

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПЕРМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ  
АКАДЕМИЯ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

**Иванцова Любовь Витальевна**

**Фармакогностическое исследование, стандартизация персика  
обыкновенного листьев и разработка экстракта густого на его основе**

14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:  
доктор фармацевтических наук,  
доцент Белоногова В.Д.

Научный консультант:  
доктор фармацевтических наук,  
профессор Молохова Е.И.

Пермь 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	7
ВВЕДЕНИЕ.....	8
ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО, ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ.....	20
1.1. Изучение листьев плодово-ягодных культур.....	20
1.2. Морфологическая характеристика <i>Persica vulgaris</i> Mill.....	25
1.3. Ареал обитания, места культивирования персика обыкновенного.....	26
1.4. Химический состав БАВ персика обыкновенного .....	26
1.5. Фармакологические свойства.....	35
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1.....	37
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1. Характеристика объектов исследования.....	38
2.2. Методы фитохимического исследования.....	40
2.2.1. Морфолого-анатомическое исследование персика обыкновенного листьев.....	40
2.2.2. Определение влажности.....	40
2.2.3. Определение золы общей.....	40
2.2.4. Методы испытания (числовые показатели) персика обыкновенного листьев.....	41
2.3. Общие методики стандартизации сырья.....	41
2.4. Методика приготовления извлечения для проведения качественного анализа БАВ.....	41
2.5. Определение дубильных веществ.....	42
2.6. Определение каротиноидов.....	42
2.7. Определение аскорбиновой кислоты.....	43
2.8. Определение элементного состава.....	43

2.9. Определение флавоноидов.....	44
2.9.1. Качественное определение флавоноидов.....	44
2.9.2. Идентификация флавоноидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.....	44
2.9.3. Количественное определение флавоноидов.....	46
2.10. Определение этанола в персике обыкновенного листьев экстракте густом.....	47
2.11. Фармакологические исследования.....	49
2.11.1. Определение острой токсичности.....	49
2.11.2. Изучение противовоспалительной активности.....	49
2.11.3. Изучение антиоксидантной активности.....	50
2.12. Отбор проб для анализа.....	50
2.13. Определение микробиологической чистоты.....	50
2.14. Определение срока годности.....	51
2.15. Статистическая обработка результатов эксперимента.....	51
2.16. Валидация методики количественного определения флавоноидов.....	51
<b>ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО ЛИСТЬЕВ.....</b>	<b>52</b>
3.1. Морфолого-анатомическое исследование персика обыкновенного листа.....	52
3.2. Методы испытания (числовые показатели) персика обыкновенного листьев.....	55
3.3. Исследование дубильных веществ в персике обыкновенном листьях.....	57
3.4. Исследование каротиноидов в персике обыкновенном листьях.....	58
3.5. Исследование аскорбиновой кислоты (витамина С) в персике обыкновенном листьях.....	60

3.6. Исследование элементного состава.....	61
3.7. Исследование флавоноидов в персике обыкновенном листьях.....	63
3.7.1. Качественное определение флавоноидов в сырье.....	63
3.7.1.1. Качественные реакции.....	63
3.7.1.2. Бумажная хроматография персика обыкновенного листьев.....	63
3.7.2. Количественное определение флавоноидов в сырье.....	64
3.7.2.1. Выбор аналитической длины волны.....	64
3.7.2.2. Изучение условий реакции комплексообразования.....	66
3.7.2.3. Изучение устойчивости комплекса флавоноидов с хромогенными реактивами.....	67
3.7.2.4. Методика количественного определения суммы флавоноидов в персике обыкновенном листьях.....	68
3.8. Валидационная характеристика методики количественного определения флавоноидов в персике обыкновенном листьях.....	71
3.8.1. Определение линейности методики.....	71
3.8.2. Определение прецизионности методики.....	73
3.8.2.1. Определение повторяемости методики.....	73
3.8.2.2. Определение межлабораторной прецизионности.....	75
3.8.3. Определение правильности методики.....	76
3.8.4. Расчет ошибки метода.....	77
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.....	78
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ, СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО ЛИСТЬЕВ ЭКСТРАКТА ГУСТОГО.....	79
4.1. Техничко-экономическое обоснование выбора экстракта густого.....	86
4.2. Определение оптимальных параметров экстракции суммы	

флавоноидов из персике обыкновенном листьях .....	87
4.3. Разработка технологии персика обыкновенного листьев экстракта густого.....	92
4.4. Стандартизация персика обыкновенного листьев экстракта густого.....	94
4.4.1. Качественное и количественное определение флавоноидов в персике обыкновенном листьев экстракте густом.....	94
4.4.2. Количественное определение других групп БАВ в экстракте густом.....	99
4.4.2.1. Качественное и количественное определение суммы дубильных веществ в персике обыкновенном листьев экстракте густом.....	99
4.4.2.2. Качественное и количественное определение каротиноидов в персике обыкновенном листьев экстракте густом.....	100
4.4.2.3. Качественное и количественное определение аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом.....	102
4.4.3. Содержание биологически активных веществ в персике обыкновенном листьях и экстракте густом из них.....	103
4.4.4. Исследование элементного состава.....	104
4.5. Определение остаточного содержания экстрагента (спирта этилового) в персике обыкновенном листьев экстракте густом.....	105
4.6. Определение показателей качества персика обыкновенного листьев экстракта густого.....	107
4.7. Определение сроков годности персика обыкновенного листьев экстракта густого.....	108
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4.....	110
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРСИКА	

ОБЫКНОВЕННОГО ЛИСТЬЕВ ЭКСТРАКТА ГУСТОГО.....	111
5.1. Изучение острой токсичности.....	111
5.2. Изучение антиоксидантной активности.....	112
5.3. Изучение противовоспалительной активности.....	114
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5.....	115
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	119
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	141
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	144
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....	149
ПРИЛОЖЕНИЕ 4.....	154

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

1. АОА - антиоксидантная активность
2. БАВ - биологически активные вещества
3. ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
4. ГФ – государственная фармакопея
5. ГСО – государственный стандартный образец
6. ДРП - дозатор равновесного пара
- 7.ДФПГ - дифенилпикрилгидразил
8. ЛД<sub>50</sub>– средняя летальная доза
9. ЛП – лекарственный препарат
- 10.ЛРС – лекарственное растительное сырье
- 11.ЛС – лекарственное средство
12. ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
13. ОФС – общая фармакопейная статья
14. ПДК – предельно допустимая концентрация
15. ТСХ – тонкослойная хроматография
16. ТУ – технические условия
17. ХЧ – химически чистый
18. ФГБУ – федеральное государственное бюджетное учреждение
19. ФС – фармакопейная статья
20. IC<sub>50</sub> – показатель, определяющий количество исследуемого вещества, необходимое для 50% дегградации радикалаДФПГ

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** В фармацевтической практике высока популярность препаратов природного происхождения. Растительное сырье – одно из первых лекарственных средств, используемое человеком для профилактики и лечения заболеваний [1]. С 2000-х годов зафиксирован рост интереса и доверия потребителей к фитосредствам [2].

Фитопрепараты широко используются для применения как в народной медицине, так и во врачебной практике, что указывает на их важность для профилактики и лечения заболеваний [3, 4, 5].

Такая популярность обусловлена рядом факторов: мягкое и безопасное действие при рациональном использовании, что позволяет принимать средства детям, так и пожилым людям; возможность длительного назначения для лечения хронических заболеваний; комплексное действие биологически активных веществ (БАВ), минимальное проявление аллергических реакций, доступность [6, 7]. За счет этого увеличивается потребление фитосредств не только в нашей стране, но и в Китае, США и Германии. При этом лекарственное сырье, произведенное в России, считается высококачественным из-за климатических и географических особенностей, которые позволяют «обогащаться» лекарственным растениям биологически активными соединениями [1].

Под влиянием неблагоприятных экологических факторов, повышенных физических и эмоциональных нагрузок, а также при длительных заболеваниях и в процессе старения свободно радикальное окисление в организме человека активизируется – развивается, так называемый, синдром перекисидации или окислительный стресс [8]. При этом свободные радикалы оказывают повреждающее воздействие на мембраны клеток, в организме нарушаются процессы обмена веществ, накапливаются различные продукты промежуточного обмена. Такие сдвиги нарушают работу центральной нервной системы, иммунной системы, усугубляют воспалительные процессы в организме, способствуют образованию атеросклеротических бляшек в коронарных и мозговых сосудах и

ускоряют старение организма [9]. Для замедления этих процессов целесообразно использовать лекарственные средства, обладающие антиоксидантными свойствами.

В настоящее время поиском биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами занимаются многие исследователи [10, 11, 12, 13, 14].

Из наиболее доступных источников антиоксидантов основными являются лекарственные растения [15].

Благодаря набору ценных свойств растения положительно влияют на различные системы организма человека: нервную, иммунную, сердечно-сосудистую, лимфатическую, пищеварительную, репродуктивную, мочевыделительную и покровную [16, 17].

Разработка эффективных лекарственных средств отечественного производства является актуальной задачей современной фармацевтической науки. [18].

В настоящее время потребность в лекарственных средствах растительного происхождения постоянно растет. В связи с этим, одной из актуальных проблем современной фармации является поиск лекарственных растений, обладающих достаточной сырьевой базой и широким спектром фармакологической активности [19]. С этой точки зрения, перспективными являются плодово-ягодные растения, в том числе, персик обыкновенный.

В китайской народной медицине издавна применяют персик для профилактики и лечения многих заболеваний. Персиковое масло используют наружно при кожных заболеваниях, при воспалительных процессах ротовой полости в виде ингаляций. Масло плодов растения помогает при гайморитах, конъюнктивитах. Плоды персика рекомендуют страдающим энтероколитом, гастритом, заболеваниями печени. В плодах персика отмечено высокое содержание калия в составе мякоти, поэтому фрукты полезны лицам с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Сок и мякоть плодов полезны для детей, истощенных больных [20].

Отвары из листьев персика помогают при ревматических, головных болях, некоторых желудочно-кишечных заболеваниях, гастритах, запорах. Настои и отвары из цветков и листьев растения употребляют при сахарном диабете, в качестве глистогонного средства, при мочекаменной болезни. Лечебные свойства листьев персика включают мочегонный и желчегонный эффект, а также противовоспалительное, заживляющее действие. Уместно применение препаратов из листьев при гастритах, а также для нормализации работы кишечника. Причем как при запорах, так и при диарее. Наружное применение полезно при разнообразных кожных болезнях [21].

В настоящий момент персика обыкновенного листа используют в составе биологически активных добавок к пище (БАД), таких как:

1. «Олексин» - Биологически активная добавка к пище, рекомендуется применять с целью профилактики и при лечении онкозаболеваний и повышения иммунного статуса организма. Для повышения сопротивляемости организма людей, подвергающихся воздействиям неблагоприятных экологических, климатических, профессиональных и стрессовых факторов, при состояниях интоксикации. При лечении заболеваний органов дыхания, пищеварения, гинекологических, сердечно-сосудистых заболеваний. Для очистки от шлаков и токсинов и защиты организма от процессов старения. Производитель: НПО "Биомед", Россия [22].

2. «Акан» – БАД, в состав которого входит ореха черного листа и околоплодники, персика обыкновенного листа, лопуха большого корня, бузины черной цветки, лавровишни лекарственной листа, туи западной хвоя. Рекомендуется в качестве биологически активной добавки к пище - источника флавоноидов, янтарной кислоты, липоевой кислоты, дубильных веществ. Применяется для профилактики дефицита БАВ, способствующих снижению риска развития онкозаболеваний, проявлению детоксикационной активности, повышению работоспособности и адаптационных возможностей организма. Производитель: Витаукт (ООО Витаукт-пром), Россия [23].

3. «Флавоперсин» - БАД, в состав которого входят экстракты листьев персика и листьев облепихи. «Флавоперсин» повышает иммунитет, увеличивая выработку собственного интерферона, является противоопухолевым и противорадиационным средством, усиливает фагоцитарную активность клеток, снимает воспаления в тканях, способствует заживлению ран, обладает антиоксидантным действием, защищает от вредного воздействия лекарств и факторов окружающей среды. Рекомендуется: для профилактики онкозаболеваний и улучшения качества жизни онкобольных, при нарушениях сна и быстрой утомляемости, при иммунодефицитах, при частых ОРВИ и простудных заболеваниях, при сердечно-сосудистых заболеваниях, при гинекологических заболеваниях, при заболеваниях суставов, при заболеваниях печени и желудочно-кишечного тракта. Производитель: Научно-производственная компания «Миламед», г. Пермь [24].

4. «Персифен» - БАД, в состав которого входят экстракт листьев персика обыкновенного, аскорбиновая кислота, витамин Е (токоферол ацетат), бета-каротин. Персифен рекомендован в качестве дополнительного источника антиоксидантов, показан при повышенном уровне стресса, снижении функциональной активности системы иммунитета, вялотекущих воспалительных и дистрофических процессах кожи и слизистых. Производитель: ООО «Артлайф», г. Томск [25].

5. «Сафол» относится к биологически активным добавкам к пище. Представляет собой смесь экстракта из листьев персика обыкновенного с аскорбиновой кислотой. Обладает противоопухолевым и иммуномодулирующим действием. Производитель: ООО "Элмарис", г.Пермь [26].

6. «Алексиния» - биологически активная добавка к пище, применимая для профилактики и комплексного лечения вторичных иммунодефицитных состояний, гинекологических, онкологических и других заболеваний, в качестве биологически активной пищевой добавки, а также близка к продукту функционального питания в диетотерапии. Производитель: ООО «Алексиния», г. Пермь [«Алексиния» - инструкция по применению [27].

7. «Перлэкс» - противовоспалительное и ранозаживляющее средство для местного применения [28].

Важное значение при производстве БАД к пище имеет качество исходного сырья, стандартизацию которого необходимо проводить на высоком научном уровне, согласно современных требований регуляторных органов. Однако, исследование фитохимического состава и стандартизация исходного сырья ранее не проводилась. Поэтому, фармакогностическое исследование и стандартизация персика обыкновенного листьев, разработка проекта НД: ФС «Персика обыкновенного листа», а так же, создание экстракта, является актуальной задачей.

**Степень разработки темы исследования.** За последние годы опубликован ряд исследований, посвященных разработке БАД к пище, на основе персика обыкновенного листьев экстракта жидкого.

Однако, оценка качества биологически активных добавок к пище проводилась согласно технических условий, разработанных производителями БАД к пище. Данные нормативные документы не предусматривают оценку качества исходного сырья, что имеет большое значение для получения высококачественной продукции. Кроме того, существующие БАД к пище включают персика обыкновенного листьев экстракт жидкий, в качестве экстрагента, в которых используется либо вода очищенная, либо спирт этиловый 96%. Данные экстрагенты позволяют получить из сырья лишь незначительную группу БАВ, без учета физико-химических свойств всего комплекса действующих веществ сырья. Кроме того, в доступной литературе не представлены методики стандартизации персика обыкновенного листьев.

**Цель исследования** - фитохимическое изучение и стандартизация персика обыкновенного листьев, с перспективой дальнейшей разработки технологии экстракционного препарата.

Для решения поставленной цели, необходимо было выполнить следующие задачи:

- провести морфолого-анатомическое изучение персика обыкновенного листьев;
- определить числовые товароведческие показатели персика обыкновенного листьев;
- разработать методику количественного определения суммы флавоноидов персика обыкновенного листьев и провести ее валидацию;
- провести исследование качественного состава БАВ, количественного содержания дубильных веществ, каротиноидов, аскорбиновой кислоты, элементного состава персика обыкновенного листьев;
- разработать технологию экстракционного препарата на основе персика обыкновенного листьев и оценить его качество;
- определить острую токсичность, фармакологическую активность персика обыкновенного листьев экстракта густого;
- разработать НД: проект фармакопейной статьи (ФС) на новый вид лекарственного сырья – «Персика обыкновенного листа», инструкцию по сбору и сушке персика обыкновенного листьев, НД предприятия ООО «Апифитофарм»: технические условия, лабораторный регламент на производство персика обыкновенного листьев экстракт густой.

### **Научная новизна.**

1. Впервые проведено фармакогностическое исследование и стандартизация персика обыкновенного листьев. На основании макро – и микроскопического анализа определены диагностически значимые признаки персика обыкновенного листьев для установления подлинности сырья.

2. Подобраны оптимальные условия качественного, и количественного анализа биологически активных веществ и разработаны нормы качества и методики контроля.

3. Впервые в персике обыкновенном листьях обнаружены 19 макро- и микроэлементов, среди которых наибольшее содержание приходится на калий и кальций. Свинец, стронций и молибден содержатся в количествах, не

превышающих значения предельно допустимой концентрации (ПДК), установленных ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», Техническим регламентом Таможенного Союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

4. Разработана технология персика обыкновенного листьев экстракта густого, с учетом физико-химических свойств комплекса БАВ сырья, с целью получения субстанции с максимальным содержанием БАВ.

5. Впервые определены показатели качества персика обыкновенного листьев и персика обыкновенного листьев экстракта густого.

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

На основе проведенных исследований разработан проект НД: фармакопейная статья (ФС) на новый вид лекарственного сырья – «Персика обыкновенного листа» (Приложение 1), «Инструкция по сбору и сушке персика обыкновенного листьев» (Приложение 2). Проект НД, с обоснованием спецификации, который отправлен для экспертизы и регистрации в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России.

