуемом сырье, используя методики государственной фармакопеи РФ

с помощью гравиметрического анализа. Гравиметрический анализ предполагает экстракцию полисахаридного комплекса из хвои, побегов и плодов путем осаждения спиртом этиловым 96% из водного извлечения, сушкой осадка до постоянной массы с последующим взвешиванием сухого остатка. Результаты оценки выхода водорастворимого полисахаридного комплекса представлены в Таблице 17.

Таблица 17 – Оценка суммарного содержания полисахаридов в сырье можжевельника обыкновенного гравиметрическим методом

Исследуемое сырье	Место заготовки	Содержание суммы полисахаридов, %	Метрологические характеристики методики
Плоды	Ботанический сад	7,34 7,41 7,43 7,39 7,32	n=5 $\sum x=36,89$ $\bar{x}_{cp}=7,378$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,046583 $\Delta \bar{x} = 0,0579$ $\epsilon=0,78$
Хвоя		4,13 4,24 4,16 4,26 4,19	n=5 $\sum x= 20,98$ $\bar{x}_{cp}= 4,196$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,00293 $\Delta \bar{x} = 0,0673$ $\epsilon= 0,0160$
Побеги		3,12 3,21 3,07 3,15 3,28	n=5 $\sum x= 15,83$ $\bar{x}_{cp}= 3,166$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,081424 $\Delta \bar{x} = 0,1012$ $\epsilon= 0,0320$
Плоды	Тверская область	8,12 7,98 7,91 8,16 7,88	n=5 $\sum x= 40,05$ $\bar{x}_{cp}= 8,01$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,124899 $\Delta \bar{x} = 0,1553$ $\epsilon= 0,0194$

Продолжение Таблицы 17

Хвоя		4,33 4,38 4,29 4,27 4,31	n=5 $\sum x = 21.58$ $\bar{x}_{cp} = 4,316$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,04219 $\Delta \bar{x} = 0,0525$ $\varepsilon = 0,0122$
Побеги		3,33 3,41 3,38 3,49 3,52	n=5 $\sum x = 17.13$ $\bar{x}_{cp} = 3,426$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,07829 $\Delta \bar{x} = 0,0973$ $\varepsilon = 0,0284$

Таблица 18 – Оценка суммарного содержания полисахаридов в сырье можжевельника обыкновенного методом УФ-спектрофотометрии [51]

Исследуемое сырье	Место заготовки	Содержание суммы полисахаридов, %	Метрологические характеристики методики
Плоды		8,29 8,33 8,37 8,31 8,37	n=5 $\sum x = 33.30$ $\bar{x}_{cp} = 8,334$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,035777 $\Delta \bar{x} = 0,0445$ $\varepsilon = 0,0053$
Хвоя		4,56 4,61 4,66 4,84 4,79	n=5 $\sum x = 23.46$ $\bar{x}_{cp} = 4,692$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,119037 $\Delta \bar{x} = 0,1480$ $\varepsilon = 0,0315$
Побеги		3,39 3,47 3,56 3,55 3,68	n=5 $\sum x = 17.65$ $\bar{x}_{cp} = 3,53$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,108397 $\Delta \bar{x} = 0,1348$ $\varepsilon = 0,0382$

Продолжение Таблицы 18

Плоды		8,35 8,48 8,51 8,63 7,64	n=5 $\sum x = 41.61$ $\bar{x}_{cp} = 8,52$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,117046 $\Delta \bar{x} = 0,1455$ $\epsilon = 0,0171$
Хвоя		4,53 4,69 4,61 4,57 4,61	n=5 $\sum x = 23.01$ $\bar{x}_{cp} = 4,602$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,05932 $\Delta \bar{x} = 0,0738$ $\epsilon = 0,0160$
Побеги		3,73 3,69 3,78 3,79 3,72	n=5 $\sum x = 18.71$ $\bar{x}_{cp} = 3,742$ P, % =95% t(P,f)=2,78 S= 0,042071 $\Delta \bar{x} = 0,0523$ $\epsilon = 0,0140$

Анализируя полученные данные, можно рассматривать плоды можжевельника не только как источник терпеноидов в соответствии с рекомендациями ГФ, но и как источник водорастворимых полисахаридов, с наличием которых многие авторы связывают противовоспалительное действие сырья [31, 42, 143].

4.7. Качественное и количественное определение минеральных веществ

Методом рентгено-флуоресцентного анализа проведено определение ряда макро - и микроэлементов в исследуемом сырье. Результаты анализа представлены в Таблицах 19, 20, 21.

Таблица 19 – Результаты определения минерального состава плодов можжевельника обыкновенного, собранных в Ботаническом саду

Плоды можжевельника обыкновенного	1	2	3
K	4,756	4,743	4,731
Ca	3,411	3,458	3,447
Si	0,739	0,797	0,732
Cl	0,437	0,441	0,425
S	0,42	0,393	0,401
Fe	0,152	0,153	0,149
Mn	0,045	0,047	0,045
Cu	0,024	0,023	0,024
Zn	0,008	0,008	0,0083

Таблица 20 – Результаты определения минерального состава побегов можжевельника обыкновенного

Хвоя можжевельника обыкновенного	1	2	3
K	1,184	1,183	1,19
Ca	6,011	6,03	6,013
Si	1,744	1,74	1,738
Cl	0,186	0,183	0,184
S	0,118	0,12	0,12
Fe	0,177	0,178	0,18
Mn	0,032	0,025	0,029
Cu	0,018	0,0173	0,017
Zn	0,008	0,0079	0,008

Таблица 21 – Результаты определения микроэлементного состава

Исследуемое сырье		Обнаруженные микроэлементы, мкг/г								
		K	Ca	Si	Cl	S	Fe	Mn	Cu	Zn
Плод	Образец I	4,756	3,411	0,739	0,437	0,42	0,152	0,045	0,024	0,008

Продолжение Таблицы 21

Плод	Образец II	4,743	3,458	0,797	0,441	0,393	0,153	0,047	0,023	0,008
	Образец III	4,731	3,447	0,732	0,425	0,401	0,149	0,045	0,024	0,0083
Побеги	Образец I	1,184	6,011	1,744	0,186	0,118	0,177	0,032	0,018	0,008
	Образец II	1,183	6,03	1,74	0,183	0,12	0,178	0,025	0,0173	0,0079
	Образец III	1,19	6,013	1,738	0,184	0,12	0,18	0,029	0,017	0,008

Интересно отметить, что во всех исследуемых объектах обнаружено наличие микроэлемента Zn, что обуславливает возможность использования извлечений из данного сырья для лечения различных дерматологических заболеваний [93].

4.8. Идентификация и количественное определение летучих веществ

Эфирные масла, хвою и плоды можжевельника используют для ингаляций. При этом важна информация, какие именно вещества поступают в организм человека при вдыхании паров, а также – возникают ли существенные отличия в зависимости от вдыхания паров хвои или плодов. Для этого в качестве метода анализа использовали газовую хроматография с термодесорбцией и масс-спектрометрическим детектированием. Для пробоотбора выбран метод пассивной сорбции. Монолитный композит SiC и бутадиен-нитрильного каучука помещали в стеклянную пробирку, объемом 25 мл, содержащую объект анализа. При помощи нити из лавсана монолит подвешивали на высоте 7 см при комнатной температуре, плотно закрыв сосуд притертой стеклянной пробкой. По истечении 3 дней сорбент

извлекали из сосуда и анализировали методом газовой хроматографии с термодесорбцией.

На хроматограмме в данных условиях регистрируются пики веществ в диапазоне времен удерживания 9-25 мин (по индексам удерживания от 900 до 1700). Идентифицированные пики с индексами соответствия (Match Factors) более 900 представлены в Таблице 22. 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 (что достаточно логично) присутствуют как в хвое, так и в плодах можжевельника. Нами предположено, что наличие на хроматограммах таких веществ как космен, пинокарвеол и 2-пинен-4-он может служить неким маркером наличия плодов можжевельника в БАД хвои. Что касательно пинокарвеола, теоретически, он может являться продуктом окисления α -пинена в условиях эксперимента, но считаем это маловероятным – подвижной фазой является инертный газ, соблюдается полное отсутствие кислорода. В статьях, посвященных окислению α -пинена, его направленно окисляли кислородом/озоном в присутствии платинового катализатора и при повышенном давлении [130].

Таблица 22 – Идентифицированные летучие органические соединения в сухих хвое и плодах можжевельника [5]

№	Время удерживания, мин	Вероятное* соединение	Match Factor (усредненный)	Ягоды	Хвоя	Ri(lit)	Ri(exp)
1	9,55	α -Pinene	956	Есть	Есть	936	938
2	10,36	Camphene	914	Есть	Есть	934	934
3	12,62	D-Limonene	953	Есть	Нет	1033	1034
4	12,76	p-Cymene	931	Нет	Есть	1034	1036

Продолжение Таблицы 22

5	12,98	β -cis-Ocimene	930	Есть	Есть	1048	1049
6	13,32	γ -Terpinene	964	Есть	Есть	1062	1062
7	13,94	Terpinolene	940	Есть	Есть	1083	1085
8	14,11	p-Cymenene	930	Есть	Есть	1095	1091
9	14,45	Thujone	928	Нет	Есть	1101	1103
10	14,47	Cosmene	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-one	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	α -Terpinyl acetate	905	Нет	Есть	1350	1347
19	19,59	cis-Carvyl acetate	904	Нет	Есть	1345	1351
20	19,932	Сopaene	929	Нет	Есть	1378	1373
21	20,745	Caryophyllene	952	Есть	Есть	1410	1410
22	20,852	γ -Elemene	928	Есть	Есть	1409	1417
23	21,63	γ -Muurolene	920	Есть	Есть	1474	1469
24	22,67	Cadinene	956	Есть	Есть	1541	1536
25	22,81	Selina-3,7(11)-diene	933	Есть	Есть	1551	1545
26	24,81	Cadalene	950	Есть	Есть	1662	1665

Примечание: по сочетанию совпадения экспериментального и библиотечного МС-спектров и индексов удерживания.