Разработаны, утверждены, и апробированы нормативные документы предприятия ООО «Апифитофарм»:

- технические условия (ТУ) «Персика обыкновенного листьев экстракт густой» (Приложение 3)
- лабораторный регламент «Производство персика обыкновенного листьев экстракта густого» (Приложение 4).

На основании проведенных исследований разработана и внедрена методика количественного определения суммы флавоноидов в персике обыкновенного листах (Акт внедрения в работу ООО «Апифитофарм», г. Пермь от 01.12.2019; ООО «НПП «Укрпроминвест-05», г. Киев от 20.01.2020; ООО «НПК «Лаборатория красоты и здоровья», Московская обл., г. Протвино от 20.01.2020) (Приложение 3).

Результаты проведенных исследований расширяют представление о химическом составе, морфолого-анатомических признаках, фармакологической активности персика обыкновенного листьев (Акт внедрения в учебный процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ПГФА, кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России) (Приложение 3).

**Методология и методы исследования.** Методология построена на изучении и обобщении данных отечественных и зарубежных авторов по фармакогностическому изучению персика обыкновенного листьев, оценке степени разработки и актуальности указанной темы. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план диссертационного исследования, выбраны объекты и методы.

В качестве объектов исследования использовались персика обыкновенного листа, заготовленные в Краснодарском крае, в 2015-2017 гг., персика обыкновенного листьев экстракт густой, серии 001,002, 003, 004, 005. Исследования проводили с использованием физических, физико-химических, химических, макро- и микроскопических методов анализа (тонкослойной хроматографии (ТСХ), бумажной хроматографии, спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, элементного анализа, качественных реакций). Стандартизацию сырья и полученной субстанции проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ 14 издания. Статистическую обработку данных проводили с применением стандартных методов, согласно ГФ РФ 14 издания.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Данные морфологического и анатомического изучения персика обыкновенного листьев.
2. Показатели фитохимического исследования БАВ персика обыкновенного листьев.
3. Результаты количественного анализа БАВ персика обыкновенного листьев.

4. Параметры стандартизации персика обыкновенного листьев, проект ФС «Персика обыкновенного листа».

5. Показатели по разработке технологии персика обыкновенного листьев экстракта густого.

6. Данные исследований по стандартизации персика обыкновенного листьев экстракта густого, ТУ «Персика обыкновенного листьев экстракт густой», лабораторный регламент «Производство персика обыкновенного листьев экстракта густого».

7. Результаты исследования токсичности, фармакологической активности персика обыкновенного листьев экстракта густого.

**Степень достоверности и апробация результатов:** Научные положения и выводы диссертации базируются на достаточном объеме экспериментальных исследований и применении современных физико-химических, химических, фармакогностических, фармакологических методах исследования, позволяющих получать достоверные и воспроизводимые результаты.

Результаты исследований обработаны статистически, и представлены в виде таблиц, рисунков в тексте диссертации.

Основные результаты диссертационной работы доложены на научно-практических конференциях: Пермской государственной фармацевтической академии «Создание конкурентно способных лекарственных средств – приоритетное направление развития фармацевтической науки», 2015 г, «Посвящается 70-летию победы Великой Отечественной войне», 2016 г; Международных научно-практических конференциях: «SCIENTIFICRESEARCHOFTHE SCOCOUNTRIES: SYNERGYANDINTEGRATION» (г. Пекин, 2019 г); IV Всероссийская научно-практическая конференция (г. Пенза, МЦНС «Наука и просвещение», 30 октября 2019 г); II Международная научно-практическая юбилейная конференция «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» (г. Москва, РУДН, 14 ноября 2019 г).

**Публикации по теме диссертации.** По материалам диссертации опубликовано 8 научных статей, из них 3 статьи в изданиях из перечня, рекомендованного ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

**Связь темы диссертации с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Номер регистрации темы (№ 01.9.100.18875).

**Личный вклад автора.** Персональное участие автора заключается в выборе темы научной работы, в выполнении исследований по изучению морфологических, анатомических особенностей строения персика обыкновенного листьев, выявлении их диагностических признаков. Исследован и проанализирован состав биологически активных веществ персика обыкновенного листьев. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов персика обыкновенного листьев. Разработан проект фармакопейной статьи (ФС) – «Персика обыкновенного листа» (Приложение 1), «Инструкция по сбору и сушке персика обыкновенного листьев» (Приложение 2). Разработаны и апробированы: технология персика обыкновенного листьев экстракта густого, ТУ «Персика обыкновенного листьев экстракт густой», лабораторный регламент «Производство персика обыкновенного листьев экстракта густого» (Приложение 4).

Определена острая токсичность и фармакологическая активность персика обыкновенного листьев экстракта густого.

Автором подготовлены публикации, доклады на конференции, автореферат и диссертационная работа.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) по пунктам 2 – «Формулирование и развитие принципов стандартизации и

установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; 3 – «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»; 6 – «Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе».

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 156 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, пяти глав экспериментальной части, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 42 таблицами и 31 рисунком. Список литературы включает 185 источников, из них 12 на иностранных языках.

Во введении сформулированы актуальность исследования, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту.

Глава 1 посвящена обзору литературы по исследованию сырья персика обыкновенного. Изложены данные по ботанической характеристике, ареалу обитания, химическому составу, применению персика обыкновенного в научной и народной медицине.

В главе 2 описаны материалы и методы исследования персика обыкновенного листьев и экстракта густого на его основе.

В главе 3 приводятся результаты исследования состава БАВ персика обыкновенного листьев.

В главе 4 представлены параметры технологии, результаты стандартизации персика обыкновенного листьев экстракта густого.

В главе 5 приводятся результаты острой токсичности и фармакологической активности персика обыкновенного листьев экстракта густого. Диссертация завершается заключением и списком литературы.

В приложении представлены проект фармакопейной статьи (ФС) «Персика обыкновенного листа», «Инструкция на сбор и сушку персика обыкновенного листьев», технические условия «Персика обыкновенного листьев экстракт густой»; лабораторный регламент «Производство персика обыкновенного листьев экстракта густого». акты внедрения.

# ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО И ПРИМЕНЕНИЕ ЕГО В МЕДИЦИНЕ

## 1.1 Изучение листьев плодово-ягодных культур

За последнее десятилетие проведены многочисленные фитохимические исследования листьев плодово-ягодных деревьев и кустарников. Ниже рассмотрены результаты проведенных работ по изучению листьев следующих культур.

- В листьях *винограда красного* определено количественное содержание экстрактивных веществ (содержание колеблется в диапазоне от 31,1 до 35,7%), суммы фенольных соединений (2,14 - 2,85 %), обнаружено 22 макро- и микроэлемента Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ti, Ba, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Pb, Ti, Zr и установлено их содержание. Выявлено, что экстракты из листьев винограда проявляют антиоксидантную, противовоспалительную, антиноцептивную, антигипергликемическую активность [18, 29].

- Научно доказано, что *листья облепихи* являются источником аскорбиновой кислоты, бета-каротина, флавоноидов, дубильных веществ, моно- и дисахаров, макро- и микроэлементов, таких как кальций (2420 мг%), магний (515 мг %), марганец (20 мг %), железо (56 мг %), кобальт (0,19 мг %), разработана технология этанольного экстракта листьев облепихи, изучена фармакологическая активность как листьев облепихи, так и экстракта из них [30, 31, 32, 33].

- Фитохимическое изучение *листьев вишни* показало наличие в них флавоноидов, органических кислот, хлорофилла, витамина К, каротиноидов, дубильных веществ; проведен качественный и количественный анализ аскорбиновой и хлорогеновой кислот (содержание хлорогеновой кислоты зависит от сорта и колеблется в пределах от 0,004 до 0,256 мг%), выявлены антиэкссудативные свойства масляного экстракта листьев вишни. У листьев вишни и черешни была изучена антиоксидантная активность [34, 35, 36].

- В *листьях сливы* определено содержание флавоноидов (кемпферол, кверцетин, их моно- и дигликозиды), тритерпены и стеролы, витамины С, Е, фенолкарбоновые кислоты (в гидролизате феруловая и кофейная), антоцианы, исследован элементный состав [37, 38, 39, 40].

- В *листьях рябины черноплодной* определены полисахариды, водорастворимые сапонины, алкалоиды, дубильные вещества и органические кислоты; с помощью качественных реакций: пробы Синода, реакции с солями железа, со спиртовым раствором хлорида алюминия, щелочным раствором ацетата свинца было обнаружено, что флавоноиды листьев черноплодной рябины представлены в большей части флавонами и диоксипроизводными флавоноидов; а так же, на основе полученных экспериментальных данных определены оптимальные условия извлечения антоцианов из высушенных листьев рябины черноплодной (экстрагирование в течение 3,5 часов спиртом этиловым 95%-ным, подкисленным кислотой хлороводородной, при соотношении сырье: экстрагент 1:10), в результате количественного анализа, установлено содержание флавоноидов (0,5-5%) [41].

- Проведено фитохимическое исследование *листьев рябины обыкновенной* [42].

- Определены основные фармакогностические показатели (подлинность и доброкачественность) *листьев калины*, проведен анализ флавоноидов, подобраны оптимальные параметры экстракции: наименьшее количество экстрактивных веществ наблюдается при использовании спирта этилового в концентрации 90%, при увеличении доли воды в смеси количество извлекаемой суммы веществ возрастает, максимальное количество экстрактивных веществ достигается при использовании воды очищенной, которая была выбрана в качестве оптимального экстрагента [43, 44].

- В *листьях бузины* проведено количественное определение рутина методом капиллярного электрофореза и спектрофотометрическим [45, 46, 47].

- В *листьях черной смородины* подробно изучен химический состав: проведен качественный и количественный анализ флавоноидов, дубильных веществ,

катехинов, сапонинов, полисахаридов, аскорбиновой кислоты, аминокислот, доказана фармакологическая активность [48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58].

- В *листьях красной смородины* изучен качественный и количественный состав, доказано наличие флавоноидов, дубильных веществ, каротиноидов, хлорофилла; разработана технология экстракта густого листьев смородины красной, изучена антиоксидантная активность экстракта густого [59, 60, 61].

- Установлено содержание антиоксидантов в спиртовых и водно-спиртовых, водных извлечениях *листьях крыжовника*, в извлечении из листьев крыжовника отклоненного, полученного спиртом этиловым 40 %, содержание антиоксидантов оказалось максимальным и составляет в пересчете на кверцетин и на галловую кислоту. Эти данные явились обоснованием для выбора спирта этилового 40 % в качестве оптимального экстрагента при получении извлечения, содержащего максимальное количество антиоксидантов [62, 63, 64, 65, 66, 67, 68].

- В *листьях ирги* выявлена совокупность микродиагностических признаков, которые могут быть использованы для определения подлинности лекарственного растительного сырья, изучен микроэлементный состав листьев [69, 70, 71, 72].

- Доказано, что *листья кизила* содержат: иридоиды (секологанин 0,1%), фенолкарбоновые кислоты, витамин С, дубильные вещества – до 17,6%, флавоноиды (рутин, кверцетин, кемпферол), проантоцианидины; разработана технология кизила листьев экстракта жидкого, представляющая собой противоточное многоступенчатое экстрагирование в батарее из шести диффузоров при соотношении фаз 1:2 с использованием в качестве экстрагента 70%-ного этилового спирта, доказана диуретическая активность экстракта [73, 74, 75, 76].

- Доказано, что в *листьях малины* содержатся сапонины, микроэлементы (молибден, йод, фосфор), дубильные вещества; фермент фенилаланинаминотрансфераза; молочная и янтарная кислоты; фитонциды; макроэлементы (мг/г): К – 19,30; Са – 10,00; Mg – 3,40; Fe – 0,20; микроэлементы (мкг/г): Mn – 340,00; Cu – 7,80; Zn – 28,90; Co – 0,10; Mo – 1,00; Cr – 0,40; Al – 67,60; Se – 0,20; Ni – 1,44; Sr – 8,48; Pb – 1,10; В – 77,20. Также присутствуют

каротин, антоцианы, слизистые, белковые и пектиновые вещества. Витамины: С (до 300 мг%), Е, каротин; фенолкарбоновые кислоты (п-кумаровая, ванилиновая); флавоноиды; высшие алифатические углеводы; органические кислоты [77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86].

- Проведен фитохимический анализ *листьев ежевики*, ТСХ-анализ флавоноидов, доказана гипогликемическая, антиоксидантная активность листьев [87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98].

- Установлены диагностические морфолого-анатомические признаки *листьев фейхоа*, которые могут быть использованы для диагностики лекарственного растительного сырья, изучен элементный состав листьев [99, 100].

- При определении микро-диагностических признаков *листьев жимолости* определено присутствие отличающихся контуром клеток нижнего и верхнего эпидермиса, наличие устьичного комплекса анамоцитного типа преимущественно на нижней поверхности листа, наличие многочисленных многоклеточных простых волосков по краю листа, многочисленные простые волоски на вершине листа, имеющих сосочковидное строение характерны призматические кристаллы оксалата кальция вдоль жилок, формирующих кристаллоносную обкладку; в ходе эксперимента было определено количественное содержание флавоноидов в листьях жимолости спектрофотометрическим методом [101].

- В *листьях каштана конского* подробно изучен морфолого-анатомический, химический состав листа, определено качественное и количественное содержание флавоноидов, дубильных веществ, терпеновых сапонинов, минеральных соединений, фармакологическая активность [102, 103, 104, 105].

- В *листьях яблони*, в результате проведенных качественных реакций подтверждены такие группы биологически активных веществ как флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, полисахариды; наличие арбутина подтверждали качественными реакциями, проводимыми с водными извлечениями из анализируемого сырья, до и после осаждения полифенолов, а также методом бумажной хроматографии со стандартом арбутином, проведено определение

содержания экстрактивных веществ, суммарного содержания полифенолов и числовых показателей для образцов сырья листьев яблони лесной [106, 107, 108].

- В ходе проведённых исследований установлено, что в *листьях абрикоса*, собранных в период плодоношения, содержится от 0,3 до 1,2% пектиновых веществ; результаты качественных реакций листьев абрикоса, позволяют сделать вывод, что комплекс фенольных соединений состоит в основном из конденсированных дубильных веществ, флавонов, флавонолов, 5-гидроксифлавонолов, 5-гидроксифлавонов, халконов, ауранов, катехинов, кумаринов [109].

- Хорошо изучен химический состав *листьев ореха грецкого* и представлен различными классами соединений, обладающих гидрофильными свойствами: витаминами С, РР, дубильными веществами (производные пирогаллола), флавоноидами (югланин, авикулярин, гиперозид, 3-арабинозид кверцетина, 3-арабинозид кемпферола), экспериментально установлено, что флавоноиды из листьев в опытах на животных оказывают гипотензивное, спазмолитическое и противовоспалительное действие [110, 111].

- У *листьев инжира* проведен качественный и количественный анализ биологически активных веществ [112, 113, 114].

Сырье плодово-ягодных растений, описанных выше, используется в составе лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище. Например, каштана конского листья входят в состав лекарственных препаратов: настойка каштана конского, «Эскузан», «Эскулап»; винограда красного листья входят в состав лекарственного препарата «Антистакс», биологически активных добавок к пище «Венокорсет», «Комплекс экстрактов: гинкго-билоба и листья красного винограда»; смородины черной листья входят в состав экстракта, фиточая «Листья смородины черной», БАД к пище «Олиджим»; облепихи листья идут на изготовление масла, фиточая, БАД к пище «Облепиха +»; грецкого ореха листья входят в состав фиточая.

## 1.2 Морфологическая характеристика *Persica vulgaris* Mill.

Персик обыкновенный – *Persica vulgaris* Mill., семейство Розоцветные – Rosaceae (рисунок 1).



Рисунок 1. Персик обыкновенный

Родовое латинское наименование *Persica* образовано от названия персикового дерева у Плиния и других авторов (происходит от греч. *persicos*-персидский, в связи с тем, что растение попало в Европу из Персии).

Родовой эпитет *vulgaris* (обыкновенный) характеризует распространенность вида. Родовое определение *Armeniaca* образовано от прилагательного *armeniacus* (армянский).

Персик обыкновенный (*Persica vulgaris* Mill.) относится к семейству розовых (*Rosaceae* Juss.), подсемейству сливовых (*Prunoideae* Focke), роду персик (*Persica* Mill.) [115].

Персик – многолетнее листопадное растение (*Prunus persica* L.) из подсемейства миндальных (*Amygdalaceae*), относится к семейству

розоцветных (*Rosaceae* Juss). Дерево высотой до 8 м с великолепными розовидными или колокольчатыми цветами [116].

Плоды - сочные костянки, обычно крупные, яйцевидные, опушенные или голые. Косточка бороздчатая, ребристая [117].

### **1.3 Арал обитания, места культивирования персика обыкновенного**

Родина персика — Китай. В Китае он появился как ботанический вид, рос, и формировался в течение десятков и сотен тысяч лет эволюции [118].

Арал диких видов персика – это в основном горные районы Китая на высоте от 1200 до 7000 м над уровнем моря [119].

Персик обыкновенный является важной промышленной косточковой культурой на юге России. В Республике Крым он занимает площадь 6,3 тыс. га, что составляет 50,8 % от общей площади косточковых культур [120].

Персик обыкновенный культивируют в Китае, Европейском Союзе, США, Турции, Аргентине, Бразилии, Южной Африке, Мексике, Чили, Японии, Австралии, Канаде, Украине, Таджикистане, Армении, Молдове, России.

В России персик выращивают в Северо-Кавказском регионе, Краснодарском и Ставропольском краях, Ростовской области [121, 122, 123].

### **1.4 Химический состав БАВ персика обыкновенного**

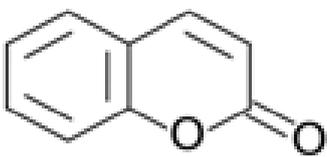
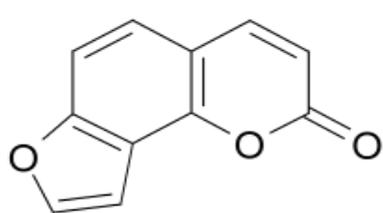
Плоды персика содержат большое количество различных веществ: сахаров (сахароза, фруктоза, глюкоза), кислот (яблочная, лимонная, аскорбиновая и др.), пектина, клетчатки, минеральных солей, микроэлементов, каротина, витаминов группы В, Р-активных веществ, которые оказывают лечебно-профилактическое воздействие на организм человека.

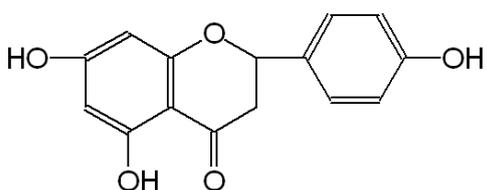
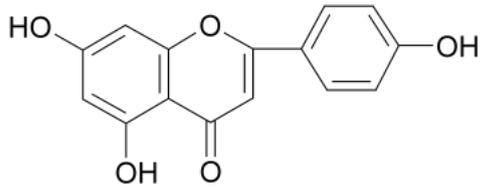
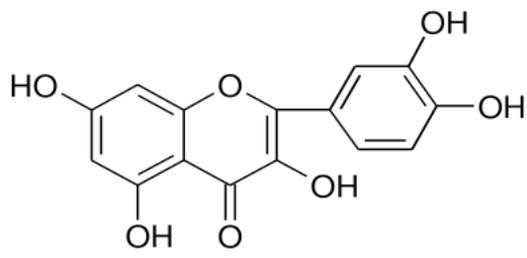
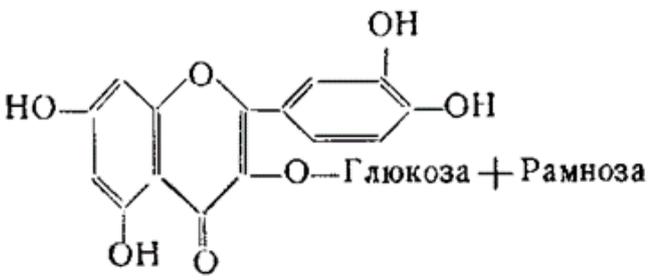
В результате многолетних исследований, было выявлено, что в плодах различных сортов содержание сухих веществ составляет 10,4-18,9%, моносахаров – 1,6-4,7, суммы сахаров – 7,0-14,5, титруемых органических кислот – 0,35-0,95%,

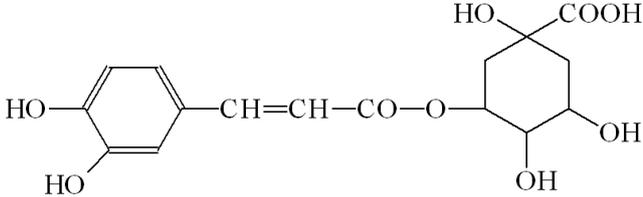
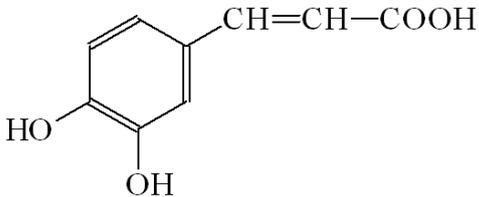
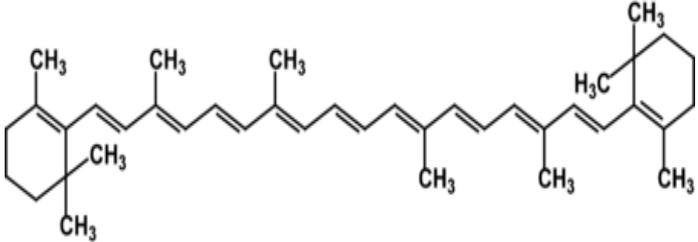
водорастворимого пектина – 0,17-1,83, протопектина – 0,21-0,88 и их суммы – 0,56-1,32% от сырой массы мякоти плода. Содержание аскорбиновой кислоты варьирует от 5,6 до 19, а лейкоантоцианов – от 32 до 448 мг/100 г сырого вещества [124], пектин, клетчатка, минеральные соли, микроэлементы, каротин, витамины группы В, Р-активные вещества. Из семян получают высококачественное масло для косметической промышленности [125].

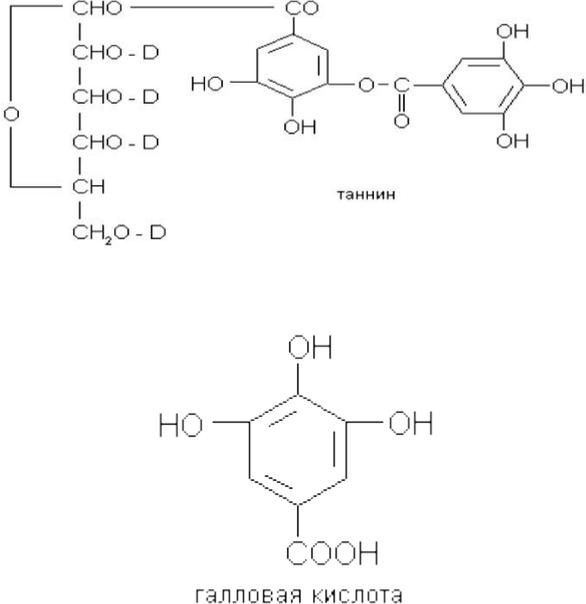
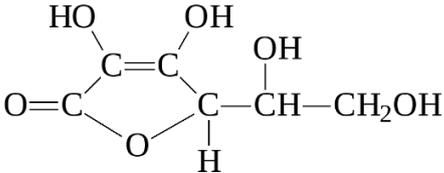
Существуют данные, что листья персика содержат: кумарины, дубильные вещества, флавоноиды, каротиноиды, фенолкарбоновые кислоты (хлорогеновую, кофейную), витамины (таблица 1). В комплексе полифенольных соединений листьев персика выявлены микроэлементы: марганец, медь, цинк, серебро, фосфор [126].

Таблица 1 - Химический состав персика обыкновенного листьев

<b>Биологически активные вещества</b>	<b>Основные представители</b>
<b>1</b>	<b>2</b>
Кумарины	<div style="text-align: center;">  <p>кумарин</p>  <p>7,8-фурукумарин</p> </div>

1	2
Флавоноиды	<div data-bbox="829 358 1316 593" style="text-align: center;">  <p>нарингенин</p> </div> <div data-bbox="829 694 1316 952" style="text-align: center;">  <p>кемпферол</p> </div> <div data-bbox="805 1097 1332 1422" style="text-align: center;">  <p>Кверцетин</p> </div> <div data-bbox="742 1579 1396 1948" style="text-align: center;">  <p>рутин</p> </div>

1	2
Фенолкарбоновые кислоты	 <p>хлорогеновая кислота</p>  <p>кофейная кислота</p>
Каротиноиды	 <p>бета-каротин</p>

Продолжение таблицы 1	
1	2
Дубильные вещества	 <p style="text-align: center;">таннин</p> <p style="text-align: center;">галловая кислота</p>
Витамины	 <p style="text-align: center;">Аскорбинвая кислота (витамин С)</p>

Биологически активные вещества, входящие в состав персика обыкновенного листьев, участвуют в формировании фармакологического эффекта.

Основной класс фенольных соединений – *флавоноиды*, обладающие разнообразным фармакологическим действием. Все природные флавоноиды малотоксичны при широком спектре биологической активности [127].

Флавоноиды – биологически активные полифенольные соединения растительного происхождения, выполняющие в растениях разные функции, в частности, отвечают за пигментацию и участвуют в защите от грибов и насекомых. Биофлавоноиды обладают мощными антиоксидантными свойствами, что показано в экспериментальных исследованиях. Для флавоноидов достоверно установлены такие фармакологические эффекты, как иммуностимулирующий, противоопухолевый, кардио-, гепато- и геропротекторный, антитромбоцитный, противоаллергический, противовирусный, гипохолестеринемический, капилляроукрепляющий, эстрогенный [128].

Установлено, что флавоноиды обладают выраженными антиаллергическими, антиканцерогенными, противовоспалительными и противовирусными свойствами. Одной из особенностей биологического действия флавоноидов является чрезвычайно широкий спектр потенциальных мишеней, на которые они могут воздействовать в организме. С одной стороны, это связано с большим разнообразием самих растительных пигментов, как в отношении их структуры, так и редокс-свойств. Вместе с тем, каждый конкретный флавоноид способен воздействовать на множество структурных и функциональных систем клетки и организма в целом [129].

Биологическая активность флавоноидов изначально была выявлена как Р-витаминная активность. В середине 30-х годов выдающийся биохимик Сент-Дьердьи и его сотрудники впервые описали витамины группы Р и установили их полифенольную структуру [130].

Один из первых молекулярных механизмов Р-витаминной активности был предложен Beiler and Martin в 1947 году. Показав, что витамин Р эффективно ингибирует гиалуронидазу, фермент, который катализирует гидролитическое расщепления гиалуроновой кислоты, содержащейся в стенках капилляров и способствует их разрыхлению и увеличению проницаемости, они предположили,

что уменьшение сосудистой и тканевой проницаемости под действием витамина Р происходит за счет антигиалуронидазного действия. Несколько позднее появилась антиоксидантная гипотеза Р-витаминной активности. Кроме того, было показано, что флавоноиды являются эффективными ловушками активных форм кислорода и азота. Поэтому в настоящее время большинство исследователей считает, что при воспалительных процессах более значительный вклад в Р-витаминный эффект вносит не косвенное, а прямое антиоксидантное действие, защищающее структуры капиллярной стенки от повреждающего действия биорадикалов. Флавоноиды, в отличие от фенольных антиоксидантов (токоферолов), кроме прямого антирадикального действия способны связывать ионы металлов с переменной валентностью (переходные металлы), образуя стабильные хелатные комплексы. Известно, что образование такого рода комплексов флавоноидов с ионами переходных металлов приводит к ингибированию свободно радикальных процессов. Благодаря хелатирующим свойствам, поступающие с пищей в организм флавоноиды способны влиять на ионный (металлов) баланс и окислительный статус клеток и тканей [131].

Другим классом соединений, проявляющих широкий диапазон биологической активности, являются *органические кислоты*. Комплекс органических кислот входит в состав косметических пилингов в качестве кератолитического компонента. Они обладают антиоксидантной, противовоспалительной, иммуномодулирующей активностью, принимают участие в обмене веществ, положительно влияют на усвоение пищи, создают благоприятные условия для жизнедеятельности полезных микроорганизмов кишечника [132].

*Каротиноиды* представляют собой один из важнейших классов природных соединений, содержащихся в растительном сырье [133].

Каротиноиды – неустойчивые соединения, легко окисляются атмосферным воздухом, подвергаются ферментативному метаболическому окислению с укорочением цепи сопряженных связей. Попадая в организм с растительной пищей,  $\beta$ -каротин расщепляется до альдегида ретиналь, который вместе с соответствующими ему спиртами и кислотой объединяют под общим названием

ретиноиды, или витамин А. Регуляторные эффекты каротиноидов определяют такие их биологические функции, как ингибирование мутагенеза и трансформации про- и эукариотических клеток, предотвращение предраковых и возрастных повреждений в организме [134].

В растениях каротиноиды, как переносчики активного кислорода, участвуют в процессе фотосинтеза. Во всех живых организмах данная группа биологически активных соединений участвует в функционировании различных защитных механизмов, оказывая мембраностабилизирующее, антиоксидантное, иммуностимулирующее действие, обеспечивая защиту от ультрафиолетового излучения. Кроме того, каротиноиды увеличивают цитостатическую активность клеток-киллеров, замедляют рост опухоли и ускоряют ранозаживление [135, 136].

Благодаря своим антиоксидантным свойствам каротиноиды привлекают особое внимание в борьбе за предотвращение таких хронических заболеваний, как рак, сердечно-сосудистые заболевания, диабет и остеопороз. Важнейшей биологической функцией каротиноидов в организме человека является провитаминная (А) активность. Каротиноиды, обладающие такой активностью, поддерживают дифференциацию здоровых эпителиальных клеток, нормализуют репродуктивные функции и зрение, в т.ч. возрастных изменений сетчатки глаза [137].

*Дубильные вещества* (танниды, таниды) - безазотистые ароматические вещества, хорошо растворимые в спирте и воде. Состоят из полифенолов, флавоноидов и таннинов. Дубильные вещества широко распространены в растительном царстве, обладают характерным вяжущим вкусом. Внутри их принимают в основном при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и отравлениях солями металлов и растительными ядами. Наружно назначают при воспалении слизистых оболочек, ожогах, кровотечениях [138]. Дубильные вещества обладают гепатопротекторным, противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным, антимикробным, противопротозойным и противодиабетическим действием [139]. Сырьё, содержащее конденсированные дубильные вещества, может применяться в качестве антиоксидантов,

антигипоксантных и противоопухолевых средств из-за своей способности подавлять цепные свободнорадикальные реакции. Установлено, что гидролизуемые и конденсированные дубильные вещества проявляют высокую Р-витаминную активность и антисклеротическое действие [140].

*Аскорбиновая кислота* (витамин С) – мощный антиоксидант. Он играет важную роль в регуляции окислительно – восстановительных процессов, участвует в синтезе коллагена и проколлагена, обмене фолиевой кислоты и железа, а также синтезе стероидных гормонов катехоламинов. Аскорбиновая кислота также регулирует свертываемость крови, нормализует проницаемость капилляров, необходимую для кроветворения, оказывает противовоспалительное и противоаллергическое действие. Витамин С является фактором защиты организма от последствий стресса. Усиливает репаративные процессы, увеличивает устойчивость к инфекциям. Уменьшает эффекты воздействия различных аллергенов. Имеется много теоретических и экспериментальных предпосылок для применения витамина С, с целью профилактики раковых заболеваний. Известно, что у онкологических больных из-за истощения его запасов в тканях нередко развиваются симптомы витаминной недостаточности, что требует дополнительного их введения. Витамин С улучшает способность организма усваивать кальций и железо, выводить токсичные элементы: медь, свинец и ртуть [141].

Витамин С участвует в окислительно-восстановительных процессах. В том числе в липидном и пигментном обмене, активирует протромбин, обладает десенсибилизирующим действием, поднимает жизненный тонус организма, повышает сопротивляемость организма к экстремальным воздействиям [142].

*Кумарины* – природные соединения, производные бензо- $\alpha$ -пирона или производные орто-оксикоричной кислоты. Как природные соединения, кумарины стали активно изучаться лишь в последние 60 лет [143].

Кумарины обладают разнообразной фармакологической активностью, в частности антикоагулянтной, антимикробной, антидепрессантной, антиоксидантной, противовоспалительной, противоопухолевой,

противовирусной, антигиперлипидемической, анти-ВИЧ и другими действиями [144, 145]. В настоящее время на основе кумарина созданы целый ряд лекарственных средств, которые с успехом применяются как в отечественной, так и в зарубежной лечебной практике [146].

*Микро- и макроэлементы* являются важнейшими катализаторами различных биохимических процессов, участвующих во всех видах обмена и играют значительную роль в адаптации организма в норме и, особенно в патологии. Ряд элементов, широко представленных в природе, может редко встречаться у человека, и наоборот. В этом проявляются особенности накопления микро- и макроэлементов – активное и избирательное использование элементов внешней среды для поддержания гомеостаза и построения организма вне зависимости от меняющихся параметров внешних условий.

Проблема коррекции обмена макро- и микроэлементов является весьма актуальной, особенно в странах занимающих большие территории. Дефицит ряда эссенциальных микроэлементов, т.е. жизненно необходимых (селена, цинка, железа, йода, марганца) способствуют росту частоты злокачественных новообразований: кожи, мозга, желудочно-кишечного тракта, лимфопролиферативных заболеваний; инфекционной патологии – грибковые, вирусные и бактериальные инфекции; аутоиммунных заболеваний – ревматоидный артрит, системная красная волчанка, дерматомиозит, системная склеродермия, рассеянный склероз; дегенеративных заболеваний – атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, болезнь Альцгеймера и т.д. [147].

### **1.5 Фармакологические свойства**

В научной литературе упоминается применение персика обыкновенного в качестве слабительного, успокаивающего и противоракового средства [148]. Водный экстракт листьев персика проявляет гипогликемическое действие, снижая постпрандиальный уровень глюкозы в крови за счет уменьшения всасывания

глюкозы в тонком кишечнике [149]. Гепатопротекторное действие экстракта связывается с действием фенольных соединений, а именно – флавоноидов [150].