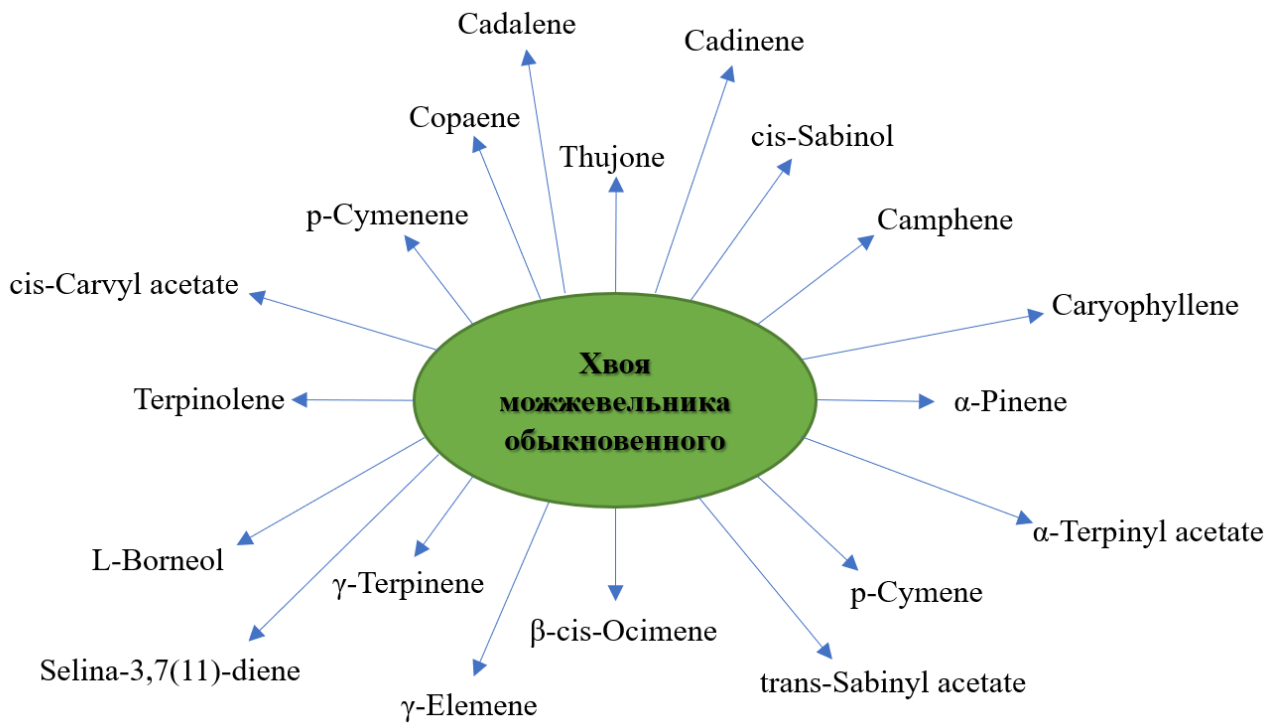


Рисунок 46 – Летучие вещества, определенные в хвое можжевельника обыкновенного

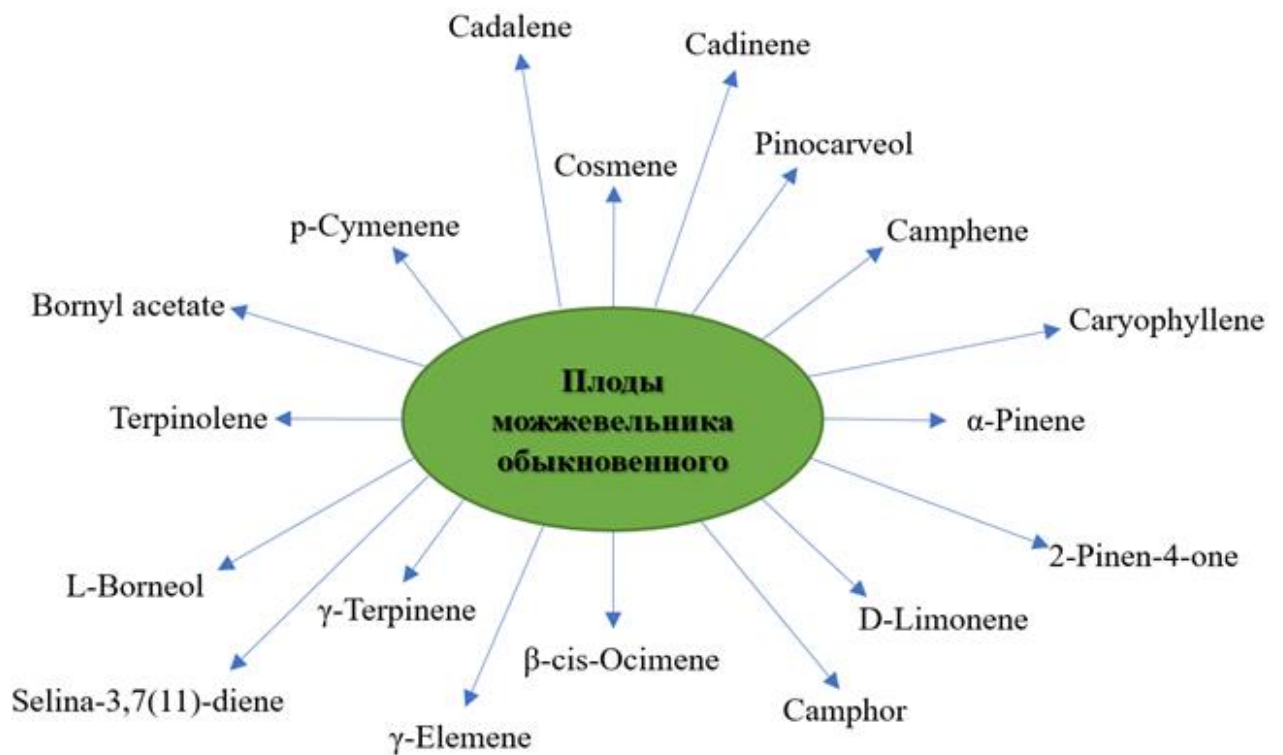


Рисунок 47 – Летучие вещества, определенные в плодах можжевельника обыкновенного

4.9. Выводы к Главе 4

1. Проведено изучение состава БАВ плодов, хвои и побегов можжевельника обыкновенного, заготовленных от дикорастущих и культивируемых растений Московской и Тверской областей, продемонстрировавшее наличие во всех исследуемых объектах пигментного комплекса, представленного хлорофиллом и каротиноидами, полифенольных соединений, веществ флавоноидной природы и фенолкарбоновых кислот, тритерпеновых сапонинов, органических кислот, эфирного масла, макро- и микроэлементов.

2. Установлено содержание в сырье экстрактивных веществ, извлекаемых растворителями разной полярности. Выявлено, что максимальные значения показателя «экстрактивные вещества» достигаются при использовании спирта этилового 70 %.

3. Проведен анализ гидроксibenзойных и гидроксикоричных кислот методом ВЭЖХ-МС, в ходе которого в образцах обнаружены 6 гидроксibenзойных кислот, 4 гидроксикоричные кислоты, причем для большинства гидроксibenзойных кислот их наиболее интенсивные пики были в образцах хвои можжевельника, кроме ванилиновой и *n*-гидроксibenзойной кислот, для большинства гидроксикоричных кислот – в образцах молодых побегов можжевельника обыкновенного, кроме синапиновой кислоты. Среди всех найденных фенолкарбоновых кислот интенсивные пики были для *n*-кумаровой, дигидроксibenзойной и диоксикоричной кислот, наименее интенсивные – для гидрокси-диметоксибензойной кислоты. Были также впервые идентифицированы некоторые производные фенолкарбоновых кислот: диметоксибензойная кислота и дигидроксициннамоилхинная кислота, последняя не была обнаружена в образцах плодов можжевельника. Методом прямой УФ- спектрофотометрии в пересчете на галловую кислоту проведено количественное определение кислот в исследуемых образцах.

4. Проведено определение состава терпеноидов эфирного масла исследуемого сырья, в ходе которого установлено наличие α -Pinene, Camphene,

D-Limonene, p-Cymene, β -cis-Ocimene, γ -Terpinene, Terpinolene, p-Cymenene, Thujone, Cosmene, Pinocarveol, Camphor, L-Borneol, 2-Pinen-4-one, cis-Sabinol, Bornyl acetate, trans-Sabinyl acetate, α -Terpinyl acetate, cis-Carvyl acetate, Copaene, Caryophyllene, γ -Elemene, γ -Muurolene, γ -Muurolene, Cadinene, Selina-3,7(11)-diene, Cadalene. Проведено количественное определение содержания эфирного масла в можжевельнике обыкновенном, по методу 2 ОФС .1.5.3.00010.15 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», показано снижение содержания эфирного масла во всех высушенных образцах по сравнению с свежим сырьем. Полученные в ходе эксперимента данные позволяют рекомендовать включение в показатели качества хвои можжевельника показателя содержание эфирного масла не менее 1%, а также оптимизировать режим сушки для лучшего обеспечения сохранения эфирного масла в сырье.

5. Оценено суммарное содержание полисахаридного комплекса в исследуемом сырье спектрофотометрически и с использованием методики гравиметрического анализа.

6. Обнаружены методом ВЭЖХ-МС в экстрактах из хвои можжевельника щавелевая, лимонная, яблочная, аскорбиновая и янтарная кислоты. Анализ количественного содержания органических кислот проводили методом алкалометрического титрования, общее содержание органических кислот в пересчете на яблочную кислоту составило 2,38 % для культивируемого и 2,76 % для дикорастущего сырья.

7. Изучен минеральный состав побегов можжевельника обыкновенного, установлены преобладающие элементы и их содержание. Показана безопасность использования сырья можжевельника, заготавливаемого в экологически безопасных районах Московской и Тверской областей, вследствие отсутствия в исследуемых образцах тяжелых металлов и мышьяка.

8. Проведено определение содержания в сырье каротиноидов и хлорофилла методом УФ-спектрофотометрии.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ ХВОИ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО И ИЗВЛЕЧЕНИЯ НА ЕГО ОСНОВЕ

Учитывая имеющиеся данные, характеризующие неуклонный рост потребности [67] в сырье можжевельника (Рынок сушеных плодов можжевельника в России, анализ развития: исследование и прогноз до 2031 г., Выпуск: ноябрь, 2025 г. с актуализацией по 1 п.г. 2025 г. (f)), а также неудовлетворенный спрос на фармакопейное сырье – Можжевельника обыкновенного плоды, в качестве дополнительного сырья нами предложено использование побегов можжевельника, заготовка которых может осуществляться с промысловых массивов во время ежегодной обрезки растений, которую необходимо проводить с целью прореживания, обеспечивающего лучшую циркуляцию воздуха и проникновение света, способствующего интенсивному, энергичному росту, что в свою очередь приводит к общему оздоровлению массива можжевельника обыкновенного. Для определения показателей качества были использованы побеги можжевельника, заготовленные от культивируемых и дикорастущих растений.

5.1. Определение числовых показателей сырья

Для проведения стандартизации побегов можжевельника обыкновенного была использована статья ГФ XV ОФС.1.5.1.0002 «Травы», в соответствии с требованиями которой был выстроен эксперимент, направленный на изучение товароведческих характеристик сырья и нормирование соответствующих показателей.

Было проведено определение влажности, общей золы и золы, нерастворимой в 10% растворе хлороводородной кислоты, содержание примесей и экстрактивных веществ, оценку содержания которых проводили в соответствии с требованиями методик ГФ XV издания. Проведенные исследования позволили установить

показатели качества побегов можжевельника обыкновенного, представленные в Таблицах 23-26.

Поскольку планируется использовать исследуемое сырье для получения настоя и настойки, показатель содержание «экстрактивных веществ» оценивался с использованием воды очищенной и этанола 70%.

Анализ микробиологической чистоты, проводимый в соответствии с «Требованиями к микробиологической чистоте фармацевтических субстанций растительного происхождения, лекарственных растительных препаратов и экстрактов, используемых для их получения (203010004-2019)» показал, что образцы побегов можжевельника обыкновенного полностью соответствуют требованиям, предъявляемым к ЛРС, а содержание микроорганизмов в исследуемых побегах можжевельника находится в значениях, рекомендуемых нормативной документацией [51]. Учитывая современные требования к проведению испытаний на безопасность сырья [14] было проведено испытание на содержание радионуклидов по фармакопейной методике.

Таблица 23 – Результаты определения влажности побегов можжевельника обыкновенного

Объект исследования	Содержание влаги в сырье X ср., %	S^2	S	Δx	E отн %
Побеги можжевельника, Ботанический сад Сеченовского университета	8,5;8,4;8,3;8,6;8,4	0,013	0,114017543	0,1418	1,68
Побеги можжевельника, Тверь	7,8;7,9;7,8;7,7;8,0	0,013	0,114017543	0,1418	1,81
Побеги можжевельника, Московская область, дикорастущий	7,3;7,4;7,4;7,3;7,6	0,015	0,122474487	0,1523	2,06

Таблица 24 – Оценка показателя «зола общая» в побегах можжевельника

Объект исследований	Содержание золы в сырье X ср., %	S²	S	Δx	E отн %
Побеги можжевельника, Ботанический сад Сеченовского университета	4,7;4,8;4,6;5,0;5,3	0,077	0,277488739	0,3450	7,07
Побеги можжевельника, Тверь	4,1;3,9;4,2;4,4;3,9	0,045	0,212132034	0,2637	6,43
Побеги можжевельника, Московская область, дикорастущий	4,4;4,2;4,1;4,4;4,5	0,027	0,164316767	0,2043	4,73

Таблица 25 – Оценка показателя «зола нерастворимая в 10% кислоте хлористоводородной в побегах можжевельника

Объект исследований	Содержание золы, нерастворимой в 10 HCl в сырье X ср., %	S²	S	Δx	E отн %
Побеги можжевельника, Ботанический сад Сеченовского университета	0,56;0,59;0,52;0,55; 0,56	0,00063	0,025099801	0,0312	5,61
Побеги можжевельника, Тверь	0,48;0,44;0,45;0,46; 0,43	0,00037	0,019235384	0,0239	5,29

Продолжение Таблицы 25

Побеги можжевельника, Московская область, дикорастущий	0,39;0,41;0,43;0,39;0,41	0,00028	0,016733201	0,0208	5,12
--	--------------------------	---------	-------------	--------	------

Таблица 26 – Результаты оценки числовых показателей и микробиологической чистоты в побегах можжевельника обыкновенного [25, 51, 59, 71, 80]

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

Продолжение Таблицы 26

	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	1.4×10^2	$1.0 \times 10^2-1.4 \times 10^2$
	<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)		—	—

5.2. Результаты валидации методики определения полифенольных веществ

Учитывая многочисленные литературные данные [30, 59, 77, 119], 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 соответствие с методикой получали водные извлечения из побегов можжевельника и разводили 10, 11, 12, 13, 15 мл с водой очищенной для получения серии модельных растворов. Рассчитанное по полученным данным значение коэффициента корреляции, который

представляет собой критерий приемлемости линейности, составил 0,9993, т.е. демонстрирует значение близкое к 1, что в свою очередь, подтверждает наличие линейной зависимости между значением величины оптической плотности исследуемых образцов и действующих веществ [52]. Уравнение линейной зависимости оптической плотности (D) от объема пробы (V) имеет вид:

$$D(V) = 0.0271 * V - 0.0489$$

Экспериментальные данные полученные нами по валидационному показателю «Линейность» характеризуются наличием линейной зависимости между результатами, полученными по количественному содержанию полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксибензойную 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 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту для оценки доброкачественности побегов можжевельника [51].