Известно, что фитопрепараты персика стимулируют иммунитет, усиливают фагоцитарную активность защитных клеток, повышают выработку антител. Экстракт листьев персика рекомендуется для профилактики ОРВИ. Высокую эффективность демонстрирует вытяжка из персика и в отношении гинекологических заболеваний. Мастопатия, миоматозные узлы, болезненные и обильные месячные являются показаниями для приёма препаратов из персика. Кроме того, комплекс флавоноидов персика является адаптогеном и улучшает физическую работоспособность, устойчивость к нагрузкам и нервному напряжению [27]. По результатам исследований, растительные препараты полифенольной природы из персика обыкновенного листьев повышают фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов, способствуют активной выработке антител, увеличивают число Т-лимфоцитов, то есть, стимулируют иммунную систему. Средства на основе персика, а также сами плоды обладают антиоксидантными свойствами, очищают организм от свободных радикалов, которые приводят к возрастным изменениям [27].

Доказана противоопухолевая активность полифенольных соединений листьев персика обыкновенного. Ученые Онкологического центра им. Н.Н. Блохина РАМН (Москва), представители нетрадиционной медицины, проводили опыты на мышах, по результатам опытов даже злокачественная опухоль прекращала свой рост. Исследования проводили и на онкологических больных III – IV стадии. В итоге, после приема препаратов на основе персика болевые синдромы значительно уменьшались или исчезали, а общее состояние организма после химиотерапии улучшалось. Противоопухолевыми свойствами обладают семена (ядра) плодов персика [27]. Экспериментально выявлена эффективность лекарственных средств на основе персика в гинекологической практике. Спустя 3-5 месяцев после их приема исчезают симптомы мастопатии у женщин, аденомиоз, нормализуется менструальный цикл. Персик способствует повышению гемоглобина в крови и показан при анемии. Наблюдается положительный эффект

препаратов на основе персикового масла при лечении заболеваний предстательной железы, туберкулеза, дисбактериоза, конъюнктивитов, пародонтозов, стоматитов. Активные компоненты в составе плодов персика уменьшают негативное влияние стрессов на организм, ограничивают действие токсинов, которые ведут к нарушениям иммунитета [20].

## **ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1**

1. В результате изучения литературных источников было выявлено, что персика обыкновенного листья имеют богатый состав биологически активных веществ.

2. Персик обыкновенный имеет достаточную сырьевую базу, как за рубежом, так и в России, широко культивируются ранние, средние и позднеспелые сорта персика обыкновенного.

3. Установлено, что в литературе широко освещаются вопросы фармакологической активности персика обыкновенного листьев в народной медицине, использование в составе БАД к пище.

4. В Российской Федерации отсутствует нормативная документация на персика обыкновенного листья, поэтому одной из актуальной задач современной фармации является стандартизация и разработка показателей качества сырья.

5. Широкий спектр фармакологической активности и богатый химический состав обуславливает перспективу создания новых ЛРП на основе персика обыкновенного листьев.

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Характеристика объектов исследования

В качестве объектов исследования выступали персика обыкновенного листья и экстракт густой на их основе. Данные приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Объекты исследования

<b>Образец</b>	<b>Место сбора/место изготовления</b>	<b>Время сбора/дата изготовления</b>
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
Персика обыкновенного листья, образец № 1	Окрестности г. Майкоп, Краснодарский край	Август 2015 г
Персика обыкновенного листья, образец № 2	Окрестности г. Майкоп, Краснодарский край	Август 2016 г
Персика обыкновенного листья, образец № 3	Окрестности г. Геленджик, Краснодарский край	Август 2016 г
Персика обыкновенного листья, образец № 4	Окрестности г. Майкоп, Краснодарский край	Август 2017 г
Персика обыкновенного листья, образец № 5	Окрестности г. Геленджик, Краснодарский край	Август 2017 г
Персика обыкновенного листьев экстракт густой, серия 001	ООО «Апифитофарм», г. Пермь	01.09.2016

Продолжение таблицы 2		
1	2	3
Персика обыкновенного листьев экстракт густой, серия 002	ООО «Апифитофарм», г. Пермь	10.10.2017
Персика обыкновенного листьев экстракт густой, серия 003	ООО «Апифитофарм», г. Пермь	10.01.2018
Персика обыкновенного листьев экстракт густой, серия 004	ООО «Апифитофарм», г. Пермь	15.10.2018
Персика обыкновенного листьев экстракт густой, серия 005	ООО «Апифитофарм», г. Пермь	10.01.2019

Экспериментальные данные были получены с применением следующей лабораторной базы:

1. Аналитические весы «MettlerToledoXS 204»; весы электронные ГОСМ ЛВ 210-А, весы Мора ВА-4М; весы для сыпучих материалов аналитические ВСМ-1, ВСМ-5, ВСМ-20;

2. Микроскоп «Биомед б», увеличение 640х, 160х;

3. Цифровые микроскопы марки «Motic»: DM-111 и DM-39С – N9GO-A

4. Цифровая камера «ДСМ 510»;

5. Спектрофотометр СФ-2000;

6. Хроматографические пластинки "Силуфол";

7. Хроматографические системы: бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2), гексан-ацетон (8:2);
8. Анализатор влажности «Эвлас 2М»;
9. Термостат суховоздушный «ТС-1/80»;
10. Рефрактометр «RL-3»;
11. Набор ареометров общего назначения ИСП.АІ;
12. Набор сит с различными размерами отверстий;
13. рН-метр «MP-25».

## **2.2 Методы фитохимического исследования**

### **2.2.1 Морфолого-анатомическое исследование персика**

#### **обыкновенного листьев**

Определение подлинности сырья проводили с использованием методов макро- и микроскопического анализа по общепринятым методикам ГФ XIV издания, ОФС.1.5.3.0004.15, ОФС. 1.5.3.0003.15, ОФС. 1.5.1.0001.15, ОФС. 1.5.1.0003.15 [151].

Анатомические признаки изучали на микроскопе «Биомед 6», увеличение 640х, 160х. Микрофотографии выполняли цифровой камерой «DCM 510» в программе Score.

Проведение исследования микропрепаратов осуществлялось в отраженном и проходящем свете при помощи цифровых микроскопов марки «Motic»: DM-111 и DM-39C – N9GO-A.

#### **2.2.2 Определение влажности**

Определение влажности проводили по стандартной методике, предложенной в ГФ 14, ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [151].

#### **2.2.3 Определение золы общей**

Определение золы общей проводилось по стандартной методике, предложенной в ГФ XIV, ОФС.1.2.2.2.0013.15 «Зола общая» [151].

Около 3-5 г (точная навеска) измельченного лекарственного растительного сырья помещали в предварительно прокаленный и точно взвешенный фарфоровый тигель, равномерно распределяя сырье по дну тигля. Затем тигель осторожно нагревали, давая сырью сначала сгореть при наименьшей возможной температуре. Прокаливание вели при слабом красном калении (около 500<sup>0</sup>С) до постоянной массы. По окончании прокаливания тигель охлаждали в эксикаторе, и взвешивали [151].

#### **2.2.4 Методы испытания (числовые показатели) персика обыкновенного листьев**

Определение числовых показателей персика обыкновенного листьев: влажности, золы общей, золы, нерастворимой в 10 % растворе кислоты хлористоводородной, примесей, проводили по стандартным методикам ГФ XIV [151].

#### **2.3 Общие методики стандартизации сырья**

Настоящий проект Фармакопейной статьи «Персика листья» разрабатывался в соответствии с ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств [152].

#### **2.4 Методика приготовления извлечения для проведения качественного анализа БАВ**

##### **1) В сырье:**

В колбу вместимостью 250 мл помещали 5 г измельченного сырья, заливали 100 мл горячей очищенной воды, кипятили в течение 5 минут на плитке и фильтровали. С полученным извлечением проводили качественные реакции [153].

##### **2) В экстракте густом:**

1 г экстракта густого помещали в колбу вместимостью 100 мл, добавляли воду очищенную до 100 мл. Перемешивали до полного растворения экстракта густого, и фильтровали. С полученным раствором проводили качественные реакции.

## 2.5 Определение дубильных веществ

### *Качественное обнаружение дубильных веществ*

Для обнаружения дубильных веществ использовали характерные цветные реакции:

1) Реакция с 1% раствором желатина в 10% растворе натрия хлорида: к 5 мл извлечения по каплям прибавляли равные количества свежеприготовленного 1%-ого раствора желатины и кислоты хлористоводородной 10%.

2) Реакция с бромной водой: к 5 мл извлечений прибавляли 1-2 мл 0,5%-ого раствора воды бромной.

3) Проба Стиасни (40%-ный раствор формальдегида с концентрированной хлористоводородной кислотой): к 5 мл извлечений прибавляли 2-3 мл формальдегида и кислоты хлористоводородной.

4) С 1%-ным раствором железоаммониевых квасцов.

### *Количественное определение дубильных веществ*

Количественное определение дубильных веществ в растительном сырье и экстракте густом проводили перманганатометрическим методом согласно методике ГФ 14,ОФС.1.5.3.0008.18«Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

## 2.6 Определение каротиноидов

### *Качественное обнаружение каротиноидов*

Полученные извлечения анализировали методом тонкослойной хроматографии на пластинках "Силуфол" восходящим способом в системе растворителей: гексан-ацетон (8:2) [154].

## ***Количественное определение каротиноидов***

Количественное определение каротиноидов в сырье и экстракте проводили спектрофотометрическим методом согласно ГФ РФ XIV издания, ФС.2.5.0106.18, «Шиповника плоды» [151].

### **2.7 Определение аскорбиновой кислоты**

#### ***Качественное обнаружение аскорбиновой кислоты***

Качественные реакции на аскорбиновую кислоту проводили согласно ГФ XIV изд., ФС.2.1.0058.18 «Аскорбиновая кислота» [151]:

1) реакция с серебра нитратом – основана на восстановлении серебра<sup>+</sup> до металлического серебра и окислении аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой.

2) реакция с раствором йода – основана на восстановлении молекулярного йода до йодид-иона и окислении аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой.

#### ***Количественное определение аскорбиновой кислоты***

Аскорбиновую кислоту определяли титриметрическим методом согласно методике ГФ РФ 14, ФС.2.5.0106.18, «Шиповника плоды» [151].

### **2.8 Определение элементного состава**

Для изучения макро- и микроэлементного состава персика обыкновенного листьев и экстракта густого из них использовали рентгено-флюоресцентный метод. Навеску около 10 г помещали в тигель, и сжигали на плитке до прекращения дымления. Затем, тигли помещали в муфельную печь при температуре 600 °С, выдерживали в муфельной печи около 2 ч, до полного озоления и отсутствия черной угольной массы. После полного охлаждения тиглей добавляли азотную кислоту 50% [155] и выпаривали её на плитке, избегая разбрызгивания, затем помещали в муфельную печь при температуре 600 °С на 1

ч. После этого в зольном остатке проводили качественный и количественный анализ элементного состава на энергодисперсионном спектрометре Quantix.

## 2.9 Определение флавоноидов

### 2.9.1 Качественное определение флавоноидов

Флавоноиды качественно определяли в водных извлечениях из персика обыкновенного листьев, экстракте густом с помощью характерных качественных реакций.

1) *Цианидиновая реакция (проба Синода)*. К 1-2 мл извлечения прибавляли 5 капель концентрированной хлористоводородной кислоты и 5-10 мг магния.

2) *Цианидиновая реакция по Брианту*. Раствор, полученный в результате проведения цианидиновой реакции, разбавляли водой очищенной в соотношении 1:1 и прибавляли н-бутанол.

3) *Реакция с 2%-ым раствором алюминия (III) хлорида*.

4) *Реакция с раствором натрия гидроксида 10%*.

Для анализа флавоноидного состава также была использована *хроматография на бумаге*, в системе растворителей: бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2). Идентифицировали флавоноиды по характерному свечению на хроматограммах в УФ-свете и после проявления хромогенными реактивами.

Условия хроматографирования:

- объем спиртового извлечения – 0,05 мл;
- система растворителей - бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2);
- бумага марки «С» (средняя);
- хроматограммы высушивали под тягой и просматривали в УФ-свете [156, 157, 158].

### 2.9.2 Идентификация флавоноидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Для качественного и количественного определения флавоноидов в персике обыкновенного листьев экстракте густом использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Исследование проводили на жидкостном хроматографе "Милихром А-02" с УФ - детектором.

Условия хроматографического анализа:

- колонка хроматографическая из нержавеющей стали, заполненная обращеннофазовым сорбентом С18, тип "БД-2003";
- подвижная фаза: перхлоратный буфер – ацетонитрил;
- элюирование градиентное: увеличение доли ацетонитрила с 5% до 80% за 30 минут;
- длина волны детектора – 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 и 300 нм;
- расход элюента - 100 мкл/мин;
- температура термостата колонки 40°C.

Приготовление раствора персика обыкновенного листьев экстракта густого:  
навеску массой 0,25 г помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 15 мл метанола, и обрабатывали на ультразвуковой бане в течение 30 минут, доводили объем метанолом до метки и, перемешивали. Раствор фильтровали через мембранный фильтр (испытуемый раствор).

Приготовление раствора стандартного образца рутина:  
Около 0,005 г стандартного образца рутина помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 25 мл метанола, доводили объем метанолом до метки, и перемешивали.

Идентификацию проводили с использованием стандартного образца по времени удерживания и УФ-спектрам, снятым в режиме хроматографирования.

Расчет количественного содержания рутина в экстракте густом проводили по формуле (1):

$$X (\%) = \frac{S_x \cdot a_0 \cdot 25 \cdot 100}{S_0 \cdot a_x \cdot 50} = \frac{S_x \cdot a_0 \cdot 50}{S_0 \cdot a_x}, \dots(1)$$

где  $S_1$  – площадь пика рутина на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_2$  – площадь пика рутина на хроматограмме стандартного образца;

$a_x$  – навеска экстракта, г;

$a_0$  – масса рутина в растворе стандартного образца, г

### 2.9.3 Количественное определение флавоноидов

Для количественного определения флавоноидов, помимо метода ВЭЖХ, использовали *спектрофотометрический метод*. В основе метода анализа выбрана реакция флавоноидов с алюминия хлоридом в среде спирта этилового 70% [159, 160, 161, 162]. При разработке методики количественного определения флавоноидов в персика обыкновенного листьях нами взята за основу фармакопейная методика определения содержания флавоноидов в зверобое траве, которую адаптировали для исследуемого сырья, ГФ 14, ФС.2.5.0015.15, «Зверобоя трава».

*Количественное определение суммы флавоноидов в экстракте густом* проводили следующим методом:

Около 0,15 г (точная навеска) экстракта помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 30 мл спирта этилового раствора 70%, перемешивали в течение 40 мин, доводили объем тем же спиртом до метки, перемешивали и фильтровали, первые 10 мл фильтрата отбрасывали (раствор А). Переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, 1 мл раствора А, добавляли 1 мл спиртового раствора алюминия хлорида 2%, доводили объем раствора спиртом этиловым до метки и перемешивали (раствор Б). Через 40 минут измеряли оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А, 1 мл раствора уксусной кислоты 2% и доводили спиртом до метки в колбе вместимостью 25 мл [163].

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в экстракте густом рассчитывали по формуле (2):

$$\frac{A \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)} \quad (2),$$

где А – оптическая плотность исследуемого раствора;

$m_0$  – масса ГСО рутин в граммах;

$A_0$  – оптическая плотность раствора ГСО рутина;

$m$  – масса экстракта густого в граммах;

$W$  – потеря в массе при высушивании экстракта густого в %.

## **2.10 Определение этанола в персике обыкновенного листьев экстракте густом**

Исследования проводились на газовом хроматографе «Кристалл 2000М» (ЗАО СКБ «Хроматэк», г. Йошкар-Ола) с пламенно-ионизационным детектором.

Анализ проводили на капиллярной колонке HP-FFAP (50 м × 0,32 мм, 0,52 мкм). Колонка обладает высокой полярностью (неподвижная жидкая фаза представляет собой полиэтиленгликоль, модифицированный нитротерефталевой кислотой). Рабочий диапазон температур от 60°C до 220°C.

Подготовка проб и ввод их в хроматограф проводилось с помощью дозатора равновесного пара (ДРП).

Пробоподготовка проводилась методом микроперегонки (методом равновесного пара): около 0,5 г (точная навеска) персика обыкновенного листьев экстракта густого помещали в пенициллиновый флакон (объемом 10 мл) и добавляли 5 мл воды очищенной, герметично укупоривали, перемешивали и помещали в термоблок дозатора равновесного пара. Выдерживали флакон 10 минут при температуре 80°C, отбирали 1 мл паро-газовой фазы и вводили в хроматограф.

Параметры хроматографа:

- температура детектора – 210 °C;
- температура испарителя – 180 °C;
- температура колонки программируемая: выдержка при 70°C 7,5 минут, подъем до 210°C со скоростью 30°C в минуту, далее до конца анализа температура без изменений;

- газ-носитель – азот;

- скорость потока газа-носителя – 1,3 мл/мин;

- вспомогательные газы: водород (расход 20 мл/мин), воздух (расход 200 мл/мин);
- температура термоблока ДРП – 80° С;
- температура трубопроводов ДРП – 90° С;
- объем вводимой пробы – 1 мл;
- деление потока газа-носителя – 1:15;
- время хроматограммы – 13 минут.

Обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения «Хроматэк Аналитик 2.5».

В качестве стандарта использовали раствор этилового спирта в концентрации 0,005%.

Раствор готовили следующим образом: около 0,010 г этилового спирта 96% (хч) (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили водой очищенной до метки; 0,5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили водой очищенной до метки. Затем 5 мл стандартного раствора этанола 0,005% помещали в пенициллиновый флакон (объемом 10 мл), герметично укупоривали, перемешивали и помещали в термоблок дозатора равновесного пара. Выдерживали флакон 10 минут при 80°С, отбирали 1 мл паро-газовой фазы и вводили в хроматограф.

Идентификацию этанола проводили по времени удерживания.

Расчет проводили по стандарту с использованием площадей пиков исследуемых веществ, по формуле (3):

$$C_x = \frac{S_x \times C_{ст} \times 5}{S_{ст} \times a_x}, \quad (3)$$

где  $S_x$  – площадь пика этанола на хроматограмме персика обыкновенного листьев экстракта густого;

$S_{ст}$  – площадь пика этанола на хроматограмме стандартного раствора;

$C_{ст}$  – концентрация стандартного раствора, % (в пересчете на абсолютный этанол);

$a_x$  – масса навески персика обыкновенного листьев экстракта густого, г.

## **2.11 Фармакологические исследования**

### **2.11.1 Определение острой токсичности**

Для исследования использовался метод определения средней летальной дозы (ЛД<sub>50</sub>) [164].

Острую токсичность определяли в опытах на белых нелинейных мышах обоего пола массой 28-30 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Исследуемый экстракт вводили перорально в четырех дозах. Каждой паре животных вводили одну дозу в порядке возрастания. Для расчета ЛД<sub>50</sub> использовались результаты, полученные на 8 мышах. Животных делили на группы по 2 мыши в каждой. Каждой паре вводили одну дозу исследуемого вещества в порядке возрастания. Полученные результаты записывали в виде последовательности реакций (например, 0112). Эти данные вводили в таблицу, в которой на пересечении данной строки с колонкой, где указана наименьшая из использованных доз, находили ЛД<sub>50</sub> и ее среднюю ошибку.

### **2.11.2 Изучение противовоспалительной активности**

Определение противовоспалительной активности персика обыкновенного листьев экстракта густого проводили на крысах массой 230-280 г, обоего пола (группа включала 6 животных) на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% водного раствора каррагинина. Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически до введения и через 3 часа после введения раствора каррагинина. Исследуемые вещества вводили перорально в дозе 50 мг/кг за 1 ч до введения флогогенного агента. Контролем служили животные, не

получавшие препарата. Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента [165].

### 2.11.3 Изучение антиоксидантной активности

Определение антиоксидантной активности персика обыкновенного листьев экстракта густого проводили спектрофотометрическим методом. К 2 мл раствора ДФПГ в спирте этиловом 95%, с концентрацией 5 мг/100 мл, добавляли 1 мл раствора с различной концентрацией персика обыкновенного листьев экстракта густого. Оптическую плотность полученных растворов измеряли через 30 минут. Измерения проводили на спектрофотометре СФ 2000 при длине волны 517 нм. В качестве контроля использовали раствор, состоящий из 2 мл ДФПГ и 1 мл воды. Далее вычисляли антиоксидантную активность, поглощение радикала по формуле (4):

$$AOA(\%) = \frac{A_{\text{контроля}} - A_{\text{образца}}}{A_{\text{контроля}}} * 100 \quad (4), \text{ где}$$

АОА - антиоксидантная активность;

$A_{\text{контроля}}$  - оптическая плотность контрольного раствора;

$A_{\text{образца}}$  - оптическая плотность испытуемого раствора

$IC_{50}$  – показатель, определяющий количество исследуемого вещества, необходимое для 50% дегградации радикала ДФПГ [166].

### 2.12 Отбор проб для анализа

Отбор проб для товароведческого анализа персика обыкновенного листьев и экстракта густого проводили в соответствии с ОФС 1.1.0005.15 «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов [151].

### 2.13 Определение микробиологической чистоты

Определение микробиологической чистоты проводили согласно ГФ XIV, ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота» [151].

### **2.14 Определение срока годности**

Определение сроков годности персика обыкновенного листьев экстракта густого проводили согласно статье ГФ XIV, ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» [151].

С целью установления сроков годности персика обыкновенного листьев экстракта густого при температуре  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  (санитарный холод) было изготовлено и заложено на хранение 5 серий экстракта густого (001, 002, 003, 004, 005).

Экстракт густой расфасовывали в банки из стекломассы с винтовой горловиной оранжевого стекла, укупоривали пробками полиэтиленовыми и крышками пластмассовыми навинчиваемыми.

Определение сроков годности проводили путем контроля качественных и количественных показателей экстракта густого при хранении при температуре  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  в соответствии с требованиями ГФ XIV издания, ОФС.1.1.0009.18 «Стабильность и сроки годности лекарственных средств» [151].

### **2.15 Статистическая обработка результатов эксперимента**

Статистическую обработку всех экспериментальных данных проводили согласно ГФ XIV издания, ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента», при помощи критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при вероятности 95% ( $p\leq 0,05$ ) [151].

### **2.16 Валидация методики количественного определения флавоноидов**

Валидацию методики проводили экспериментально оценивая линейность, правильность, повторяемость, точность, прецизионность в соответствии с требованиями ГФ 14 ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [151].

### **ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО ЛИСТЬЕВ**

В качестве одного из безусловно важных аспектов стандартизации всех видов сырья можно выделить проведение оценки подлинности и уровня качества с использованием морфологического и анатомического исследования.

Вследствие потребности в выявлении случайных примесей или преднамеренной фальсификации сырья данный диагностический метод в особенности важен для фармацевтического анализа.

В Российской Федерации и за рубежом отсутствует нормативная документация на персика обыкновенного листа, что создает препятствия для разработки современных импортозамещающих препаратов с использованием данного растительного сырья.

Перспективы внедрения в медицинскую и фармацевтическую практическую деятельность персика обыкновенного листьев, как нового лекарственного вида сырья, создает потенциальную возможность многоаспектного использования сырьевых ресурсов Российской Федерации.

Для того, чтобы внедрить новый вид сырья в практическую фармацию, необходимо провести исследования по разработке нормативной документации, в том числе одного из важнейших разделов «Микроскопия» [151, 167, 168].

#### **3.1 Морфолого-анатомическое исследование персика обыкновенного листьев**

Для разработки нормативной документации: проекта ФС «Персика обыкновенного листа» необходимо определение показателей подлинности сырья по морфологическим и анатомическим признакам.

*Морфологические признаки персика обыкновенного листьев:* Сырье представлено простыми листьями, продолговато-ланцетовидной формы, с перистым жилкованием, край листа - пильчатый. С верхней стороны листа

зеленые, с нижней стороны – светло-зеленые, голые. Вкус водного извлечения горьковато-вяжущий [169].

*Анатомические признаки персика обыкновенного листьев:* Изучение микро-диагностических признаков проводили на временных микропрепаратах, с последующей микрофотосъемкой. Нами установлена совокупность признаков, позволяющая проводить диагностику сырья.

При рассмотрении препарата поверхности листа персика видны клетки эпидермиса с прямыми стенками, как с верхней, так и с нижней стороны, кутикула складчатая (рисунок 2). Устьица расположены преимущественно с нижней стороны листа, окружены двумя околоустьичными клетками, расположенными параллельно устьичной щели (парацитный тип) (рисунок 3). По краю листа расположены простые одно-, двухклеточные волоски, покрытые толстым слоем кутикулы (рисунок 4). С нижней стороны листа по жилкам встречаются простые тонкостенные одноклеточные волоски (рисунок 5). В мезофилле содержатся одиночные призматические кристаллы оксалата кальция и многочисленные друзы, расположенные преимущественно по жилкам (рисунок 6,7).

По строению мезофилла лист дорсовентральный (рисунок 8). Главная жилка (рисунок 9) включает в себя закрытый коллатеральный пучок. Под эпидермой в районе главной жилки расположена рыхлая колленхима. Ассимиляционная ткань, окружающая главную жилку содержит большое количество друз оксалата кальция [169, 170].



Рисунок 2. Эпидермис листа со складчатой кутикулой (640х).

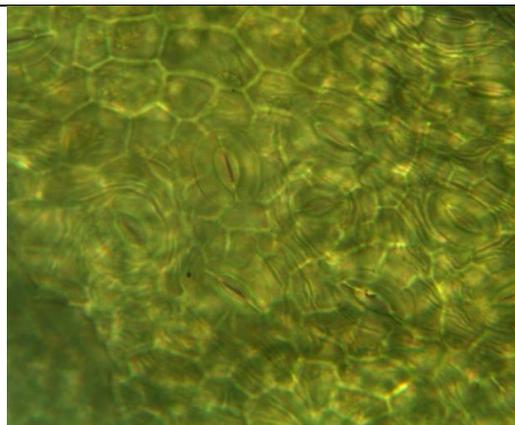


Рисунок 3. Парацитный тип устьичного аппарата (640х).



Рисунок 4. Простой толстостенный волосок по краю листа (640х).

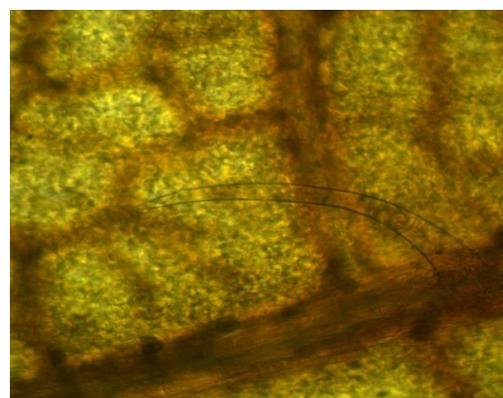


Рисунок 5. Тонкостенный волосок по жилке (160х).

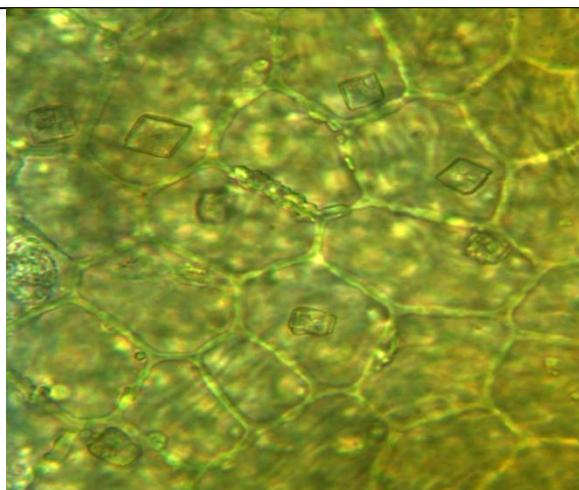


Рисунок 6. Кристаллы оксалата кальция (640х).

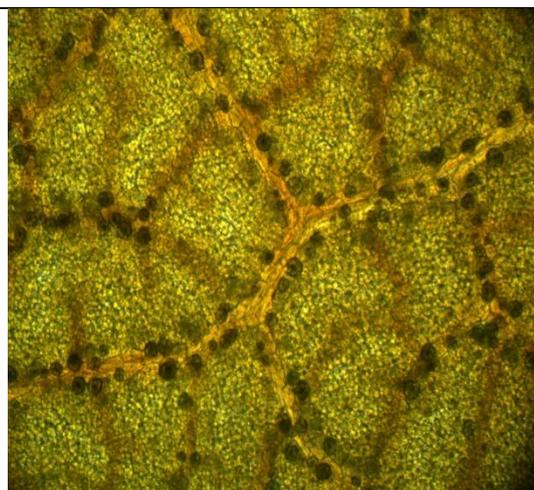
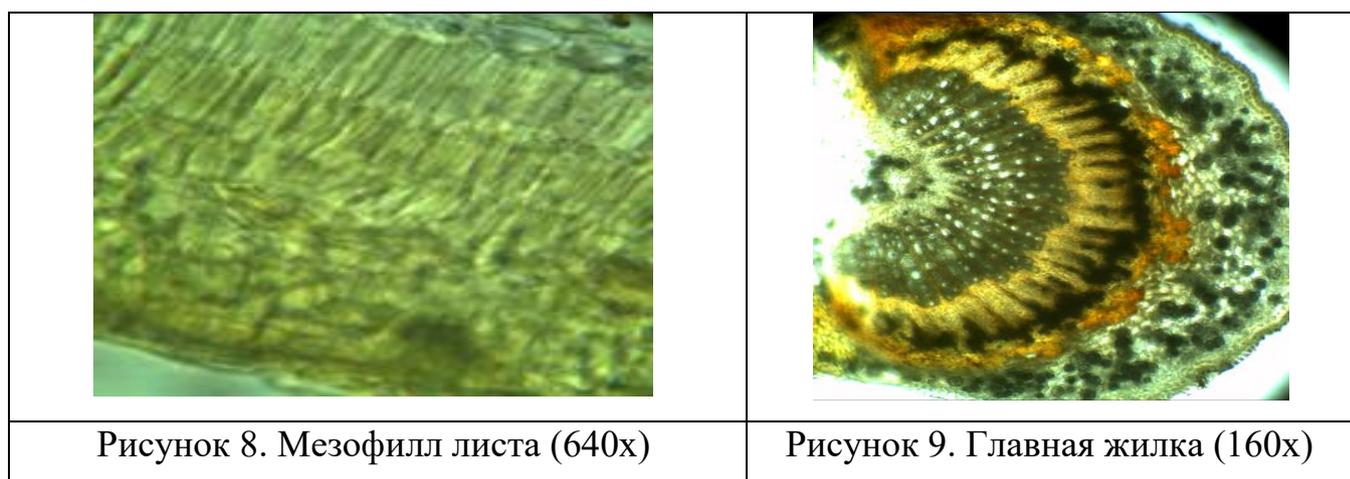


Рисунок 7. Друзы оксалата кальция (160х).



### 3.2 Методы испытания (числовые показатели) персика обыкновенного листьев

Испытания проводили на пяти образцах сырья персика обыкновенного [151].

Определение показателей проводили в трехкратной повторности. Результаты представлены в таблицах 3-4.

Таблица 3 - Числовые показатели персика обыкновенного листьев (цельное сырьё)

№	Влажность, %	Зола общая, %	Зола нерастворимая в 10% соляной кислоте, %	Частицы проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, %	Органической примеси, %	Минеральной примеси, %	Побуревших частей растения, %
1	2	3	4	5	6	7	8
1	7,1	7,4	4,5	3,2	0,5	-	0,2
2	7,5	7,4	2,9	5,0	0,3	0,01	0,3

Продолжение таблицы 3							
1	2	3	4	5	6	7	8
3	6,9	7,1	3,8	4,5	0,15	-	0,5
4	7,8	7,2	5,0	3,9	0,7	-	0,5
5	7,8	7,0	4,9	2,8	0,35	-	0,8
ср.	7,4±0,5	7,2±0,2	4,2±1,0	3,88±1,12	0,4±0,26	0,01	0,46 ±0,29

Таблица 4 - Числовые показатели персика обыкновенного листьев (измельченное сырьё)

№	Влаж- ность %	Зола общая, %	Зола не раство- римая в 10% соляной кислоте, %	Частицы не прохо- дящие сквозь сито с отверс- тиями диаметром 7 мм, %	Частицы прохо- дящие сквозь сито с отверс- тиями диаметром 0,5 мм, %	Органи - ческой примеси %	Минера- льной примеси %	Побу- ревших частей растения, %
1	7,7	7,3	4,1	4,8	3,5	0,8	-	1,1
2	6,8	7,0	4,0	3,9	4,1	0,1	-	0,8
3	7,1	7,1	2,9	4,5	2,8	0,15	-	0,4
4	7,8	7,3	5,0	3,7	4,2	0,2	-	0,5
5	7,8	7,4	4,9	5,0	4,9	0,7	-	0,9
Ср.	7,44±0,57	7,22±0,2	4,18±1,0	4,38±0,7	3,9±1,0	0,39±0,41	-	0,74±0,36

### 3.3 Исследование дубильных веществ в персике обыкновенном листьях

#### *Качественный анализ дубильных веществ в сырье*

В соответствии с методиками, описанными в главе 2, п. 2.5.

- 1) Реакция с 1% раствором желатина в 10% растворе натрия хлорида. Эффект реакции – хлопьевидный осадок, растворимый при добавлении избытка желатина.
- 2) Реакция с бромной водой. Эффект реакции – оранжевый осадок.
- 3) Проба Стиасни (40%-ный раствор формальдегида с концентрированной хлористоводородной кислотой). Эффект реакции – осадок кирпично-красного цвета.
- 4) С 1%-ным раствором железоаммониевых квасцов. Эффект реакции – черно-синее окрашивание.

#### *Количественное содержание дубильных веществ в сырье*

Количественное содержание дубильных веществ определяли методом 1, согласно ГФ РФ XIV издания, ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Всего было проанализировано пять образцов сырья. Результаты количественного определения представлены в таблице 5. Метрологические характеристики методики количественного определения дубильных веществ в сырье *Persica vulgaris* в пересчете на танин представлены в таблице 6.

Таблица 5 - Содержание дубильных веществ в пересчете на танин в персике обыкновенном листьях

Образец	Содержание дубильных веществ в пересчете на танин
1	2
№ 1	1,82 %
№ 2	1,78 %
№ 3	1,82 %

Продолжение таблицы 5	
1	2
№ 4	1,75 %
№ 5	1,90 %

Таблица 6 – Метрологические характеристики методики количественного определения дубильных веществ в сырье *Persica vulgaris* в пересчете на танин.

ЛРС	n	f	х <sub>ср.</sub> , %	S <sup>2</sup>	S	P, %	T (P, f)	ΔX	E, %
Персика обыкновенного листья	5	4	1,82	0,00307	0,05541	95	2,78	0,15	8,24

Из данных таблицы 6 видно, что содержание дубильных веществ, в пересчете на танины, в персике обыкновенном листьях составило 1,82 % ± 0,069.