Таблица 27 – Оценка подтверждения линейности методики спектрофотометрического определения суммарного содержания полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту

№	Объем аликвоты	D
1	10,0	0,224
2	11,0	0,246
3	12,0	0,277
4	13,0	0,302
5	15,0	0,358

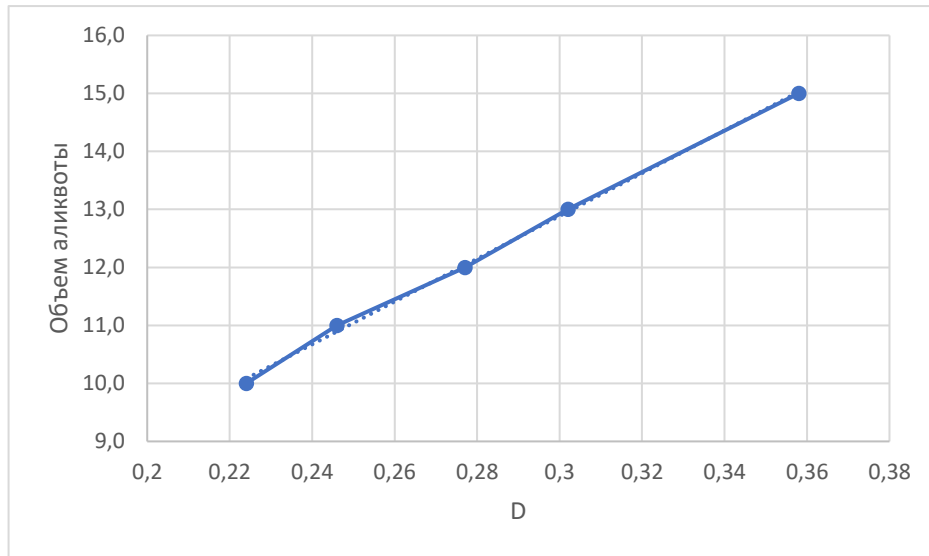


Рисунок 48 – Результат проверки линейности методики спектрофотометрического определения суммарного содержания полифенольных веществ в пересчете на кислоту галловую

Воспроизводимость методики определяли по показателю прецизионности при выполнении анализов в одинаковых условиях. Проводился расчет показателя RSD.

Таблица 28 – Воспроизводимость методики СФМ содержания полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту

Повторность	Σ полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксибензойную 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 29 – Повторяемость методики спектрофотометрического определения суммарного содержания полифенольных веществ в пересчете на кислоту 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту

Номер образца		1	2	3	4	5	6
Содержание полифенолов в пересчете на кислоту галловую, %		1,447	1,449	1,451	1,454	1,442	1,444
f	$X_{\text{ср}}$	S^2	S	ΔX	$t(99\%)$	$\epsilon, \%$	RSD, %
6	1,44783	1,9766	0,00444	0,0050	4.0	0,35	0.307%

Таблица 30 – Результаты определения правильности методики определения полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту

Номер образца	Суммарное содержание полифенолов в пробе, г	Добавлено СО 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту 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

Для проведения исследований по оценке повторяемости выбранной методики мы провели шесть параллельных замеров. Полученные данные использовали для расчета величин стандартного отклонения и относительного стандартного отклонения. Относительное стандартное отклонение составило 0,69%, что не превышает 3%, т.е. можно считать, что систематическая ошибка отсутствует. Эти данные позволяют считать, что выбранная нами методика обладает прецизионностью в условиях повторяемости эксперимента. Воспроизводимость методики проверяли два аналитика на трех исследуемых образцах в трех повторностях. Для оценки правильности методики вносили в экспериментальные образцы точно измеренные добавки стандартного образца кислоты галловой с использованием девяти определений [51]. В ходе анализа выявлено, что предлагаемая методика является правильной, поскольку процент восстановления содержания полифенолов в пересчете на 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту находится в пределах 93,5-104,9%, что соответствует установленным требованиям [80].

Таким образом, предлагаемая методика количественного определения суммарного содержания полифенольных веществ в пересчете на 3,4,5-тригидроксибензойную кислоту в побегах можжевельника обыкновенного является пригодной для включения в разрабатываемую нормативную документацию.

5.3. Анализ некоторых показателей качества извлечений из побегов можжевельника обыкновенного

В лабораторных условиях нами были получены водные и водно-спиртовые извлечения из побегов можжевельника обыкновенного. Некоторые показатели их качества представлены в Таблице 31.

Таблица 31 – 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
Сухой остаток, %	6,34	5,87	3,41
Плотность, г\мл	1,0112	0,9122	0,9314
Определение основных групп БАВ			
Раствор квасцов железо-аммониевых (полифенольные соединения)	Черно-синее окрашивание	Черно-синее окрашивание	Черно-синее окрашивание
Цианидиновая проба (флавоноиды)	Розовое окрашивание	Розовое окрашивание	Розовое окрашивание
Спирт этиловый, 96% (полисахариды)	Образование сероватой мути	Образование сероватой мути	Образование сероватой мути
Пенообразование (сапонины)	Образование устойчивой пены	Образование устойчивой пены	Образование устойчивой пены

Продолжение Таблицы 31

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

5.4. Определение антимикробной активности

Учитывая имеющиеся литературные данные с одной стороны демонстрирующие рост резистентности ряда микроорганизмов к современному арсеналу антибиотикотерапии [7, 11, 37, 46, 49], а с другой показывающие впечатляющие результаты, доказывающие разностороннее антимикробное действие, которым обладают многие лекарственные растения [1, 12, 81, 82], мы сочли целесообразным проведение оценки антимикробной активности нового растительного сырья побеги можжевельника обыкновенного.

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 оценки антимикробной активности извлечений из побегов можжевельника представлены в Таблице 32.

Таблица 32 – Результаты анализа антимикробного действия извлечений из побегов можжевельника обыкновенного

Тест-микрорганализм	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.

5.5. Выводы к Главе 5

1. Проведен анализ показателей качества предлагаемого растительного сырья побеги можжевельника обыкновенного, включающий определение

влагосодержания, побегов, утративших естественную окраску, частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, органической примеси, минеральной примеси, золы общей, золы нерастворимой в 10 % кислоте соляной, содержание эфирного масла, экстрактивных веществ, извлекаемых 70 % спиртом, содержание полифенольных соединений.

2. Даны характеристики и установлены основные показатели качества, полученных в лабораторных условиях извлечений из побегов можжевельника обыкновенного, для которых установлена регламентация рН, сухого остатка, плотности, а также определено содержание основных действующих веществ по методикам, опробованным ранее на исходном ЛРС.

3. Показана возможность получения лекарственных форм из побегов можжевельника обыкновенного.

4. Разработана и валидирована методика количественного определения полифенольных веществ в пересчете на кислоту галловую методом УФ-спектрофотометрии с реактивом Фолина-Чокальтеу.

5. Доказано наличие противомикробной активности водных и водно-спиртовых извлечений из побегов можжевельника обыкновенного в отношении аэробных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, Семейства Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*.

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 порошкованного 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БАВ – биологически активные вещества

БАД – биологически активная добавка

БНК – бутадиен-нитрильный каучук

ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография масс-спектрометрия

ГФ – государственная фармакопея

ГХ-МС – газовая хроматография-масс-спектрометрия

ЛРС – лекарственное растительное сырьё

МС – масс-спектрометрия

СФМ – спектрофотометрия

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ – ультрафиолетовый

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абатуров, А. Е. Антибиопленочные эффекты муколитических лекарственных средств / А. Е. Абатуров, Е. А. Русакова // Здоровье ребенка. – 2020. – Т. 15. – № 6. – С. 482-488.
2. Аврач, А. С. Биологически активные вещества плодов и водных извлечений малины обыкновенной / А. С. Аврач, Е. В. Сергунова, Я. В. Куксова // Фармация. – 2014. – № 1. – С. 8-10.
3. Аврач, А. С. Изучение фенольных соединений плодов и настоев малины обыкновенной различных способов консервации / А.С. Аврач, И.А. Самылина, Е.В. Сергунова // Сеченовский вестник. – 2014. – №1 (15). – С. 114-115.
4. Аврач, А. С. Тонкослойная хроматография в анализе плодов лекарственных растений семейства Розоцветные / А. С. Аврач, Е. В. Сергунова, И. А. Самылина // Фармация. – 2014. – № 2. – С. 15-18.
5. Анализ состава некоторых фенолкарбонновых кислот и терпенов в плодах и хвое можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.) методами газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии / А. Р. Ермаков, Н. В. Бобкова, О. В. Нестерова [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2025. – Т. 80. – № 11. – С. 1206-1213.
6. Ананьина, Н. А. Исследование дубильных веществ клубней георгины простой / Н. А. Ананьина // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : Сборник научных трудов. – Пятигорск : Пятигорская государственная фармацевтическая академия, 2010. – С. 7-8.
7. Антибиотикорезистентность и новые антимикробные стратегии: изучение проблем устойчивости к антибиотикам и разработки новых лекарственных средств / Д. А. Бурмистров, А. В. Гречман, Р. В. Чернецов [и др.] // Вестник Санкт-Петербургского университета: Медицина. – 2024. – Т. 19. – № 3. – С. 265-277.
8. Белых, Д. В. Количественное определение хлорофилла а в биомассе спирулины с помощью ЯМР ¹H / Д. В. Белых, Е. Н. Зайнуллина, О. М. Старцева // Макрогетероциклы / *Macroheterocycles*. – 2020. – № 13(3). – С. 260-268.

9. 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(14). – С. 26-35.
10. Валидация методики количественного определения флавоноидов в траве бодяка полевого / С. Р. Шамсутдинова, К. А. Пупыкина, Е. В. Красюк, Л. В. Старцева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – № 24(6). – С. 36-41.
11. Виноградова, А. Г. Обзор информационных ресурсов по генам устойчивости микроорганизмов / А. Г. Виноградова, А. Ю. Кузьменков // Казанский медицинский журнал. – 2019. – Т. 100. – № 3. – С. 457-463.
12. Влияние антимикробных веществ растительного происхождения на чувствительность бактериальных биопленок к антимикробным препаратам / О. Рыбальченко, О. Орлова, М. Нетеса, В. Капустина // Вестник Санкт-Петербургского университета: Медицина. – 2023. – № 18 (2). – С. 176-191.
13. Гайдашев, И. А. Разработка стандартного образца предприятия для микроэлементного анализа лекарственного растительного сырья : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Гайдашев Иван Андреевич; Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы. – Москва, 2025. – 153 с.
14. Галенко, М. С. Оценка рисков воздействия тяжелых металлов и мышьяка, поступающих в организм человека с лекарственными растительными препаратами / М. С. Галенко, И. В. Гравель // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т. 13. – № 4. – С. 180-189.
15. Гаммерман, А. Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР / А. Ф. Гаммерман, И. И. Гром. – Москва: Медицина, 1976. – 288 с.
16. Герлинг, Н. В. Компонентный состав эфирного масла можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.) под пологом елового древостоя на европейском северо-востоке России / Н. В. Герлинг, В. В. Пунегов, И. В. Груздев // Химия растительного сырья. – 2016. – № 2. – С. 89-96.