### 3.4 Исследование каротиноидов в персике обыкновенном листьях

#### *Качественное содержание каротиноидов в сырье*

В соответствии с методикой, описанной в главе 2, п. 2.6.

Для обнаружения каротиноидов использовали тонкослойную хроматографию на силикагеле. В качестве проявителя использовали 10% раствором фосфорно-молибденовой кислоты в этиловом спирте, концентрация спирта - 60 %. На желто-зеленом фоне проявлялись каротиноиды синего цвета (рисунок 10).

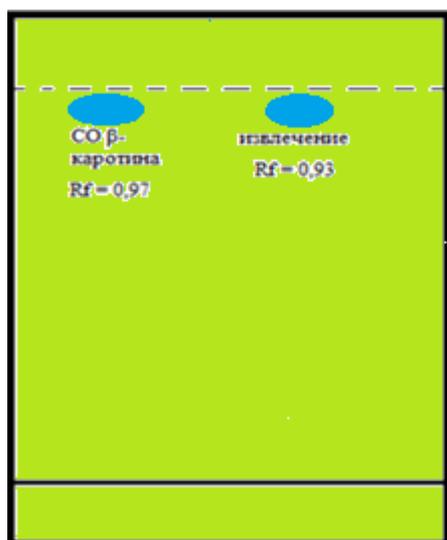


Рисунок 10. ТСХ: качественное обнаружение каротиноидов в персике обыкновенном листьях

### *Количественное содержание каротиноидов в сырье*

Количественное определение каротиноидов проводили спектрофотометрическим методом, согласно ГФ РФ XIV издания, ФС.2.5.0106.18, «Шиповника плоды». Результаты количественного определения представлены в таблице 7. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания каротиноидов в сырье персика обыкновенного представлены в таблице 8.

Таблица 7 - Содержание каротиноидов, в пересчете на β-каротин, в персике обыкновенном листьях

Образец	Содержание каротиноидов, в пересчете на β-каротин
№ 1	0,088 %
№ 2	0,090 %
№ 3	0,085 %
№ 4	0,080 %
№ 5	0,092 %

Таблица 8 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания каротиноидов в сырье персика обыкновенного

ЛРС	n	f	$x_{\text{ср.}}$ , %	$S^2$	S	P, %	T (P, f)	$\Delta X$	E, %
Персика обыкновенного листья	5	4	0,087	0,00002	0,00469	95	2,78	0,013	14,98

Из данных таблицы 8 видно, что содержание каротиноидов, в пересчете на  $\beta$ -каротин, в персика обыкновенного листьях составило 0,087 %  $\pm$  0,006.

### 3.5. Исследование аскорбиновой кислоты (витамина С) в персике обыкновенном листьях

#### *Качественное содержание аскорбиновой кислоты в сырье*

В соответствии с методиками, описанными в главе 2, п. 2.7.

1) *Реакция с нитратом серебра.* Наблюдается образование осадка металлического серебра.

2) *Реакция с раствором йода.* Наблюдается обесцвечивание раствора йода.

#### *Количественное содержание аскорбиновой кислоты в сырье*

Количественное определение аскорбиновой кислоты проводили титриметрическим методом согласно ГФ РФ XIV издания, ФС.2.5.0106.18, «Шиповника плоды». Результаты количественного определения представлены в таблице 9. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания аскорбиновой кислоты в сырье персика обыкновенного представлены в таблице 10.

Таблица 9 - Содержание аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьях

Образец	Содержание аскорбиновой кислоты
№ 1	0,018 %
№ 2	0,020 %
№ 3	0,017 %
№ 4	0,021 %
№ 5	0,017 %

Таблица 10 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания аскорбиновой кислоты в сырье персика обыкновенного

ЛРС	n	f	$\bar{x}$ , %	$S^2$	S	P, %	T (P, f)	$\Delta X$	E, %
Персика обыкновенного листья	5	4	0,018	0,0000033	0,00182	95	2,78	0,005	28,1

Из данных таблицы 10 видно, что содержание аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьях составило  $0,018\% \pm 0,002$ .

### 3.6 Исследование элементного состава

Микроэлементы являются составной частью любого растительного и животного организма. Микроэлементы жизненно необходимы растению в достаточных количествах, поскольку без них не могут протекать основные физиолого-биохимические реакции растения.

В животном организме и организме человека недостаточное поступление микроэлементов с пищей может вызывать микроэлементозы. Поэтому изучение содержания микроэлементов в персике обыкновенном листьях является актуальной задачей исследования.

Исследование проводили на образцах персика обыкновенного листьев.

Результаты исследования представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Содержания микро- и макроэлементов в персике обыкновенном листьях

<b>Элемент</b>	<b>Содержание мкг/кг</b>
Cu	249,0
Zn	371,0
Na	34000,0
Mg	10590,0
Al	7780,0
Si	1548,0
P	15090,0
S	7843,0
K	578000,0
Ca	335000,0
Ti	759,0
Cr	-
Mn	2240,0
Fe	5899,0
Co	-
Ni	37,0
Pb	12,0
Mo	29,0
Sn	27,0
Ba	120,0

Наибольшее содержание, среди элементов в персике обыкновенном листьях приходится на калий и кальций (Таблица 11). Свинец, стронций и молибден содержатся в количествах, не превышающих значения ПДК, установленных

ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», Техническим регламентом Таможенного Союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

Ряд биологического поглощения элементов выглядит следующим образом:

K>Ca>Na>P>Mg>S>Al>Fe>Mn>Si>Ti>Zn>Cu>Ba>Ni>Mo>Sn>Pb [171].

### **3.7 Исследование флавоноидов в персике обыкновенном листьях**

#### **3.7.1 Качественное определение флавоноидов в сырье**

В соответствии с методикой, описанной в главе 2, п. 2.9.1.

##### **3.7.1.1 Качественные реакции**

1) *Цианидиновая реакция (проба Синода)*. Эффект реакции – малиновое окрашивание.

2) *Цианидиновая реакция по Брианту*. Эффект реакции – окрасились оба слоя.

3) *Реакция с 2%-ым раствором алюминия (III) хлорида*. Эффект реакции – желтое окрашивание.

4) *Реакция с раствором натрия гидроксида 10%*. Эффект реакции – желто-коричневое окрашивание.

Присутствие флавоноидов в сырье *персика обыкновенного* подтверждали также методом восходящей бумажной хроматографии (рисунок 11).

##### **3.7.1.2 Бумажная хроматография персика обыкновенного листьев**

В качестве стандартных образцов использовали ГСО рутина, ГСО апигенина, ГСО кверцетина, ГСО цинарозида, ГСО кемпферола.

В результате анализа установлено наличие флавоноидов с голубой, коричневой и темно-зеленой флуоресценцией и значениями Rf, совпадающими с кверцетином, апигенином и рутином, кемпферолом (рисунок 11).

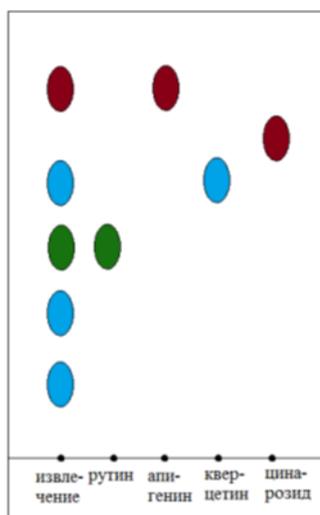


Рисунок 11. Восходящая бумажная хроматография: качественное определение флавоноидов в персика обыкновенного листьях.

### 3.7.2 Количественное определение флавоноидов в сырье

Для определения количественного содержания флавоноидов в сырье персика обыкновенного использовали дифференциальный спектрофотометрический метод, так как он является экспрессным, высокочувствительным и точным (ошибка 2,5-5%).

#### 3.7.2.1 Выбор аналитической длины волны

Измерение оптической плотности проводили в интервале длин волн от 350 нм до 430 нм.

Для определения аналитической длины волны были изучены УФ-спектры спиртовых извлечений сырья персика обыкновенного и Государственного стандартного образца (ГСО) рутина (таблица 12).

Таблица 12 - Спектральные характеристики ( $\lambda_{max}$ ) извлечений в УФ области

Условия определения	Длина волны, нм
Спиртовое извлечение из персика обыкновенного листьев	364 нм
Дифференциальный спектр спиртового извлечения из персика обыкновенного листьев с 2% раствором алюминия хлорида	409 нм
Спектр спиртового раствора ГСО рутина с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида	410 нм

Результаты исследования показали, что собственный спектр спиртового извлечения из персика обыкновенного листьев имеет максимум при длине волны 364 нм (рисунок 12). Дифференциальный спектр того же извлечения с алюминия хлоридом имеет максимум при длине волны 409 нм (рисунок 13). Максимум в этом интервале характерен для ГСО рутина в присутствии алюминия хлорида, при длине волны 410 нм (рисунок 14). Это дает возможность использовать длину волны 410 нм в качестве аналитической.

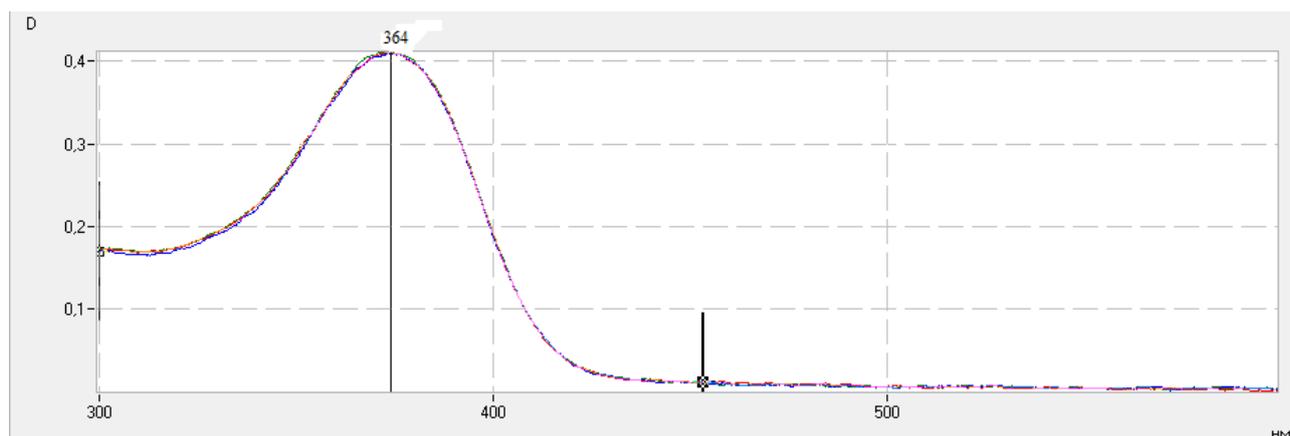


Рисунок 12. Собственный спектр спиртового извлечения из персика обыкновенного листьев

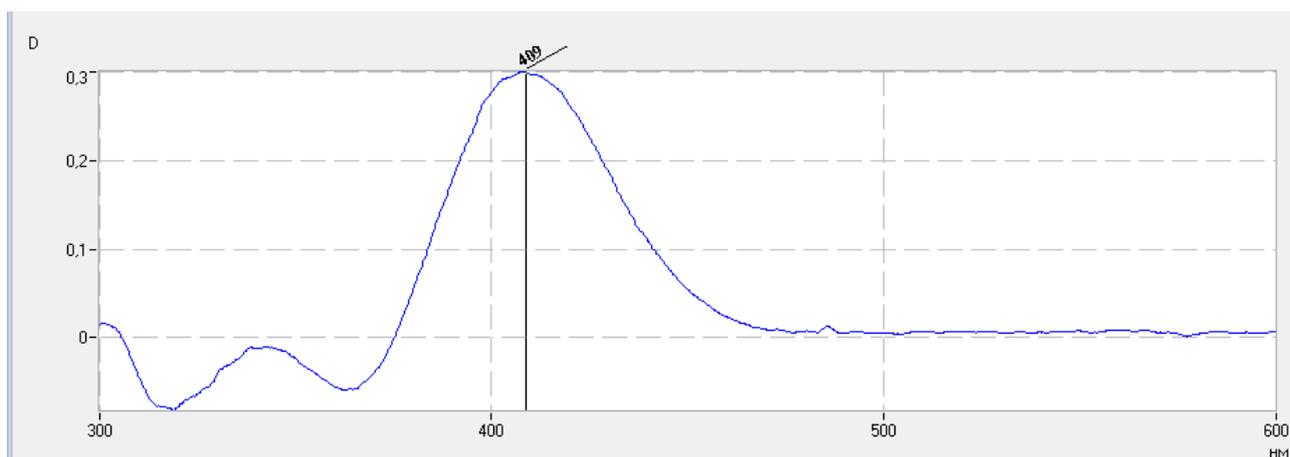


Рисунок 13. Дифференциальный спектр поглощения спиртового извлечения из персика обыкновенного листьев с раствором алюминия хлорида

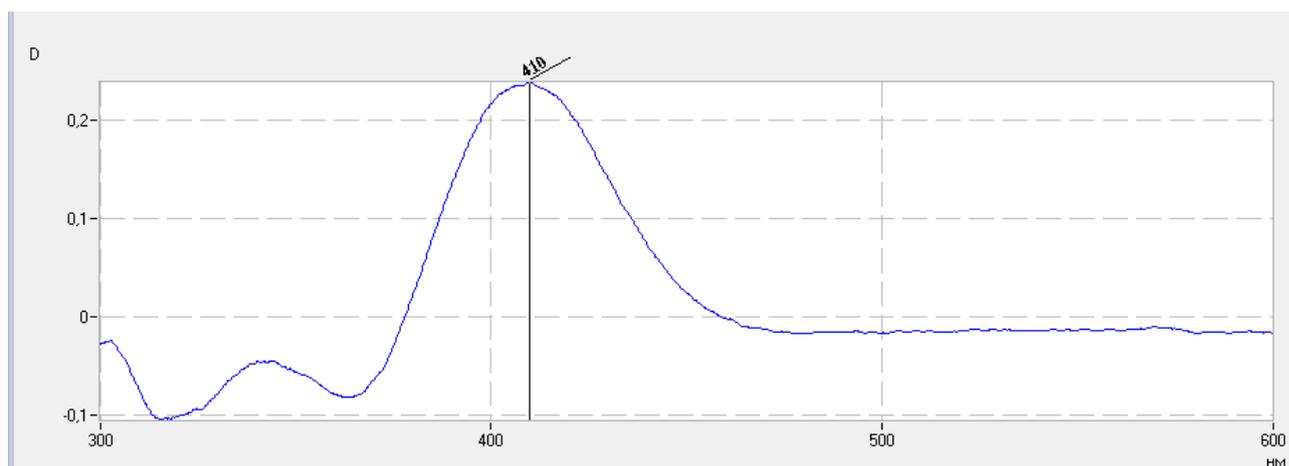


Рисунок 14. Дифференциальный спектр поглощения ГСО рутина в присутствии алюминия хлорида

В дальнейшем расчет суммы флавоноидов в персике обыкновенном листьях проводили в пересчете на оптическую плотность ГСО рутина [173].

### 3.7.2.2 Изучение условий реакции комплексообразования

#### *Выбор оптимального соотношения извлечения и хромогенного реактива*

Для определения полноты протекания реакции и устойчивости комплекса флавоноидов с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида проведен анализ спиртовых извлечений с различными вариантами соотношений: извлечение – хромогенный реактив.

При проведении спектрофотометрических определений, согласно ГФ XIV, ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях», величина оптической плотности должна быть в пределах от 0,2 до 0,8.

Для максимального образования определяемого комплекса флавоноидов необходим достаточный избыток реактива, что обеспечивает устойчивость комплекса. Варианты исследованных соотношений представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Зависимость оптической плотности от соотношения извлечения (раствор А) и алюминия хлорида

№ п/п	Соотношение извлечения и реактива	Оптическая плотность, D	Содержание флавоноидов, %
1.	1:1	0,3001	1,81
2.	1:2	0,2905	1,75
3.	1:3	0,3054	1,84
4.	2:2	0,6393	3,86
5.	2:3	0,3419	2,06
6.	2:4	0,3736	2,25
7.	2:5	0,3982	2,40

Анализ показал, что оптимальным соотношением объема раствора А и 2% раствора алюминия хлорида является соотношение 2:2, при котором наблюдается максимальная плотность и наибольшее содержание суммы флавоноидов.

### **3.7.2.3 Изучение устойчивости комплекса флавоноидов с хромогенными реактивами**

При проведении спектрофотометрических измерений необходимо учитывать, что образование хелатных комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом протекает во времени. Полное прохождение этой реакции характеризуется устойчивостью фотометрируемого раствора по величине оптической плотности в

течение определенного времени. Это время устойчивости комплекса. Его практическое значение важно при проведении нескольких анализов одновременно или при необходимости их повторения.

Для проведения этого анализа измеряли величину оптической плотности фотометрируемого раствора через каждые 10 минут в течение 2-х часов с момента получения комплекса. Стабильность комплекса суммы флавоноидов с 2 % спиртовым раствором алюминия хлорида наблюдается через 10 минут после начала реакции и сохраняется в течение 1,5 часов (рисунок 15).