17. Глаз, Н. В. Методические подходы к выбору условий пробоотбора и оценке содержания хлорофилла в листьях растений кукурузы / Н. В. Глаз, Н. И. Казакова, Л.В. Уфимцева // Вестник КрасГАУ. – 2015. – № 3 (102). – С. 73-77.
18. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Том II (с изменениями и дополнениями) : Общая фармакопейная статья «Лекарственные формы. ОФС.1.4.1.0001.15». – URL: <https://base.garant.ru/71363784/>.
19. Григорьев, А.В. Рентгенофлуоресцентный анализ растительных материалов, способы добавок и внешнего стандарта / А.В. Григорьев // Известия РГПУ им. А. И. Герцена. – 2012. – № 144. – С. 82-91.
20. Гризодуб, А.И. К вопросу о разработке подходов к валидации методик контроля качества лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов, Доклад: VI Научно-практическая конференция с международным участием «Управление качеством в фармации», 12 октября 2012 г. / А.И. Гризодуб, К.И. Проскурина, О. Ефтифеева. – Харьков; Национальный фармацевтический университет, 2012.
21. Гурчин, Д. А. Аптека домовая большая / Д. А. Гурчин // Отдел Рукописей Российской национальной библиотеки Q. VI. 45. – 1708.
22. Девицкая, В. А. Анализ содержания тритерпеновых сапонинов в почках и листьях березы повислой (*Betula Pendularoth.*) / В. А. Девицкая, О. В. Нестерова, Д. А. Доброхотов // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2023. – Т. 25. – № 11. – С. 5-10.
23. 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.
24. Зыкова, И. Д. Сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел *Pinus Pithyusa Steven* и *Pinus Silvestris* / И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов // Химия растительного сырья. – 2012. – № 2. – С. 105-109.
25. Иванова, Д. Ф. Фитохимическое изучение, разработка и стандартизация лекарственных средств на основе первоцвета весеннего (*Primula veris L.*) : специальность 14.04.02. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация

- ... кандидата фармацевтических наук / Иванова Дина Фирусовна; ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Самара, 2018. – 194 с.
26. Иванова, Л.В. Количественное определение эфирных масел в лекарственных растениях / Л.В. Иванова // Фармакогнозия. – 2015.
27. Идентификация и количественное определение флавоноидов в настойке и сиропе плодов можжевельника обыкновенного / Т. А. Олейникова, Э. Ф. Степанова, О. О. Новиков [и др.] // Актуальные проблемы медицины. – 2017. – Т. 5. – № 254.
28. Идентификация каротиноидов туники асцидии пурпурной *Halocynthia aurantium* / Е. С. Моторя, Т. Н. Пивненко, П. А. Задорожный [и др.] // Известия ТИНРО. – 2011. – Т. 167. – С. 252-261.
29. Идентификация фенольных соединений и количественное определение фенолкарбоновых кислот в сырье можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*) / А. Р. Ермаков, Н. Г. Захарова, Д. А. Доброхотов [и др.] // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2025. – Т. 27. – № 11. – С. 111-116. – DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2025-27-11-111-116.
30. Изучение состава полифенольных соединений шишкоягод можжевельника длиннохвойного / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, Е. Т. Жилякова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5. – С. 635.
31. Использование нативных и модифицированных полисахаридов с целью получения антибактериальных препаратов / Е. Н. Хрусталёва, А. Н. Батян, В. В. Литвяк, В. А. Кравченко. – Минск : ИВЦ Минфина, 2020. – Ч. 2. – С. 191-194.
32. Исследование эфирного масла корней ели обыкновенной (*Picea abies* (L.) Н. Karst) семейства - Pinaceae / Д.К. Гуляев, В.Д. Белоногова, П.С. Мащенко, И.В. Коротков // Фармация и фармакология. – 2017. – № 5(6). – С. 520-531.
33. Исследование эфирного масла шишкоягод *juniperus communis* L. различного происхождения в рамках научного направления «Фармацевтический ремейк» / О. О. Новиков, Д. И. Писарев, И. В. Корниенко [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2016. – №2. – С. 27-36.

34. Исследование эффективности экстракции терпеноидов при комплексной переработке плодов можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.) / Т. А. Олейникова, Э. Ф. Степанова, О. О. Новиков [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2015. – Т. 22(219). – № 32. – С. 154-157.
35. Количественное определение дубильных веществ в траве горца почечуйного / А. А. Мальцева, А. С. Чистякова, А. А. Сорокина [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – № 2. – С. 203-205.
36. Количественное определение фенолкарбоновых (гидроксикоричных) кислот в листьях черемухи обыкновенной (*Prunus Padus* L.) и черемухи Маака (*Prunus Maackii* Rupr.) / Н. Е. Чувиров, Н. В. Нестерова, О. В. Нестерова [и др.] // Фармацевтический анализ и контроль качества лекарственных средств. – 2023. – № 3 (41). – С. 11-16.
37. Коменкова, Т. С. Современные представления о механизмах резистентности к антимикробным препаратам *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* / Т. С. Коменкова, Е. А. Зайцева // Антибиотики и химиотерапия. – 2020. – № 11-12. – С. 38-48.
38. Компонентный состав эфирного масла лапки и шишкоягод можжевельника сибирского Эвенкии / Е. А. Ефремов, И. Д. Зыкова, А. А. Ефремов, Е. Г. Струкова // Химия растительного сырья. – 2011. – № 2. – С. 127-131.
39. Компонентный состав эфирного масла почек *Pinus sylvestris* L., произрастающей в урбоусловиях Томского района / Н. Э. Коломиец, Н. Ю. Абрамец, Р. А. Бондарчук [и др.] // Химия растительного сырья. – 2019. – № 1. – С. 181-190.
40. Косенко, А. А. Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях тополя белого (*Populus alba* L.) / А. А. Косенко, А. В. Куркина, В. А. Куркин // Фармация. – 2023. – № 7. – С. 30-36.
41. Костыгина, М. Н. Определение цинка в траве кипрея узколистного (*Chamaenerion angustifolium* L.) / М. Н. Костыгина, М. П. Гришина, Т. В. Максимова // Сборник трудов четвертой научно-практической конференции с

международным участием «Молодые ученые и фармация XXI века». – Москва : ВИЛАР, 2016. – С. 251-255.

42. Кудашкина, Н. В. Фитохимический анализ, Биологическая активность растительных полисахаридов : учебное пособие / Н. В. Кудашкина. – Уфа : БГМУ, 2019. – 193 с.

43. Курегян, А. Г. Спектрофотометрия в анализе каротиноидов / А. Г. Курегян // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2-23. – С. 5166-5172.

44. Логвинова, Е. Е. Определение органических кислот в плодах аронии черноплодной / Е. Е. Логвинова, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин // Актуальные проблемы медицины. – 2015. – № 10 (207). – С. 109-195.

45. Магомедова, З. М. Фитохимическое исследование лекарственного растительного сырья на содержание органических кислот / З. М. Магомедова // Известия ДГПУ. Естественные и точные науки. – 2020. – № 3. – С. 26-30.

46. Марийко, В. А. Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности (обзор литературы) / В. А. Марийко, В. В. Марийко // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2025. – № 3. – С. 147-159.

47. Микробиологические исследования экстракта можжевельника на определение чувствительности к штаммам микроорганизмов / К. О. Иванова, А. М. Лунегов, Т. Ф. Черных, К. Ф. Зенков // Формулы Фармации. – 2024. – Т. 5. – № 4. – С. 52-56.

48. Минеджян, Г. З. Сборник по народной медицине и нетрадиционным способам лечения : рецептурный справочник / Г. З. Минеджян. – Москва : Адрес-Пресс, 2004. – 487 с.

49. Молекулярные детерминанты резистентности *Salmonella Enterica* к антибиотикам / А. С. Павлова, Ю. А. Бочарова, К. В. Кулешов [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – № 6. – С. 721-730.

50. Наймушина, Л. В. Спектрофотометрическое исследование накопления хлорофилла и его производных в экстрактах Melissa лекарственной при использовании двухфазной системы растворителей / Л. В. Наймушина, А. Ю.

Карасева, Н. В. Чесноков // Journal of Siberian Federal University. Chemistry. – 2012. – № 3 (5). – С. 281-288.

51. Нестеров, Г.В. Изучение показателей качества листьев ольхи видов *Alnus incana* (L.) Moench; *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Нестеров Георгий Викторович; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2025. – 174 с.

52. Нестерова, Н. В. Фармакогностическое изучение и стандартизация сырья *Malus sylvestris* (Яблони лесной) : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Нестерова Надежда Викторовна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова. – Москва, 2019. – 246 с.

53. Общие знания и состояние исследований в области фармакологии растений рода *Juniperus* L. (обзор с ретроспекцией) / О. О. Новиков, Д. И. Писарев, Е. Т. Жиликова [и др.] // Актуальные проблемы медицины. – 2013. – № 25 (168). – С. 5-9.

54. Определение фенолкарбоновых кислот в сборе "Панкреофит" / И. Г. Николаева, Г. Г. Николаева, Т. А. Туртуева [и др.] // Вестник Бурятского государственного университета. – 2014. – № 12. – С. 133-136.

55. Особенности разработки и валидации методик определения элементных токсикантов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах / В. М. Щукин, Н. Е. Кузьмина, Ю. Н. Швецова, А. И. Лутцева // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022. – № 12(1). – С. 65-78.

56. Особенности экспресс-определения микроэлементов в лекарственных и неофициальных растениях / М. П. Макарова, А. В. Сыроешкин, Т. В. Максимова

[и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2019. – Т. 8. – № 2. – С. 93-97.

57. Оценка содержания пигментов хвои можжевельника обыкновенного методами тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии / А. Р. Ермаков, И. И. Соколова, Д. А. Доброхотов [и др.] // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2025. – Т. 27. – № 5. – С. 135-140.

58. Оценка эквивалентности методов определения дубильных веществ, используемых для анализа лекарственного растительного сырья / Н. П. Антонова, А. М. Калинин, С. С. Прохватилова [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2015. – №1. – С. 11-15.

59. Палий, А. Е. Особенности качественного и количественного состава фенольных соединений можжевельника высокого (*Juniperus excelsa* Vieb.) и можжевельника колючего (*Juniperus oxycedrus* L.), произрастающих на Южном берегу Крыма / А. Е. Палий, Е. С. Крайнюк // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 2007. – Т. 128. – С. 73-80.

60. Писарев, Д. И. Разработка экспресс-метода определения каротиноидов в сырье растительного происхождения / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, Т. А. Романова // Актуальные проблемы медицины. – 2010. – № 22 (93).

61. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин, Ж. А. Абилов, Р. А. Музычкина, Г. А. Толстиков. – Новосибирск: Гео, 2007. – 232 с.

62. Разработка и валидация комплексонометрической методики определения кальция и магния в лекарственном растительном сырье (на примере травы *persicaria maculosa* gray) / А. С. Чистякова, А. А. Гудкова, О. В. Тринеева [и др.] // Химия растительного сырья. – 2020. – № 3. – С. 155-162.

63. Разработка и валидация методики количественного определения арбутина в брусники обыкновенной листьях / А. А. Шамилов, В. Н. Бубенчикова, Е. Р. Гарсия [и др.] // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2021. – №1 (31). – С. 4-15.

64. Разработка и валидация методики количественного определения фенольных соединений и хлорогеновой кислоты в голубики болотной листьях / А. А.

- Шамилов, В. Н. Бубенчикова, Е. Р. Гарсия [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – № 25(2). – С. 14-23.
65. Разработка метода идентификации и определение эфирного масла в побегах туи западной (*Thuja Occidentalis*) / Е. Д. Копытова, Д. А. Доброхотов, Е. А. Доровских [и др.] // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2024. – Т. 26. – № 4. – С. 57-64. – DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2024-26-4-57-64.
66. Ромарчук, А. Ю. Изучение фенолкарбоновых кислот в траве эхинацеи и таблетках эхинацеи с целью разработки методики их количественного определения с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) / А. Ю. Ромарчук // Фармацевтическое дело и технология лекарств. – 2022. – № 2. – С. 13-19.
67. Сафонова, Н. В. Анализ рынка средств на основе растительного сырья, применяемых в урологии / Н. В. Сафонова, Е. О. Трофимова // Ремедиум. – 2020. – № 7-8. – С. 34-41.
68. Сезонная динамика терпеновых углеводов эфирного масла сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / С. А. Ламоткин, Е. Д. Скаковский, Е. Г. Механикова [и др.] // Труды БГТУ. – 2019. – Серия 2. – № 1. – С. 17-24.
69. Складневская, Н. В. Определение флавоноидов в траве пастушьей сумки: разработка методики и ее валидация / Н. В. Складневская, Л. А. Пахомова // Фармация. – 2017. – № 66. – № 4. – С. 20-24.
70. Современные подходы к вопросу стандартизации лекарственного растительного сырья / А. Н. Миронов, И. В. Сакаева, Е. И. Саканян [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2013. – № 2. – С. 52-56.
71. Современные способы определения и идентификации флавоноидов горянки (*Erpimedium*) / О. А. Шевлякова, А. А. Ихалайнен, А. М. Антохин [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2016. – № 3. – С. 172-182.
72. Современные требования к качеству лекарственных средств растительного происхождения / Е. И. Саканян, Е. Л. Ковалева, Л. Н. Фролова, В. В. Шелестова //

Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2018. – Т. 8. – № 3. – С. 170-178.

73. Соколов, С. Я. Справочник по лекарственным растениям / С. Я. Соколов. – Москва: Недра, 1987. – 512 с.

74. Соколова, Г. Г. Динамика содержания пигментов в листьях клена ясенелистного (*Acer negundo* L.) в условиях города Барнаула / Г. Г. Соколова // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2020. – Т.19. – № 1. – С. 229-235.

75. Соколова, Г. Г. Перспективы использования можжевельников в озеленении в условиях лесостепной зоны Алтайского края / Г. Г. Соколова, С. В. Молостова // Известия Алтайского государственного университета. – 2009. – № 3(63). – С. 27-29.

76. Сорбция нефтяных веществ на поверхности углеродного монолита и последующее их определение методом ГХ/ГХ/МС / Е. С. Маркова, А. В. Пирогов, А. А. Садовникова [и др.] // Вестник Московского университета. Серия. 2. Химия. – 2022. – Т. 63. – № 2. – С. 125-131.

77. Состав экстрактивных веществ древесной зелени можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.) приарктических территорий / Н. В. Селиванова, Н. А. Самсонова, М. А. Гусакова [и др.] // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. – 2019. – № 6(372). – С. 241-254.

78. Состав эфирных масел представителей рода *Juniperus* L., интродуцированных в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси / А. Г. Шутова, Е. В. Спиридович, И. М. Гаранович [и др.] // Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2009. – Т. 4. – № 1. – С. 115-130.

79. Сравнительный химический анализ эфирного масла шишкоягод *Juniperus communis* L. из разных регионов Российской Федерации / И. В. Корнищенко, О. О. Новиков, Д. И. Писарев, А. Ю. Малютин // Сетевой научно-практический журнал. Серия Медицина и фармация. – 2015. – Т. 1. – № 3. – С. 80-87.

80. Сулейманова, Ф. Ш. кызы. Разработка и совершенствование методов контроля качества лекарственного растительного сырья травы золотарника канадского и определение его биологической активности : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Сулейманова Фидан Ширин кызы; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2020. – 169 с.
81. Тапальский, Д. В. Антибактериальная активность официальных лекарственных растений в отношении экстремально-антибиотикорезистентных грамотрицательных бактерий / Д. В. Тапальский, Ф. Д. Тапальский // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – №4 (46).
82. Тапальский, Д. В. Антибактериальные свойства растительных экстрактов и их комбинаций с антибиотиками в отношении экстремально-антибиотикорезистентных микроорганизмов / Д. В. Тапальский, Ф. Д. Тапальский // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2018. – № 1. – С. 78-83.
83. Тимошечкина, М. Е. Некоторые данные биологического действия эфирного масла можжевельника / М. Е. Тимошечкина // Научные труды Азербайджанского института рентгенологии, радиологии и онкологии. – 1951. – С. 58-67.
84. Тринеева, О. В. Комплексное исследование профиля свободных органических кислот плодов облепихи крушиновидной (*Hipporhae Rhamnoides L.*) различных сортов / О. В. Тринеева, М. А. Рудая // Химия растительного сырья. – 2021. – №4. – С. 231-239.
85. Тринеева, О. В. Определение гидроксикоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*Urtica Dioica L.*) / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, Е. Ф. Сафонова // Химия растительного сырья. – 2015. – № 3. – С. 105-110.
86. Тринеева, О. В. Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного

сырья методом ТСХ / О. В. Тринеева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – № 10(2). – № 69-79.

87. Тринеева, О. В. Теоретические и методологические подходы к стандартизации и оценке качества лекарственного растительного сырья и масляных экстрактов на его основе : специальность 14.04.02. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация ... доктора фармацевтических наук / Тринеева Ольга Валерьевна; Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2017. – 441 с.

88. Урбанович, Е. А. Определение количественного содержания хлорофиллов в листьях по спектрам отражения алгоритмом случайного леса / Е. А. Урбанович, Д. А. Афонников, С. В. Николаев // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2021. – № 25(1). – С. 64-70.

89. Уромова, И. П. Влияние антропогенных факторов на содержание фотосинтетических пигментов в листьях древесных растений в городских условиях / И. П. Уромова, О. В. Штырлина, И. С. Дедюра // Journal of Agriculture and Environment. – 2023. – Т. 12. – № 40.

90. Федосеева, Л. М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае / Л. М. Федосеева // Химия растительного сырья. – 2005. – № 3. – С. 45-50.

91. Физико-химические свойства флавоноидов / Е. Е. Курдюков, Н. В. Финасова, В. А. Неклюдова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – Т. 11. – № 137.

92. Фотосинтетические пигменты сосны сибирской (*Pinus sibirica* DuTour) в биоиндикации условий окружающей среды / С. Н. Русак, И. И. Варлам, И. В. Кравченко [и др.] // Проблемы региональной экологии. – 2018. – № 3. – С. 6-11.

93. Хлебникова, А. Н. Цинк, его биологическая роль и применение в дерматологии / А. Н. Хлебникова, Д. Д. Петрунин // Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. – № 6. – С. 100-116.
94. Хлопова, А. Е. Условия применимости t-критерия Стьюдента в медицине / А. Е. Хлопова, И. В. Щербакова // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2014. – № 11.
95. Чемпосов, В. В. Фенольные соединения из *Juniperus communis* L.var.*Saxatilis* / В. В. Чемпосов, А. Г. Васильева, Н. К. Чирикова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2020. – Т. 15. – № 5. – С. 72-76.
96. Чечета, О. В. Выбор оптимальных параметров хроматографического определения рутина методом ТСХ // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ: сб. статей. ч. 2. / О. В. Чечета, А. И. Сливкин, И. И. Сафонова. – Воронеж, 2010. – С. 407-410.
97. Чупарина, Е. В. Состояние и проблемы рентгенофлуоресцентного анализа растительных материалов / Е. В. Чупарина, Т. Н. Гуничева // Аналитика и контроль. – 2004. – Т. 8. – № 3. – С. 211-226.
98. AI-Roubaeay, D. A. Extraction of essential oil from *juniperus communis* and study it's effect on the growth of bacteria and yeast isolated from urinary tract infections / D. A. AI-Roubaeay // Iraqi J. Comm. Med. – 2006. – Vol. 19. – № 2.
99. Allenspach, M. D. Absolute quantification of terpenes in conifer-derived essential oils and their antibacterial activity / M. D. Allenspach, C. Valder, C. Steuer // J Anal Sci Technol. – 2020. – № 11. – Art. 12.
100. Andersen, O. M. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton: Taylor & Francis Group / O. M. Andersen, K. R. Markham // Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis, 2006. – 1212 p.
101. Anti-arthritic effects of total flavonoids from *juniperus sabina* on complete freund's adjuvant induced arthritis in rats / J. Zhao, T. Liu, F. Xu [et al.] // Pharmacogn Mag. – 2016. – Vol. 12. – № 47. – P. 178-183.

102. Anti-hypercholesterolemic activity of *Juniperus communis* Lynn Oil in rats: A biochemical and histopathological investigation / M. Akdogan, A. Koyu, M. Ciris, K. Yildiz // *Biomedical Research*. – 2012. – № 23 (3). – P. 321-328.
103. Assessment of the Use of Common Juniper (*Juniperus communis* L.) Foliage following the Cascade Principle / I. Mediavilla, R. Bados, L. Barros [et al.] // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – № 10. – P. 4008. – DOI: 10.3390/molecules28104008.
104. Beyond essential oils: diterpenes, lignans, and biflavonoids from *Juniperus communis* L. as a source of multi-target lead compounds / A. A. Jojić, S. Liga, D. Uçu [et al.] // *Plants (Basel)*. – 2024. – Vol. 13. – № 22. – Art. 3233.
105. Biological activity of essential oils of four juniper species and their potential as biopesticides / I. Semerdjieva, V. D. Zheljazkov, T. Radoukova [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 21. – Art. 6358.
106. Biological activity of *Juniperus communis* L. extracts / I. Mahmutović, S. Dahija, R. Bešta-Gajević, E. Karalija // In Proceedings of the 28th International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 27–29 September 2017. – P. 27-29.
107. Chemical and Bioactive Characterization of the Essential Oils Obtained from Three Mediterranean Plants / V. Xavier, T. C. Finimundy, S. A. Heleno [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 24. – P. 7472. – DOI: 10.3390/molecules26247472.
108. Chemical composition and antimicrobial activity of hydrodistilled oil from juniper berries / S. Falcão, I. Bacém, G. Igrejas [et al.] // *Industrial Crops and Products*. – 2018. – Vol. 124. – № 4. – P. 878-884.
109. Chemical variability of the berry essential oil of two subspecies of *Juniperus Oxycedrus* L. from Northwestern Algeria / M. Boussaïd, C. Bekhechi, A. Bouayed [et al.] // *Chem Biodivers*. – 2024. – Vol. 21. – № 7. – P. e202400862. – DOI: 10.1002/cbdv.202400862.
110. Chemodiversity and Bioactivity of the Essential Oils of *Juniperus* and Implication for Taxonomy / H. Hu, D. Li, R. Bai [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2023. – Vol. 24. – № 20. – P. 15203. – DOI: 10.3390/ijms242015203.

111. Comparative analysis of chemical profile and biological activity of *Juniperus communis* L. Berry Extracts / T. Belov, D. Terenzhev, K. N. Bushmeleva [et al.] // *Plants* (Basel). – 2023. – Vol. 12. – № 19. – P. 3401. – DOI: 10.3390/plants12193401.
112. Comparative analysis of flavonoid profile, antioxidant and antimicrobial activity of the berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey / N. Miceli, A. Trovato, P. Dugo [et al.] // *J Agric Food Chem.* – 2009. – Vol. 57. – № 15. – P. 6570-6577.
113. Contribution of Dietary Oxalate and Oxalate Precursors to Urinary Oxalate Excretion / J. J. Crivelli, T. Mitchell, J. Knight [et al.] // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 13. – № 1. – P. 62.
114. Deuterium depleted water as an adjuvant in treatment of cancer / A. Syroeshkin, O. Levitskaya, E. Uspenskaya, T. Pleteneva [et al.] // *Systematic Reviews in Pharmacy.* – 2019. – Vol. 10. – № 1. – P. 112-117.
115. D/H modification of plant peptides and microelements metabolome / M. Makarova, A. Syroeshkin, T. Maksimova [et al.] // *FEBS Open Bio.* – 2019. – Vol. 9. – P. 287-288.
116. Efficacy-directed discrimination of the essential oils of three *Juniperus* species based on their in-vitro antimicrobial and anti-inflammatory activities / R. S. Darwish, H. M. Hammoda, D. A. Ghareeb, [et al.] // *J Ethnopharmacol.* – 2020. – № 259. – P. 112971.
117. 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. – P. 29.
118. Evaluation on analgesic and anti-inflammatory activities of total flavonoids from *Juniperus sabina* / J. Zhao, A. Maitituersun, C. Li [et al.] // *Evid Based Complement Alternat Med.* – 2018. – № 2018. – Art. 7965306.
119. Genoprotective, antioxidant, antifungal and anti-inflammatory evaluation of hydroalcoholic extract of wild-growing *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) native to

Romanian southern sub-Carpathian hills / I. Fierascu, C. Ungureanu, S. M. Avramescu [et al.] // *BMC Complement Altern Med.* – 2018. – Vol. 18. – № 1. – Art. 3.

120. Gupta, P. A rapid and sensitive method for determination of carotenoids in plant tissues by high performance liquid chromatography / P. Gupta, Y. Sreelakshmi, R. Sharma // *Plant Methods.* – 2015. – № 11. – Art. 5.

121. High and variable hydraulic resistance to embolism among three Asian juniper species: Hydraulic resistance to embolism in Asian junipers / M. Larter, A. Akhmedov, C. Payne, S. Delzon, T. Klein // *Journal of Plant Hydraulics.* – 2024. – № 10(1). – Art. 2.

122. Hirshfield, I. N. Weak organic acids: a panoply of effects on bacteria / I. N. Hirshfield, S. Terzulli, C. O'Byrne // *Sci Prog.* – 2003. – № 86(Pt 4). – P. 245-269.

123. HPLC-Profiles of Tocopherols, Sugars, and Organic Acids in Three Medicinal Plants Consumed as Infusions / C. L. Roriz, L. Barros, A. M. Carvalho, I. C. Ferreira // *Int J Food Sci.* – 2014. – № 2014. – Art. 241481.

124. Influence of environmental factors on content and composition of essential oil from common juniper ripe berry cones (*Juniperus communis* L.) / J. Fejér, D. Grulova, A. Eliašová [et al.] // *Plant Biosyst.* – 2018. – № 152. – P. 1227-1235.

125. *Juniperus communis* Linn oil decreases oxidative stress and increases antioxidant enzymes in the heart of rats administered a diet rich in cholesterol / N. Gumral, D.D. Kumbul, F. Aylak, M. Saygin, E. Savik // *Toxicol Ind Health.* – 2015. – Vol. 31. – № 1. – P. 85-91.

126. Life history of *Juniperus sabina* L. adapted to the sand shifting environment in the Mu Us Sandy Land, China: A review / O. Nobuhito, M. Naoko, Y. Lingli [et al.] // *Landscape and Ecological Engineering.* – 2021. – Vol. 17. – № 3. – P. 281-294.

127. Modulatory effect of standardised amentoflavone isolated from *Juniperus communis* L. against Freund's adjuvant induced arthritis in rats (histopathological and X Ray analysis) / S. Bais, N. Abrol, Y. Prashar, R. Kumari // *Biomed Pharmacother.* – 2017. – № 86. – P. 381-392.

128. Neuroprotective effect of organic acids diamides. Focus on changing mitochondrial function / D. I. Pozdnyakov, A. V. Voronkov, I. P. Kodonidi [et al.] // *PharmacologyOnline.* – 2020. – Vol. 1. – P. 237-247.