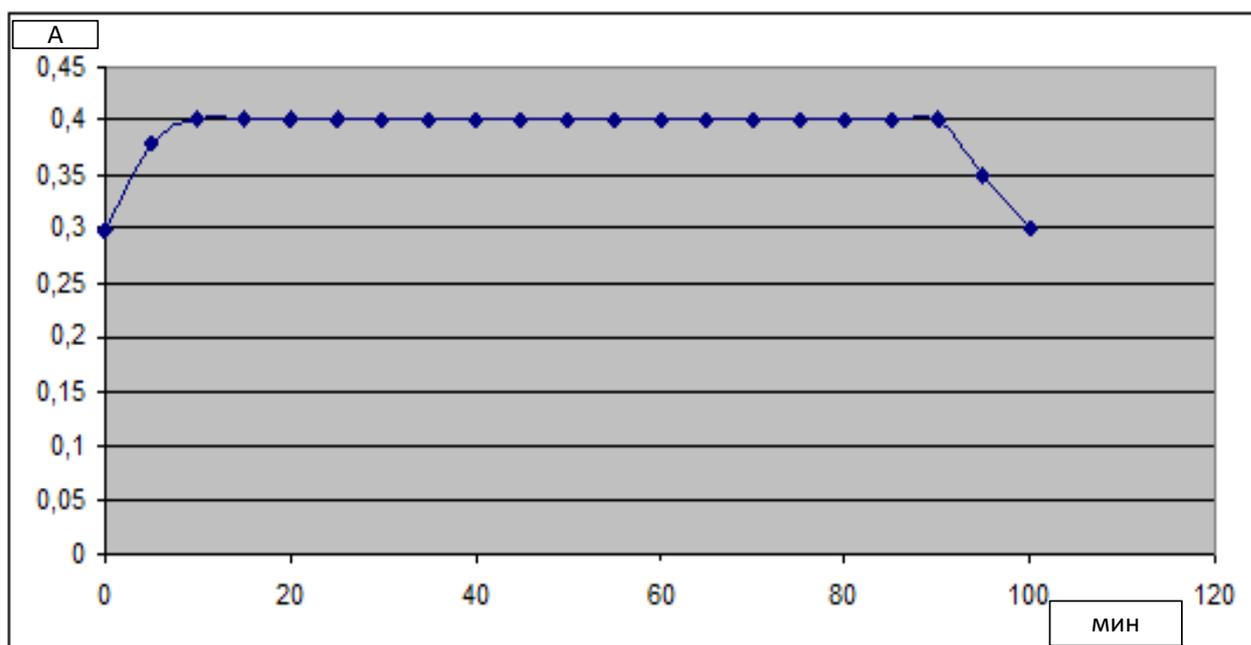


Рисунок 15. Устойчивость комплекса флавоноидов с алюминия хлоридом во времени

#### 3.7.2.4 Методика количественного определения суммы флавоноидов в персике обыкновенном листьях

На основании полученных результатов нами предложена методика количественного определения суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в персика обыкновенного листьях.

*Методика:*

аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм. Около 1 г (точная навеска)

измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл и добавляют 50 мл 70 % этилового спирта. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попали на фильтр. Вату помещают в колбу для экстрагирования и прибавляют еще 50 мл 70 % этилового спирта. Проводят повторную экстракцию. Горячее извлечение фильтруют в ту же мерную колбу через бумажный фильтр. После охлаждения фильтр промывают 70% этиловым спиртом, доводят объем извлечения до метки и перемешивают (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, прибавляют 2 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% этиловом спирте, 1 каплю разведенной уксусной кислоты и доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют следующий раствор: 2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 каплю разведенной уксусной кислоты и доводят объем раствора 95% этиловым спиртом до метки.

Содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин – стандарт на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле (5):

$$\frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - W) \cdot 2}, \text{ где} \quad (5)$$

A – оптическая плотность исследуемого раствора;

$m_0$  – масса ГСО рутина в граммах;

$A_0$  – оптическая плотность раствора ГСО рутина;

m – масса сырья в граммах;

W – потеря в массе при высушивании сырья в %.

**Примечание.** Приготовление раствора ГСО рутина: около 0,05 г (точная навеска) ГСО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135<sup>0</sup>С в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А ГСО рутина).

К 1,0 мл раствора А ГСО рутина добавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, доводят 96% спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл, перемешивают [172].

По данной методике было проанализировано пять партий сырья. Результаты исследования приведены в таблице 14. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в сырье персика обыкновенного приведены в таблице 15.

Таблица 14 - Содержание флавоноидов, в пересчете на рутин, в персике обыкновенном листьях

Образец	Содержание флавоноидов, в пересчете на рутин
№ 1	1,78 %
№ 2	1,82 %
№ 3	1,69 %
№ 4	1,85 %
№ 5	1,77 %

Таблица 15 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в сырье персика обыкновенного

ЛРС	n	f	$\bar{x}_{cp.}$ %	$S^2$	S	P, %	T (P, f)	$\Delta X$	E, %
Персика обыкновенного листья	5	4	1,78	0,00367	0,06058	95	2,78	0,17	9,46

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в сырье персика обыкновенного составило 1,78 %  $\pm 0,075$ .

### **3.8 Валидационная характеристика методики количественного определения флавоноидов в персике обыкновенном листьях**

#### **3.8.1 Определение линейности методики**

Определение линейности проводили на пяти уровнях концентраций от теоретического содержания суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в сырье персика обыкновенного. Растворы готовили путем разбавления аликвоты и увеличения аликвоты для измерения количественного содержания суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в растворах, имеющих концентрацию 50,75,100,125,150%.

За 100% нами был принят раствор, полученный по методике количественного определения флавоноидов, приведенной в п. 3.7.2.4. Растворы с концентрацией 50, 75, 100, 125,150 % были получены путем добавления в колбы на 25 мл 1; 1,5; 2; 2,5 и 3 мл 70% спиртового извлечения из листьев персика обыкновенного и 1; 1,5; 2; 2,5 и 3 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и капли раствора уксусной кислоты соответственно и доведения до метки 95% этиловым спиртом.

Через 10 минут измеряли оптическую плотность растворов на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Далее, по формуле, приведенной в п. 3.7.2.4, рассчитали содержание флавоноидов в процентах и произвели перерасчет на содержание рутина в сырье.

Линейность методики отражает пропорциональность увеличения оптической плотности при возрастании количества флавоноидов в анализируемых образцах персика обыкновенного листьев. С целью проверки подчинения поглощения окрашенных продуктов закону Бугера-Ламберта-Бера измеряли оптическую плотность на 5 уровнях концентраций: 50, 75, 100, 125, 150% (таблица 16).

Таблица 16 - Параметры линейности методики

№ п/п	Уровень концентрации, %	Концентрация флавоноидов, мг	Оптическая плотность
1	50	10,61	0,3500
2	75	16,70	0,5524
3	100	24,55	0,8149
4	125	35,20	1,1669
5	150	41,65	1,3816

Коэффициент корреляции линейного регрессионного графика составил 1,0; уравнение регрессии  $y = ax + b$ , при  $b = 0,065$ ,  $a = 30,096$ . На основании полученных данных можно утверждать, что соблюдается линейная зависимость между величинами оптической плотности и содержанием флавоноидов в извлечениях из персика обыкновенного листьев в интервале 50 – 150% от номинального значения определяемой величины (рисунок 16). Этот интервал определяет аналитическую область методики.

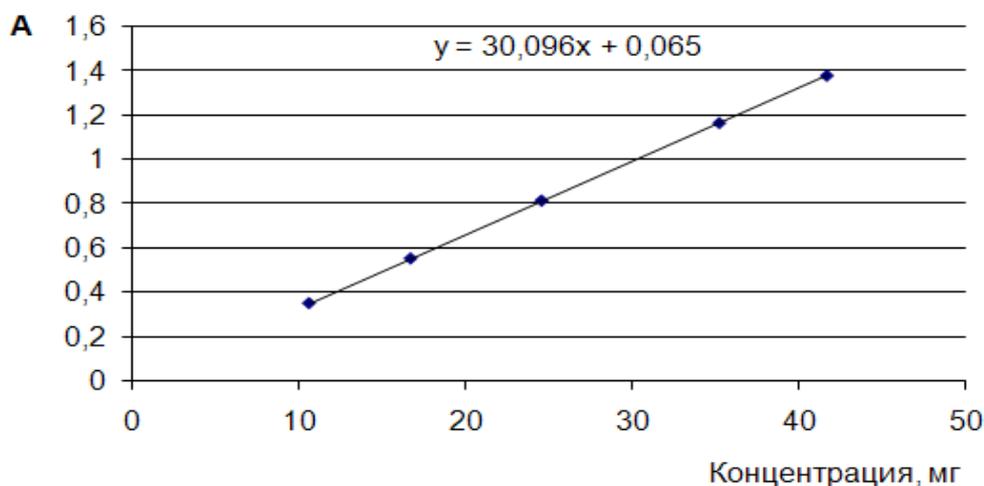


Рисунок 16. График линейности методики количественного определения суммы флавоноидов в персике обыкновенном листьях

Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99. Расчет коэффициента корреляции проводили с помощью программы STAT (рисунок 17)

Параметр	X	Y	Критерии
Введено чисел	5	5	$f = nx + ny - 2 = 8$
Среднее арифметическое	0.85316	25.74200	t экс = 4.3478
Ошибка среднего	0.52784	15.88604	t крит = 2.3062
Дисперсия	0.18069	163.66857	F экс = 905.7826
Стандартное отклонение	0.42508	12.79330	F крит = 6.3884
Сред. кв. откл. среднего	0.19010	5.72134	
Коэффициент корреляции	$r = 1.000$	t экс = 962.118	t крит = 3.18
Уравнение $y = ax + b$	$a = 30.096$	$b = 0.065$	
Ошибки коэффициентов	$da = 0.100$	$db = 0.093$	
Уравнение $x = cy + d$	$c = 0.033$	$d = -0.002$	
Ошибки коэффициентов	$dc = 0.000$	$dd = 0.003$	

Коэффициент корреляции значим !  
 Ген. дисперсии не равны.  
 Ген. средние различны.  
 ( для  $p = 0.05$  )

Esc – редактировать старые; Enter – вводить новые; Alt X – выход

Рисунок 17. Расчет коэффициента корреляции. Окно программы STAT

Как видно из рисунка 17, коэффициент корреляции составил 1,000.

На основании полученных данных (таблица 16) можно утверждать, что соблюдается линейная зависимость (рисунок 16) между величинами оптической плотности и содержанием флавоноидов в извлечениях из персика обыкновенного листьев в интервале концентраций 50 – 150% от номинального значения определяемой величины. Этот интервал определяет аналитическую область методики [172].

### 3.8.2 Определение прецизионности методики

#### 3.8.2.1 Определение повторяемости методики

Повторяемость методики определяли на одном образце сырья в шестикратной повторности. Критерий приемлемости выражался величиной относительного

стандартного отклонения RSD (величина **RSD** - это мера того, насколько широко разбросаны точки данных относительно их среднего), которое не должно превышать 10%.

На основании полученных данных и произведенных расчетов была составлена таблица 17.

Таблица 17 - Определение повторяемости разработанной методики

Повторность	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в листьях персика обыкновенного, %
1	0,7146
2	0,7513
3	0,7443
4	0,7804
5	0,7254
6	0,7492
Среднее значение	0,7442
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	3,09 %

Величину относительного стандартного отклонения (RSD, %) рассчитывали по формуле (6):

$$RSD = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - M)^2}{n - 1}}}{M}, \quad (6)$$

где n- количество измерений

$X_i$ - результаты, полученные при каждом конкретном измерении

M – среднее значение, которое рассчитывается по формуле (7):

$$M = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}, \quad (7)$$

Величина RSD составила 0,023%, что не превышает допустимые 10% и свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

### 3.8.2.2 Определение межлабораторной прецизионности

Межлабораторную прецизионность методики определяли на трех образцах сырья в трехкратной повторности на двух спектрофотометрах марки «СФ-2000». Методика и формула расчета соответствуют приведенным ранее. Результаты отражены в таблице (таблица 18).

Таблица 18 - Результаты определения межлабораторной прецизионности

№ образца	Повторность	Содержание флавоноидов, %	
		3	4
1		СФ-2000	СФ-2000
	1	3,89	3,50
	2	3,74	3,78
	3	3,64	3,62
	Среднее $\bar{X}$	3,83	3,63
	Относительное стандартное отклонение (RSD), % при $f=2$	4,04	3,87
2	1	3,96	3,80
	2	3,87	3,62
	3	3,65	3,98
	Среднее $\bar{X}$	3,83	3,80
	Относительное стандартное отклонение (RSD), % при $f=2$	4,16	4,7

Продолжение таблицы 18			
1	2	3	4
3	1	3,05	2,96
	2	2,86	2,78
	3	3,10	3,06
	Среднее $\bar{X}$	3,00	2,93
	Относительное стандартное отклонение (RSD), % при $f=2$	4,23	4,85

Таким образом, результаты определения подтверждают прецизионность методики в условиях межлабораторной воспроизводимости, так как относительное стандартное отклонение не превысило 15% [172].

### 3.8.3 Определение правильности методики

Отсутствие систематической ошибки определяли методом добавок различных концентраций раствора ГСО рутина непосредственно в извлечение из персика обыкновенного листьев. Результаты показали, что ошибка анализа находится в пределах ошибки единичного определения. Это свидетельствует об отсутствии систематической ошибки разработанной методики (таблица 19).

Таблица 19 - Результаты количественного определения суммы флавоноидов в листьях персика обыкновенного с использованием метода добавок ГСО рутина

Содержание флавоноидов, мг				Ошибка, %
в извлече- нии	добавле- но ГСО рутина	ожидаемое теоретичес- ки	в извлечении при добавлении рутина (факт)	
24,55	0,05	24,60	24,63	0,55
	0,1	24,65	24,71	0,12
	0,15	24,75	24,87	1,1
26,21	0,05	26,26	26,33	0,49
	0,1	26,31	26,37	0,42
	0,15	26,36	26,47	0,76
25,36	0,05	25,41	25,54	0,94
	0,1	25,46	25,58	0,87
	0,15	25,51	25,67	1,15

Результаты показали, что ошибка анализа находится в пределах ошибки единичного определения (3,13%) (таблица 19). Это свидетельствует об отсутствии систематической ошибки разработанной методики [172].

#### 3.8.4 Расчет ошибки метода

Для расчета ошибки метода результаты исследования обработаны статистически, согласно ГФ XIV издания, ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [151].

Реакция комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом достаточно специфична и избирательна, сам спектрофотометрический метод анализа высокочувствителен и точен, относительная ошибка метода не должна превышать 3-5%.

Для определения относительной ошибки метода готовили серию исследуемых растворов и растворов сравнения в 10 – кратной повторности по методике, приведенной в п. 3.7.2.4.

Результаты статистической обработки полученных данных представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Статистическая обработка данных

<b>n</b>	<b>f</b>	<b>X</b>	<b>S<sup>2</sup></b>	<b>S</b>	<b>P,%</b>	<b>t(p,f)</b>	<b>ΔX</b>	<b>E, %</b>
10	9	3,67	0,0058	0,0240	95	2,26	0,115	3,13

Относительная ошибка единичного определения с вероятностью 95% составила ±3,13%.

### **ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3**

1. Установлены диагностические морфолого-анатомические признаки персика обыкновенного листьев, которые положены в основу проекта ФС «Персика обыкновенного листа».

2. Определены товароведческие показатели персика обыкновенного листьев, включенные в раздел «Испытания» проекта ФС «Персика обыкновенного листа»: влажность – не более 8,0%; зола общая - не более 7,5 %; зола не растворимая в растворе хлористоводородной кислоты - не более 5,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм (цельное сырье) - не более 5,0 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7мм (измельченное сырье) - не более 5,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм (измельченное сырье) - не более 5,0 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,18 мм (порошок) - не более 5,0 %.

3. Установлено наличие основных групп БАВ: флавоноидов, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, каротиноидов.

4. Разработана методика количественного определения флавоноидов в персика обыкновенного листьях на основе фармакопейной методики определения флавоноидов в зверобое траве, адаптированная для исследуемого сырья.

5. Определено количественное содержание: флавоноидов в персике обыкновенном листьях, которое составило  $1,78\% \pm 0,075$ , дубильных веществ -  $1,82\% \pm 0,069$ , аскорбиновой кислоты -  $0,018\% \pm 0,002$ , каротиноидов -  $0,087\% \pm 0,006$ .

6. Изучено содержание микро- и макроэлементного состава персика обыкновенного листьев, наибольшее содержание приходится на калий и кальций. Свинец, стронций и молибден содержатся в количествах, не превышающих значения ПДК, установленных ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», Техническим регламентом Таможенного Союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Определен ряд биологического поглощения микроэлементов:  $K > Ca > Na > P > Mg > S > Al > Fe > Mn > Si > Ti > Zn > Cu > Ba > Ni > Mo > Sn > Pb$ .

7. Проведена валидационная оценка методики количественного определения флавоноидов, экспериментально оценены линейность, правильность, межлабораторная повторяемость, прецизионность.

8. Определена относительная ошибка единичного определения с вероятностью 95%, которая составила  $\pm 3,13\%$ .

## ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ, СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО ЛИСТЬЕВ ЭКСТРАКТА ГУСТОГО

На первом этапе разработки технологии персика обыкновенного листьев экстракта густого проанализированы пять патентов Российской Федерации на лекарственные средства из персика обыкновенного листьев и способ их получения. Краткое описание технологий извлечений из персика обыкновенного листьев представлено ниже.