129. Organic Acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)-A Brief Review of Its Pharmacological Effects / J. A. Izquierdo-Vega, D. A. Arteaga-Badillo, M. Sánchez-Gutiérrez [et al.] // *Biomedicines*. – 2020. – Vol. 8. – № 5. – P. 100.
130. Phytochemical and antioxidant screening of some extracts of *Juniperus communis* L. and *Juniperus oxycedrus* L. / N. Živić, S. Milošević, V. Dekić [et al.] // *Czech J. Food Sci.* – 2019. – № 37. – P. 351-358.
131. Phytochemistry, Pharmacology, and Traditional Medicine Applications of *Juniperus sabina* L.: A Comprehensive Overview / L. Pan, T. Zhou, C. Chen [et al.] // *Molecules*. – 2024. – Vol. 29. – № 24. – P. 5876. – DOI: 10.3390/molecules29245876.
132. Potential of *Juniperus communis* L. as a nutraceutical in human and veterinary medicine / R. Raina, P. K. Verma, R. Peshin, H. Kour // *Heliyon*. – 2019. – Vol. 5. – № 8. – Art. e02376.
133. Rees, A. The Effects of Flavonoids on Cardiovascular Health: A Review of Human Intervention Trials and Implications for Cerebrovascular Function / A. Rees, G. F. Dodd, J. P. E. Spencer // *Nutrients*. – 2018. – Vol. 10. – № 12. – Art. 1852.
134. Regeneration analysis of the *Juniperus excelsa* mixed stands in prespa national park of greece as a base for the assessment of the appropriate silvicultural treatment for the conservation of the species / A. Stampoulidis, E. Pipinis, P. Petrou, K. Kitikidou // *SEEFOR*. – 2023. – Vol. 14. – № 1. – P. 47-52.
135. Ricke, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials / S. C. Ricke // *Poult Sci.* – 2003. – Vol. 82. – № 4. – P. 632-639.
136. Seasonal Variability of *Juniperus communis* L. Berry Ethanol Extracts: 1. In Vitro Hydroxyl Radical Scavenging Activity / J. Fejér, I. Kron, D. Grul'ová, A. Eliašová // *Molecules*. – 2020. – № 25. – P. 4114.
137. Similar functional structure and encroaching dynamics in two *Juniperus* species with contrasting distribution patterns / M. N. Josep, A. Alba, M. Aldo [et al.] // *Folia Geobot.* – 2025. – № 59. – P. 129-146.
138. Simultaneous extraction, optimization, and analysis of flavonoids and polyphenols from peach and pumpkin extracts using a TLC-densitometric method / A. Altemimi, D. G. Watson, M. Kinsel, D. A. Lightfoot // *Chem Cent J.* – 2015. – № 9. – P. 39.

139. Srimoon, R. Development and Validation of the Folin-Ciocalteu Semi-Micro Method for Total Phenolic Compounds Determination in Rangdaeng (*Ventilago denticulata* Willd.) Extract / R. Srimoon, S. Niyomwan // *Burapha Science Journal*. – 2021. – № 26. – P. 378-398.
140. Study of cytotoxic activity, podophyllotoxin, and deoxypodophyllotoxin content in selected *Juniperus* species cultivated in Poland / M. Och, A. Och, Ł. Cieśla [et al.] // *Pharm Biol*. – 2015. – Vol. 53. – № 6. – P. 831-837.
141. Sytykiewicz, H. Chemical Composition, Anti-Tyrosinase and Antioxidant Potential of Essential Oils from *Acorus calamus* (L.) and *Juniperus communis* (L.) / H. Sytykiewicz, I. Łukasik, S. Goławska // *Molecules*. – 2025. – Vol. 30. – № 11. – P. 2417. – DOI: 10.3390/molecules30112417.
142. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination / J. C. Sánchez-Rangel, J. Benavides, J. B. Heredia [et al.] // *Analytical Methods*. – 2013. – Vol. 5. – № 21. – P. 5990-5999.
143. The roles and potential mechanisms of plant polysaccharides in liver diseases: a review / X. Wei, D. Luo, H. Li [et al.] // *Front Pharmacol*. – 2024. – № 15. – Art.1400958.
144. Volatiles of all native *Juniperus* Species growing in greece-antimicrobial properties / E. Fotiadou, E. Panou, K. Graikou [et al.] // *Foods*. – 2023. – № 12(18). – Art. 3506.
145. X-ray fluorescence determination of zinc / M. P. Grishina, A. V. Syroeshkin, T. V. Maximova [et al.] // *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. – 2017. – Vol. 41. – Supl. 1. – P. 16.
146. Zimbrow (*Juniperus communis* L.) as a Promising Source of Bioactive Compounds and Biomedical Activities: A Review on Recent Trends / A.C. Gonçalves, J.D. Flores-Félix, P. Coutinho [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2022. – Vol. 23. – № 6. – Art. 3197.

ПРИЛОЖЕНИЕ А**ПРОЕКТ ФС «ПОБЕГИ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО –
JUNIPERUS COMMUNIS CORMUS»****МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

Можжевельника обыкновенного побеги***Juniperus communis***

Собранные в августе-сентябре в фазу созревания плодов и высушенные олиственные побеги текущего года дикорастущего вечнозеленого кустарника можжевельника обыкновенного - *Juniperus communis* L., сем. Кипарисовые – Cupressaceae.

Подлинность

Внешние признаки. Побеги можжевельника представляют собой стебли с расположенными на них листьями (хвоинками). Листья игловидные, жесткие, расположены мутовками по три; длина листьев от 5 до 15 мм, ширина около 1 мм; с верхней стороны темно-зеленые, блестящие, с характерной продольной светлой полосой в виде бороздки. Нижняя сторона листа гладкая. Край листа цельный, слегка завернут вниз.

Стебли цилиндрические, зелёные или рыжеватые, гладкие или слегка бороздчатые. Зеленые – гладкие, рыжеватые – с отслаивающейся пробкой. Диаметр стеблей составляет 1-3 мм, поверхность может быть покрыта мелкими точечными вкраплениями смолы. У молодых побегов кора тонкая, гладкая, у старых – немного грубее, коричневатая.

Запах характерный, пряный, смолистый. Вкус горьковатый, слегка пряный.

Измельченное сырье. Смесь кусочков стеблей и листьев, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10х) или стереомикроскопом (16х) должны быть видны фрагменты листовой пластинки с блестящей поверхностью светло-зеленой, серовато-зеленого, темно-зеленого цвета (верхняя кожистая сторона). Видна ребристая поверхность стеблей зеленоватого-рыже-коричневого цвета.

Запах характерный, пряный, смолистый. Вкус горьковатый, слегка пряный.

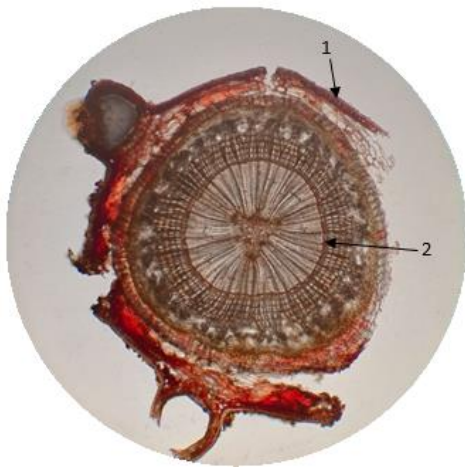
Микроскопические признаки. Поперечный срез хвоинки имеет округло-треугольную форму с нижней стороны выпуклую, иногда с выступающим килем с верхней стороны плоскую или слегка вогнутую. Хвоинка покрыта эпидермисом с утолщенным наружным кутикулярным слоем. Устьица расположены только на верхней стороне, погруженные до уровня гиподермы. Под эпидермисом по всему периметру располагается одно, реже двурядной гиподермой, клетки которой имеют равномерно утолщенную одревесневшую клеточную стенку. Проводящий пучок один, расположен по центру. Рядом с пучком по центру с нижней стороны располагается один округлый смоляной канал. Клетки паренхимы округлые, с нижней стороны клетки столбчатого мезофила располагаются более плотно.

Поперечный срез многолетнего стебля округлый в очертании. Покровная ткань представлена передермой состоящей из нескольких слоев плоских тангентально удлиненных клеток, иногда видны остатки отслаивающегося эпидермиса и гиподермы.

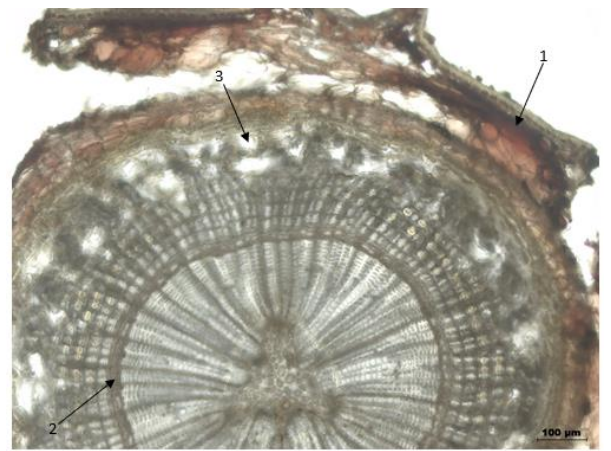
Линия камбия делит срез на коровую и древесную часть. В центре располагается ткань сердцевинки. Кора имеет заметное деление на первичную и вторичную кору. В первичной коре располагаются смоляные каналы. Вторичная кора имеет более упорядоченную структуру с сердцевинными лучами и механическими волокнами. Древесина имеет лучистое строение. Проводящая ткань древесины представлена трахеидами, расположенными рядами, чередующимися одно-, двурядными сердцевинными лучами.

При рассмотрении микропрепарата порошка хвой видны фрагменты эпидермиса с полигональными прямостенными клетками. Участки эпидермиса с устьицами аномоцитного типа, участки мезофила из округлых и овальных клеток с зеленовато-коричневым содержимым. Участки проводящей системы с пористыми трахеидами.

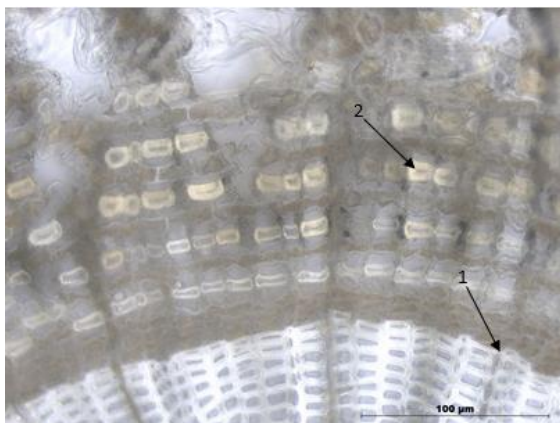
Основное диагностическое значение при микроскопическом анализе порошка значение имеют: участки эпидермиса хвой с полигональными прямостенными клетками, фрагменты эпидермиса с устьицами аномоцитного типа, обрывки мезофила из округлых и овальных клеток с зеленовато-коричневого содержимым, фрагменты покровных тканей стебля состоящие из пластов удлиненных прямостенных клеток коричневого цвета; участки проводящей системы листьев и стеблей с пористыми трахеидами; механические волокна коровой древесной части стебля.



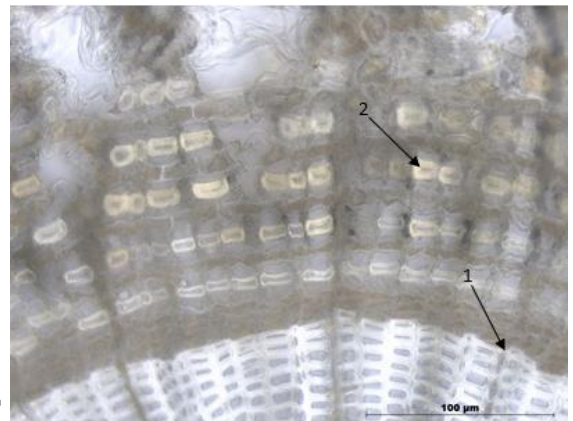
А



Б



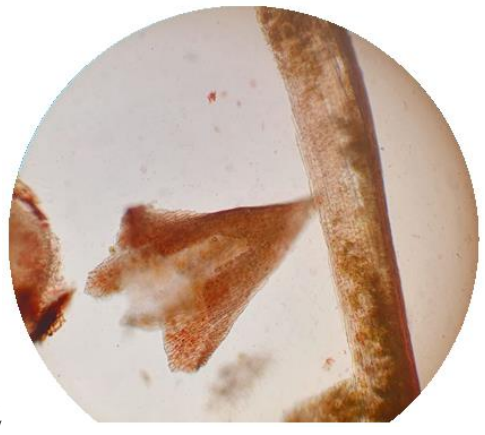
В



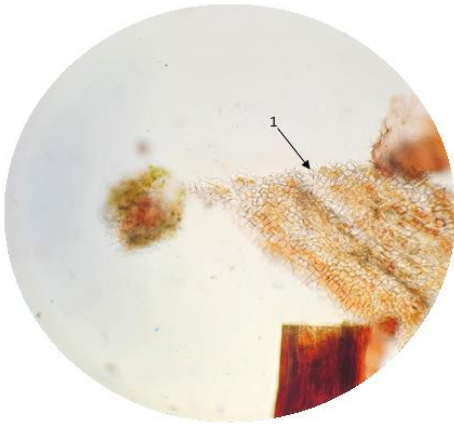
Г



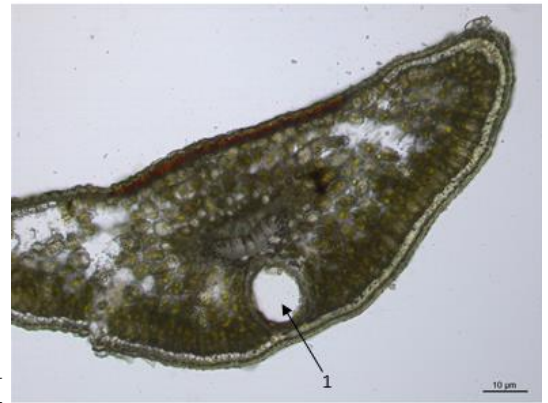
Д



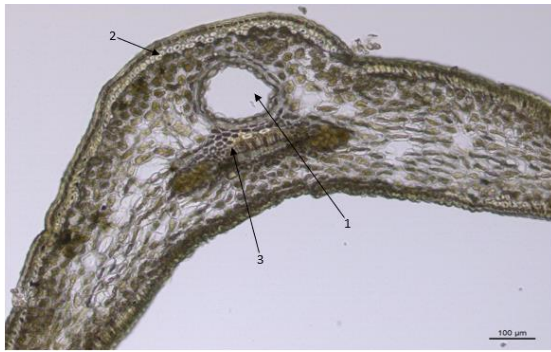
Е



Ж



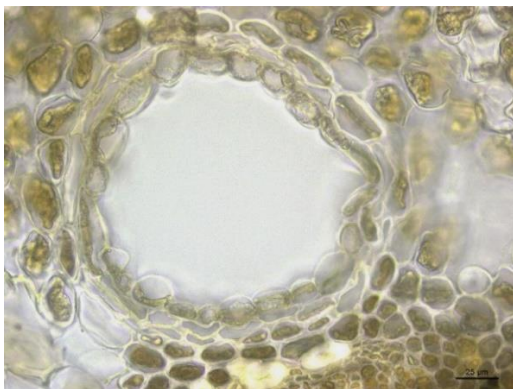
И



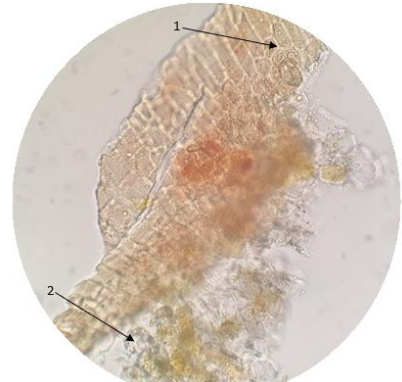
К



Л

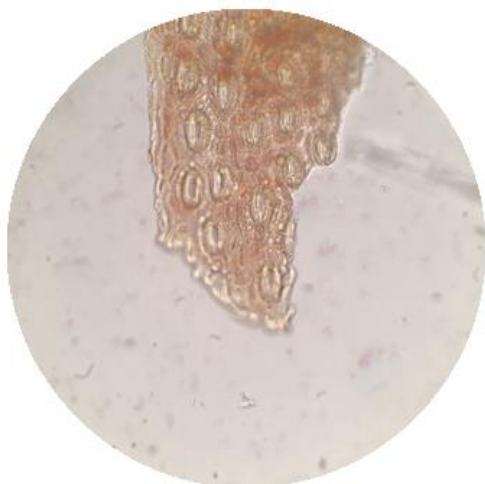


М



Н

И



П

Рисунок А.1 – Поперечный срез стебля. Общий вид. (увеличение 40х) 1 – отслаивающиеся эпидермис и гиподерма; 2 - камбий (А); Поперечный срез стебля. (увеличение 100х) 1 – отслаивающиеся эпидермис и гиподерма; 2 – камбий; 3 – смоляной канал (Б); Поперечный срез стебля. Линия камбия, коровая часть (увеличение 400х) 1 - линия камбия, 2 – механическое волокно коровой части (увеличение 400х) (В); Поперечный срез стебля. Древесина и сердцевина (увеличение 400х) 1 – древесина, 2 - сердцевина (Г); Порошок побегов. Фрагменты покровной ткани стебля. Увеличение 40х 1 - Фрагмент покровной ткани стебля (Д); Порошок побегов. Фрагменты эпидермиса хвой. Увеличение 40х (Е); Порошок побегов. Фрагменты покровной ткани стебля. Увеличение 40х 1 - Фрагмент покровной ткани стебля (Ж); Поперечный срез хвоинки. 1 – смоляной канал. Увеличение 40х 1 – смоляной канал (И); Поперечный срез хвоинки. смоляной канал, гиподерма, проводящий пучок. Увеличение 400х 1 – смоляной канал, 2 – гиподерма, 3 – проводящий пучок (К); Поперечный срез хвоинки. эпидермис, гиподерма. Увеличение 1000х 1 – эпидермис, 2- гиподерма (Л); Поперечный срез хвоинки через смоляной канал. Увеличение 1000х (М); Порошок хвой. Фрагмент эпидермиса. Увеличение 400х 1 - Фрагмент эпидермиса, 2 – клетки мезофилла (Н); Порошок хвой. Фрагмент эпидермиса с устьицами. Увеличение 400х (П)

Определение основных групп биологически активных веществ

Качественная реакция

Около 2,0 г измельченного сырья, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 20 мл спирта 70% и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин, охлаждают и фильтруют (испытуемый раствор).

К 1 мл испытуемого раствора прибавляют 2 капли железа (III) аммония сульфата раствора; должно наблюдаться черно-зеленое окрашивание (дубильные вещества).

Испытания

Влажность. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 12 %.

Зола общая. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 4 %.

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

Измельченность сырья. Измельченное сырье – частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, – не более 6 %.

Посторонние примеси.

Побеги, утратившие естественную окраску. Цельное сырье – не более 4%.

Органическая примесь. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 0,5 %.

Минеральная примесь. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 0,2 %.

Тяжелые металлы и мышьяк. 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».**

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями **ОФС «Микробиологическая чистота».**

Количественное определение. Цельное сырье, измельченное сырье: эфирного масла – не менее 0,1 %.

Эфирное масло.

«Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»: метод 1, навеску измельченных побегов можжевельника обыкновенного, помещают в широкогорлую круглодонную колбу емкостью 1000 мл, приливают 300 мл воды

очищенной и закрывают резиновой пробкой с обратным шариковым холодильником. В пробке снизу укрепляют металлические крючки, на которые при помощи тонкой проволоки подвешивают предварительно заполненный водой очищенной градуированный приемник так, чтобы конец холодильника находился над воронкообразным расширением приемника, не касаясь его. Приемник должен свободно помещаться в горле колбы, не касаясь стенок, и отстоять от уровня воды не менее чем на 50 мм. Цена деления градуированной части приемника 0,025 мл. Колбу с содержимым нагревают на электроплитке с закрытой спиралью и регулятором мощности нагрева или при помощи специального колбонагревателя и кипятят в течение времени, указанного в соответствующей фармакопейной статье или нормативной документации на лекарственное растительное сырье/препарат.

За 5 мин до окончания отгонки прекращают подачу воды в холодильник с целью прогрева его для того, чтобы оставшиеся на его внутренних стенках капли эфирного масла стекли в приемник.

Объем эфирного масла в градуированной части приемника измеряют после окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры. После 6-8 определений холодильник и градуированный приемник необходимо промыть последовательно ацетоном и водой.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями **ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»**.

Хранение. В соответствии с требованиями **ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»**.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Дополнения к статье

<p>Можжевельника обыкновенного плоды</p> <p><i>Juniperi communis fructus</i> ФС.2.5.0028.15</p>	<p>Можжевельника обыкновенного плоды</p> <p><i>Juniperi communis fructus</i> ФС.2.5.0028.15 Дополненная</p>
<p>Собранные в фазу полного созревания, высушенные плоды (шишко-ягоды) дикорастущих кустарников можжевельника обыкновенного - <i>Juniperus communis</i> L., сем. кипарисовых - Cupressaceae.</p> <p>Подлинность</p> <p>Внешние признаки. Цельное сырьё. Плоды шишко-ягоды 6-10 мм в диаметре, цилиндрической формы, шаровидные, иногда овальные или эллиптические, часто по бокам вдавленные, гладкие, блестящие, реже матовые. Плоды образованы 3 сросшимися семенными плодолистиками. На верхушке заметен трёхлучевой шов, образованный сросшимися чешуевидными мегаспорофиллами, иногда они с выдающимися кончиками, отвёрнутыми назад; при основании плода заметны под лупой (10x)</p>	<p>Собранные в фазу полного созревания, высушенные плоды (шишко-ягоды) дикорастущих кустарников можжевельника обыкновенного - <i>Juniperus communis</i> L., сем. кипарисовых - Cupressaceae.</p> <p>Подлинность</p> <p>Внешние признаки. Цельное сырьё. Плоды шишко-ягоды 6-10 мм в диаметре, цилиндрической формы, шаровидные, иногда овальные или эллиптические, часто по бокам вдавленные, гладкие, блестящие, реже матовые. Плоды образованы 3 сросшимися семенными плодолистиками. На верхушке заметен трёхлучевой шов, образованный сросшимися чешуевидными мегаспорофиллами, иногда они с выдающимися кончиками, отвёрнутыми назад; при основании плода заметны под лупой (10x)</p>

Продолжение Таблицы Б.1

<p>2 трёхлистные мутовки из светло-коричневых чешуек (неоплодотворённые чешуевидные мегаспорофиллы шишки). В мякоти находится 3 (иногда 1 или 2) семени. Семена овально-продолговатые, тупотрёхгранные, выпуклые снаружи и плоские на соприкасающихся сторонах, длиной 4-5 мм. Кожура семени твёрдая. Цвет плодов снаружи почти черный или фиолетовый с коричневым оттенком, иногда с серо-голубым восковым налетом. Цвет мякоти зеленовато-коричневый, цвет семян желтовато-коричневый. Запах характерный. Вкус водного извлечения сладковатый, пряный.</p> <p>Микроскопические признаки. Цельное сырье. При рассмотрении препарата кожуры с поверхности видны клетки эпидермиса округло-многоугольные с утолщёнными стенками. В боковых стенках имеются поры. Наружные стенки клеток значительно утолщены слоем кутикулы.</p>	<p>2 трёхлистные мутовки из светло-коричневых чешуек (неоплодотворённые чешуевидные мегаспорофиллы шишки). В мякоти находится 3 (иногда 1 или 2) семени. Семена овально-продолговатые, тупотрёхгранные, выпуклые снаружи и плоские на соприкасающихся сторонах, длиной 4-5 мм. Кожура семени твёрдая. Цвет плодов снаружи почти черный или фиолетовый с коричневым оттенком, иногда с серо-голубым восковым налетом. Цвет мякоти зеленовато-коричневый, цвет семян желтовато-коричневый. Запах характерный. Вкус водного извлечения сладковатый, пряный.</p> <p>Микроскопические признаки. Цельное сырье. При рассмотрении препарата кожуры с поверхности видны клетки эпидермиса округло-многоугольные с утолщёнными стенками. В боковых стенках имеются поры. Наружные стенки клеток значительно утолщены слоем кутикулы.</p>
---	---

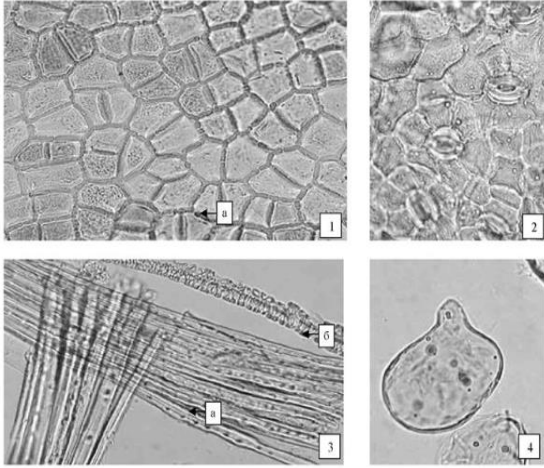
Продолжение Таблицы Б.1

<p>На поперечном срезе видно, что под эпидермисом находятся 2 ряда клеток гиподермы, которые крупнее эпидермальных. Клетки эпидермиса и гиподермы заполнены красновато-коричневым содержимым. Мякоть плода состоит из тонкостенных паренхимных клеток овальной формы, на некоторых имеются выросты. В клетках паренхимы расположены идиобласты и вместилища с эфирным маслом. Идиобласты - крупные с толстыми стенками. Вместилища эфирного масла округлой формы, схизолизигенного типа, разного диаметра, крупные, особенно около семян. Среди паренхимы проходят проводящие пучки с характерной склеренхимной обкладкой и тонкостенными волокнистыми элементами. Ксилема проводящих пучков состоит из сосудов 3 типов: с окаймлёнными порами, окаймлённые и спиральные, только спиральные. Внутренняя оболочка шишко-ягоды содержит 10 слоев каменистых клеток. Склерейды имеют среднюю степень лигнификации.</p>	<p>На поперечном срезе видно, что под эпидермисом находятся 2 ряда клеток гиподермы, которые крупнее эпидермальных. Клетки эпидермиса и гиподермы заполнены красновато-коричневым содержимым. Мякоть плода состоит из тонкостенных паренхимных клеток овальной формы, на некоторых имеются выросты. В клетках паренхимы расположены идиобласты и вместилища с эфирным маслом. Идиобласты - крупные с толстыми стенками. Вместилища эфирного масла округлой формы, схизолизигенного типа, разного диаметра, крупные, особенно около семян. Среди паренхимы проходят проводящие пучки с характерной склеренхимной обкладкой и тонкостенными волокнистыми элементами. Ксилема проводящих пучков состоит из сосудов 3 типов: с окаймлёнными порами, окаймлённые и спиральные, только спиральные. Внутренняя оболочка шишко-ягоды содержит 10 слоев каменистых клеток. Склерейды имеют среднюю степень лигнификации.</p>
---	---

Продолжение Таблицы Б.1

<p>При рассмотрении «давленного» препарата плода видны фрагменты эпидермиса, состоящего из округло-многоугольных клеток с толстыми пористыми стенками, часто с остатками прилегающего слоя гиподермы красновато-коричневого цвета; редко - фрагменты эпидермиса с устьицами и сосочковидными выростами (встречаются только в области бороздок на верхушке плода); клетки паренхимы округлой или неправильной формы из-за выростов; крупные клетки паренхимы округлой, овальной или неправильной формы, толстостенные с хорошо заметными щелевидными порами; эфирномасличные вместилища - мешковидные образования от веретенообразной до округлой формы, с прозрачным или белесым, мягким или затвердевшим смолистым содержимым; проводящие пучки, включающие различные элементы: трахеиды с окаймленными порами, мелкие спиральные сосуды, элементы переходной формы - с окаймленными порами и спиралями, волокна со</p>	<p>Порошок плодов можжевельника обыкновенного</p> <p>представляет собой Смесь частиц эпикарпия, мезокарпия и семян шишкоягод, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет тёмно-коричневый с чёрными и бурокрасными вкраплениями. Запах сильный, смолисто-хвойный, специфический, вкус горьковатый, с пряными и смолистыми нотами.</p>  <p>Рисунок – Порошок плодов можжевельника обыкновенного</p> <p>При рассмотрении «давленного» препарата плода видны фрагменты эпидермиса, состоящего из округло-многоугольных клеток с толстыми пористыми стенками, часто с остатками прилегающего слоя гиподермы красновато-коричневого цвета; редко - фрагменты эпидермиса с устьицами и</p>
--	--

Продолжение Таблицы Б.1

<p>щелевидными порами, редко встречаются перегородчатые трахеиды.</p>  <p>Рисунок – Можжевельника обыкновенного плоды: 1 – многоугольные клетки эпидермиса с пористыми стенками (200х), 2 – фрагмент эпидермиса с устьицами в области бороздки на верхушке плода (200х), 3 – группа сосудов с окаймленными порами (а) и спиральные сосуды (б) (200х), 4 – клетка паренхимы с выростом (200х)</p> <p>Определение основных групп биологически активных веществ</p> <p>Тонкослойная хроматография</p> <p>Приготовление растворов.</p> <p>Раствор стандартного образца (СО) судана III. Около 0,005 г судана III растворяют в 10 мл спирта 96% и перемешивают. Срок годности раствора 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.</p>	<p>сосочковидными выростами (встречаются только в области бороздок на верхушке плода); клетки паренхимы округлой или неправильной формы из-за выростов; крупные клетки паренхимы округлой, овальной или неправильной формы, толстостенные с хорошо заметными щелевидными порами; эфирномасличныеместилища - мешковидные образования от веретенообразной до округлой формы, с прозрачным или белесым, мягким или затвердевшим смолистым содержимым; проводящие пучки, включающие различные элементы: трахеиды с окаймленными порами, мелкие спиральные сосуды, элементы переходной формы - с окаймленными порами и спиралями, волокна со щелевидными порами, редко встречаются перегородчатые трахеиды.</p>
--	--

Продолжение Таблицы Б.1

<p>Раствор СО судана красного G. Около 0,0025 г судана красного G растворяют в 10 мл спирта 96% и перемешивают. Срок годности раствора 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.</p> <p>Около 1,0 г сырья, измельченного до отсутствия цельных плодов, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, приливают 10 мл спирта 96% и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).</p> <p>На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 10 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл раствора СО судана красного G и раствора СО судана III. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей</p>	<div data-bbox="906 241 1460 622" data-label="Image"> </div> <p>Рисунок – Можжевельника обыкновенного плоды: 1 – многоугольные клетки эпидермиса с пористыми стенками (200х), 2 – фрагмент эпидермиса с устьицами в области бороздки на верхушке плода (200х), 3 – группа сосудов с окаймленными порами (а) и спиральные сосуды (б) (200х), 4 – клетка паренхимы с выростом (200х)</p> <p>Для приготовления микропрепаратов из измельченных плодов и порошка использовалась методика «давленного препарата» (ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»). К анатомодиагностическим признакам характерным для измельченных плодов и порошка относится: участки эпидермиса, состоящие из полигональных клеток с неравномерно утолщенными</p>
---	---

Продолжение Таблицы Б.1

гексан - этилацетат - муравьиная кислота безводная (15:5:0,1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают анисового альдегида раствором уксуснокислым в этаноле, выдерживают в сушильном шкафу при 100-105°C в течение 2-3 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме растворов СО судана III и СО судана красного G должны обнаруживаться: зона судана красного G розово- или фиолетово-красного цвета и над ней зона судана III фиолетово- или сине-красного цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции фиолетово-розового цвета ниже зоны адсорбции судана красного G; интенсивная сине-фиолетового цвета зона адсорбции выше зоны адсорбции судана красного III и над ней интенсивная серо-синего цвета зона

клеточными стенками; обрывки паренхимы с округлыми клетками иногда с неправильной формы выростами; проводящие элементы представлены трахеидами; каменистые клетки одиночные или группами, иногда сопровождающиеся призматическими кристаллами оксалата кальция.

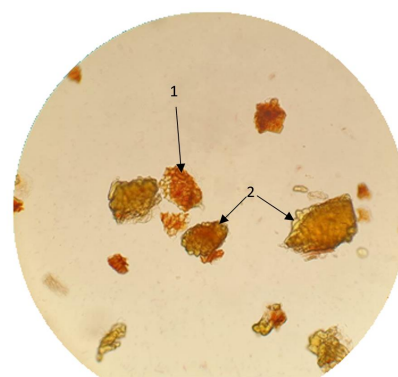


Рисунок – «Давленный» препарат плодов можжевельника обыкновенного (порошок)
1 – фрагмент эпидермиса, 2 – группа каменистых клеток увеличение 40х

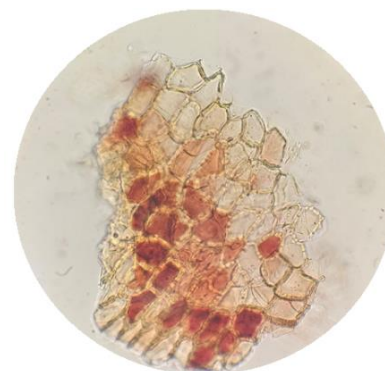
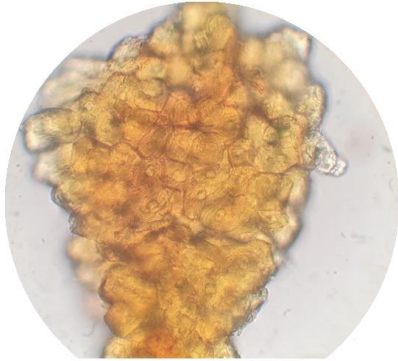


Рисунок – «Давленный» препарат плодов можжевельника обыкновенного (измельченное сырье). Фрагмент эпидермиса. Увеличение 400х

Продолжение Таблицы Б.1

<p>адсорбции; допускается обнаружение других зон адсорбции (терпеноиды).</p> <p>Испытания</p> <p>Влажность. Цельное сырьё – не более 20%.</p> <p>Зола общая. Цельное сырьё – не более 5%.</p> <p>Зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте. Цельное сырьё – не более 1%.</p> <p>Посторонние примеси</p> <p>Плоды, которые приобрели темно-коричневую окраску. Цельное сырьё – не более 9,5%.</p> <p>Зелёные плоды. Цельное сырьё – не более 0,5%.</p> <p>Органическая примесь (части других неядовитых растений и хвои можжевельника). Цельное сырьё – не более 1%.</p> <p>Минеральная примесь. Цельное сырьё – не более 0,5%.</p> <p>Тяжелые металлы и мышьяк. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».</p>	 <p>Рисунок – «Давленный» препарат плодов можжевельника обыкновенного (измельченное сырьё). Группа каменных клеток с кристаллами оксалата кальция. Увеличение 400х</p> <p>Определение основных групп биологически активных веществ</p> <p>Тонкослойная хроматография</p> <p>Приготовление растворов.</p> <p>Раствор стандартного образца (СО) судана III. Около 0,005 г судана III растворяют в 10 мл спирта 96% и перемешивают. Срок годности раствора 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.</p> <p>Раствор СО судана красного G. Около 0,0025 г судана красного G растворяют в 10 мл спирта 96% и перемешивают. Срок годности раствора 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.</p>
---	--

Продолжение Таблицы Б.1

<p>Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».</p>	<p>Около 1,0 г сырья, измельченного до отсутствия цельных плодов, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, приливают 10 мл спирта 96% и нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).</p>
<p>Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».</p>	<p>На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят 10 мкл испытуемого раствора и по 5 мкл раствора СО судана красного G и раствора СО судана III. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 мин смесью растворителей гексан - этилацетат - муравьиная кислота безводная (15:5:0,1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры и сушат до</p>
<p>Количественное определение. Цельное сырьё: эфирного масла – не менее 0,5%.</p>	
<p>Определение эфирного масла проводят в соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 2, из навески 15,0 г сырья, измельченного до отсутствия цельных плодов, объем воды – 300 мл, время перегонки – 2 ч). Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного</p>	

Продолжение Таблицы Б.1

<p>сырья и лекарственных растительных препаратов».</p> <p>Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».</p>	<p>удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают анисового альдегида раствором уксуснокислым в этаноле, выдерживают в сушильном шкафу при 100-105°C в течение 2-3 мин и просматривают при дневном свете.</p> <p>На хроматограмме растворов СО судана III и СО судана красного G должны обнаруживаться: зона судана красного G розово- или фиолетово-красного цвета и над ней зона судана III фиолетово- или сине-красного цвета.</p> <p>На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции фиолетово-розового цвета ниже зоны адсорбции судана красного G; интенсивная сине-фиолетового цвета зона адсорбции выше зоны адсорбции судана красного III и над ней интенсивная серо-синего цвета зона адсорбции; допускается обнаружение других зон адсорбции (терпеноиды).</p> <p>Испытания</p> <p>Влажность. Цельное сырьё – не более 20%.</p> <p>Зола общая. Цельное сырьё – не более 5%.</p>
--	--

Продолжение Таблицы Б.1

	<p>Зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте. Цельное сырьё - не более 1%.</p> <p>Посторонние примеси</p> <p>Плоды, которые приобрели темно-коричневую окраску. Цельное сырьё – не более 9,5%.</p> <p>Зелёные плоды. Цельное сырьё – не более 0,5%.</p> <p>Органическая примесь (части других неядовитых растений и хвои можжевельника). Цельное сырьё – не более 1%.</p> <p>Минеральная примесь. Цельное сырьё – не более 0,5%.</p> <p>Тяжелые металлы и мышьяк. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».</p> <p>Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».</p>
--	---

Продолжение Таблицы Б.1

	<p>Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».</p> <p>Количественное определение. Цельное сырьё: эфирного масла – не менее 0,5%.</p> <p>Определение эфирного масла проводят в соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 2, из навески 15,0 г сырья, измельченного до отсутствия цельных плодов, объем воды – 300 мл, время перегонки – 2 ч).</p> <p>Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».</p> <p>Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».</p>
--	--