- *Патент № 2132197-1999 «Средство, обладающее противоопухолевым и иммуномодулирующим действием ("олексин")» [173]:*

Технология препарата "Олексин": сухое сырье - листья и цветки персика обыкновенного измельчают, закладывают в паровой котел и экстрагируют водой при температуре 95 -100° С в течение одного часа с момента закипания. Экстрагирование осуществляют несколькими порциями воды. Затем все вытяжки сливают и настаивают в течение 40 минут при температуре 95-100° С. Объединенную вытяжку подвергают очистке, фильтрованию и выпариванию. Недостатком данной технологии является высокая температура нагрева при экстракции растительного сырья и концентрировании извлечения, наличие балластных веществ в готовом продукте. В технологии не нормируется степень измельчения сырья и количественное содержание основных групп биологически активных веществ.

- *Патент № 2233668 - 2004 «Способ получения препарата фенольной природы [174]:*

Технология препарата фенольной природы следующая. Из растительного сырья (листья или цветки или листья и цветки персика или стебель, листья, корень, цветки или стебель, листья и цветки очанки). БАВ экстрагируют очищенной водой в соотношении 1:10-1:20 при 95-100°С не менее 1 часа. Полученный экстракт сливают. К оставшейся массе добавляют 20-60% воды от первоначального объема, повторно экстрагируют при тех же условиях, экстракты объединяют, концентрируют при нагревании до 95-100°С до уменьшения объема

экстракта не менее чем в 2 раза. Концентрат отстаивают при 0-10<sup>0</sup>С 24-48 часов, фильтруют, центрифугируют, отделяют неотфильтровавшийся осадок, повторно концентрируют путем выпаривания на кипящей водяной бане до получения концентрата не менее 10%. В процессе концентрирования ведут удаление балластных веществ с поверхности экстракта. Концентрат отстаивают не менее суток при 0-10<sup>0</sup>С, осадок отделяют, а конечный продукт консервируют этиловым спиртом. Недостатком данной технологии является высокая температура нагрева при экстракции и концентрировании. В данной технологии так же, как и в предыдущем патенте, не нормируется степень измельчения сырья и количественное содержание основных групп биологически активных веществ.

- *Патент № 2445113-2012 «Способ получения противовоспалительного и ранозаживляющего средства» [28]:*

Технология противовоспалительного и ранозаживляющего средства. Сырье (персика обыкновенного листа) подвергают экстракции в течение 24 часов методом перколяции или реперколяции с использованием в качестве экстрагента 96% этилового спирта с получением вытяжки, по весу в 10 раз превышающей массу исходного сырья. Затем вытяжку концентрируют путем щадящего упаривания при температуре 45-50<sup>0</sup>С и давлении 0,6-0,7 атм. до получения экстракта (концентрирование 1:20 по объему). В технологии данного препарата не нормируется степень измельчения сырья и количественное содержание БАВ.

- *Патент № 2604141-2016 «Способ получения препарата фенольной природы из растительного сырья» [175]:*

Технология препарата фенольной природы из растительного сырья: Подготовленное сырье укладывают в герметичную емкость, с возможностью нагрева, создания низкого вакуума и механического перемешивания, например, вакуумный экстрактор со встроенным миксером (далее - экстрактор). В качестве растительного сырья может использоваться древесная зелень (листья, молодые ветки и соцветия листьев) березы (род растений *Betula*), персика (род растений *Prunus*), облепихи (род растений *Hippophae*) и других лиственных растений и

трав. Экстракт может быть получен как из частей одного растения (березы, персика, облепихи и др.), так и в смеси из двух или нескольких растений.

Части растения перебирают, удаляют побуревшие, почерневшие листья, измельчают до размеров частиц от 5 до 10 мм. Экстракцию проводят в условиях вакуума 0,05-1,0 кгс/см<sup>2</sup>. Экстракционную массу в герметично закрывающейся емкости с перемешивающим устройством (экстракторе) нагревают до 30-80°C. Частота вращения перемешивающего устройства, например, миксера, 10-1000 оборотов в мин. Экстрагирование проводят в течение 10-45 мин при перемешивании. В данной технологии так же не нормируется количественное содержание основных групп биологически активных веществ.

- *Патент № 2627590 – 2017 «Способ получения биологически активной добавки к пище из растительного сырья» [176]:*

Технология биологически активной добавки к пище из растительного сырья: листья и/или цветки персика обыкновенного заливают очищенной водой в соотношении 1:10-1:20, проводят первичное экстрагирование при температуре 95-100°C. Полученный экстракт отделяют от растительной массы, полученный в конце способа концентрат консервируют. Согласно описания, при подготовке сырья из него удаляют некондиционные части, измельчают до частиц размером 1-40 мм. Экстрагирование проводят не менее 0,5 часа при перемешивании, после 1-го экстрагирования повторно проводят 2 экстрагирования при тех же условиях с добавлением к растительной массе воды очищенной в количестве 50-100% от первоначального объема, полученные экстракты объединяют и фильтруют. Экстракты концентрируют в условиях вакуума при температуре 60-90°C до уменьшения объема не менее чем в 3-4 раза, полученный первичный концентрат охлаждают и подвергают очистке путем отстаивания при температуре 0-6°C не менее 48 часов. Концентрат декантируют и фильтруют или центрифугируют, отделяя взвесь от балластных веществ, проводят вторичное концентрирование при температуре 60-90°C до уменьшения объема не менее чем в 1,5-2,5 раза, а для консервации используют кислоту сорбиновую или сорбат калия до содержания в экстракте не более 0,2%. Недостатком данной технологии является высокая

температура нагрева при экстракции и концентрировании, большой интервал степени измельчения сырья (1-40 мм), не нормируется количественное содержание основных групп биологически активных веществ.

Все предложенные средства являются жидкими экстрактами. Технологические параметры экстракции из персика обыкновенного листьев, представленные в патентах, обобщены в таблице 21.

Таблица 21 – Технологические параметры экстракции из персика обыкновенного листьев, представленные в патентах

<b>Патент</b>	<b>Параметры экстракции</b>
<b>1</b>	<b>2</b>
<p>№ 2132197-1999 «Средство, обладающее противоопухолевым и иммуномодулирующим действием ("олексин")»</p> <p><u>Авторы:</u>  Плешаков А.А.  Петров В.Ф.  Сафонова Г.М.  Перевозчиков А.Б.</p> <p><u>Опубликовано:</u>  1999.06.27</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Сырье - листья и цветки персика обыкновенного</li> <li>• Экстрагент – вода</li> <li>• Степень измельчения сырья – не определена</li> <li>• Температура экстракции – 95-100<sup>0</sup>С</li> <li>• Продолжительность экстракции – 1 час с момента закипания</li> <li>• Соотношение сырье:экстрагент - 1:10 – 1:20</li> </ul>

Продолжение таблицы 21	
1	2
<p>№ 2233668 - 2004 «Способ получения препарата фенольной природы из растительного сырья»</p> <p><u>Авторы:</u> Казьянин А.В. Сафонова Г.М.</p> <p><u>Опубликовано:</u> 2004.08.10</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Сырье - листья и цветки или листья или цветки персика</li> <li>• Экстрагент – вода</li> <li>• Степень измельчения сырья – не определена</li> <li>• Температура экстракции – 95-100°С</li> <li>• Продолжительность экстракции – не менее 1 часа</li> <li>• Соотношение сырье:экстрагент - 1:10 – 1:20</li> </ul>
<p>№ 2445113-2012 «Способ получения противовоспалительного и ранозаживляющего средства»</p> <p><u>Авторы:</u> Пятаков С.Н. Федосов С.Р.</p> <p><u>Опубликовано:</u> 2012.03.20</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Сырье – листья персика обыкновенного</li> <li>• Экстрагент – спирт этиловый 96%</li> <li>• Степень измельчения сырья – не определена</li> <li>• Температура экстракции – без нагрева</li> <li>• Продолжительность экстракции – 24 часа методом перколяции или реперколяции, сгущение при температуре 45-50°С и давлении 0,6-0,7 атм.</li> <li>• Соотношение сырье:экстрагент – 1:10</li> </ul>

Продолжение таблицы 21	
1	2
<p>№ 2604141-2016 «Способ получения препарата фенольной природы из растительного сырья»</p> <p><u>Авторы:</u> Кулаков А.В.</p> <p><u>Опубликовано:</u> 2016.11.14</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Сырье - древесная зелень березы, и/или облепихи, и/или персика</li> <li>• Экстрагент – вода</li> <li>• Степень измельчения сырья – не определена</li> <li>• Температура экстракции – 30-80<sup>0</sup>С</li> <li>• Продолжительность экстракции – 10-45 мин</li> <li>• Соотношение сырье:экстрагент – 1:10 – 1:20</li> </ul>
<p>№ 2627590 – 2017 «Способ получения биологически активной добавки к пище из растительного сырья»</p> <p><u>Авторы:</u> Мокин П.А. Несчисляев В.А. Орлова Е.В.</p> <p><u>Опубликовано:</u> 2017.08.09</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Сырье - листья и/или цветки персика обыкновенного</li> <li>• Экстрагент – вода</li> <li>• Степень измельчения сырья – 1-40 мм</li> <li>• Температура экстракции – 95-100<sup>0</sup>С</li> <li>• Продолжительность экстракции – не менее 30 мин.</li> <li>• Соотношение сырье:экстрагент - 1:10 – 1:20</li> </ul>

Предлагаемые технологические параметры по извлечению и очистке БАВ из персика обыкновенного листьев существенно отличаются друг от друга: в качестве экстрагента применяются вода очищенная, спирт этиловый 96%, время экстракции

колеблется от 10 мин до 24 часов, степень измельчения сырья нормируется только в одном патенте и находится в пределах от 1 мм до 40 мм. Неоднозначность параметров экстракции при извлечении биологически активных веществ из персика обыкновенного листьев, делает актуальным выбор рациональных режимов экстракции комплекса БАВ из персика обыкновенного листьев, с учетом их качественного и количественного содержания. Кроме того, представляет интерес технико-экономическое обоснование получения экстракционных препаратов в виде экстракта густого и сухого.

#### 4.1 Технико-экономическое обоснование выбора экстракта густого

При выборе рационального вида экстракта, проведен расчет себестоимости персика обыкновенного листьев экстракта густого и экстракта сухого стандартным способом, при котором учтены расходы на сырье, электроэнергию, зарплату сотрудников, задействованных в производстве экстрактов [177]. Расходы на производство 1 кг персика обыкновенного листьев экстракта густого и экстракта сухого представлены в таблице 22. Из результатов видно, что для предприятия экономически более выгодно производить экстракт густой. Таким образом, на основании технико-экономических расчетов, обоснована целесообразность выбора экстракта густого в качестве фармацевтической субстанции.

Таблица 22 - Расходы на производство экстракта густого и экстракта сухого

Расходы на ресурсы	Расходы на производство	
	1 кг персика обыкновенного листьев экстракта густого	1 кг персика обыкновенного листьев экстракта сухого
1	2	3
Расходы на сырье	1300 руб	1700 руб

Продолжение таблицы 22		
1	2	3
Расходы на зарплату сотрудника	1100 руб	2070 руб
Время, затраченное на производство	8 часов	15 часов
Расходы на электро- и водоснабжение	280 руб	550 руб
Себестоимость	2680 руб	4320 руб

*Возможности применения персика обыкновенного листьев экстракта густого:* в качестве фармацевтической субстанции при производстве лекарственных средств в форме сиропа, эликсира, эмульсии, суспензии, гранул, мягких желатиновых капсул, свечей ректальных, вагинальных, мягких лекарственных форм для наружного применения. Так же, экстракт густой может использоваться для изготовления экстракта жидкого, косметических средств.

#### **4.2 Определение оптимальных параметров экстракции суммы флавоноидов из персика обыкновенного листьев**

При производстве фитопрепаратов основной технологической стадией является экстрагирование растительного сырья. Для более полного извлечения комплекса БАВ необходимо детальное рассмотрение факторов, влияющих на процесс экстрагирования действующих веществ из лекарственного сырья [178].

В зависимости от химического состава растительного сырья и используемого экстрагента, в извлечение переходят те или иные химические вещества. Выход БАВ можно увеличить, изменяя состав экстрагента [179].

При увеличении относительного расхода экстрагента растительная ткань отдает растворителю большое количество экстрактивных веществ, в том числе БАВ, однако это происходит до определенного предела, когда все легко

связанные вещества клетки перешли в экстрагент и остаются только прочно связанные и трудно доступные биологически активные вещества.

При этом, следует учитывать, что процесс экстракции не является конечным в технологии экстрактов, за ним следует стадия очистки и концентрирования. Чем больше растворителя расходуется на экстракцию, тем больше времени необходимо затратить на концентрирование вытяжки. Выход некоторых БАВ при увеличении гидромодуля растворителя с 11 до 20 растет незначительно, при этом затраты, расходуемые на испарение большей доли экстрагента, будут несравненно выше [180]. Важным фактором, влияющим на интенсификацию диффузии и повышение выхода действующих веществ, является степень измельчения сырья. При увеличении площади соприкосновения с экстрагентом увеличивается выход БАВ из сырья. Однако при измельчении сырья, до сверхтонких порошков, разрушается большое число клеток растительного материала, что приводит к вымыванию из клеток балластных веществ (макромолекул белков, полисахаридов, камедей, пектинов) [181].

Анализ методов экстракции используемых, для извлечения флавоноидов из лекарственного растительного сырья установил, что наибольший выход флавоноидов достигается методом мацерации при нагревании с периодическим перемешиванием [182].

Далее нами проведен подбор оптимальных режимов экстрагирования суммы флавоноидов из персика обыкновенного листьев: экстрагент, температура экстракции, продолжительность экстракции, степень измельчения сырья, гидромодуль.

Методика: в колбу помещали 1,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц 0,5-6 мм, добавляли экстрагент (вода очищенная, спирт этиловый 40%, 70%, 90%), в соотношении сырье:экстрагент – 1:7, 1:10, 1:15, 1:20 и выдерживали в течение 20-90 мин при температуре 40-100<sup>0</sup>С на водяной бане. Извлечения охлаждали при температуре 5-8<sup>0</sup> С в течение 3 суток, отфильтровывали через друк-фильтр. В полученных извлечениях определяли

количественное содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин, по разработанной нами методике.

Результаты опытов с использованием различных экстрагентов приведены на рисунке 18.

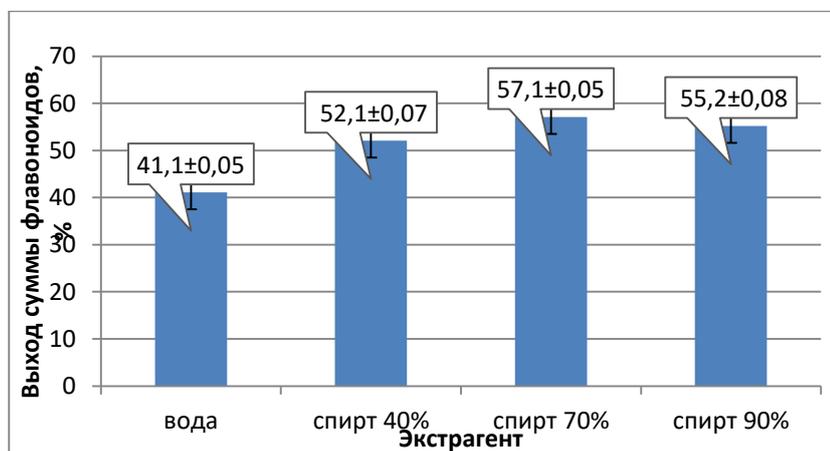


Рисунок 18. Выход суммы флавоноидов в зависимости от состава экстрагента

На основании анализа данных, представленных на рисунке 18, установлено, что наилучшим экстрагентом является спирт этиловый раствор 70%.

Для определения температурного режима экстрагирования изучено влияние нагревания на выход суммы флавоноидов. Результаты анализа приведены на рисунке 19.

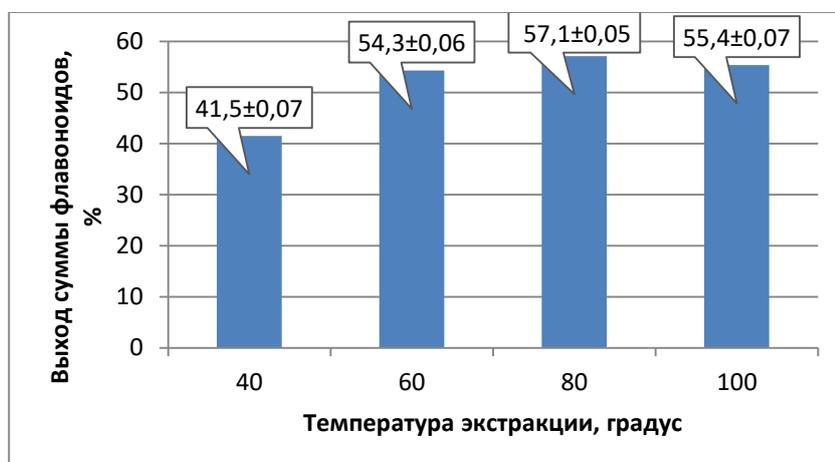


Рисунок 19. Выход суммы флавоноидов в зависимости от температуры экстракции

На основании анализа данных, представленных на рисунке 19, установлено, что наибольший выход флавоноидов достигается при проведении экстракции при температуре 80°C.

Для определения продолжительности экстракции было изучено влияние времени на выход суммы флавоноидов. Результаты анализа приведены на рисунке 20.

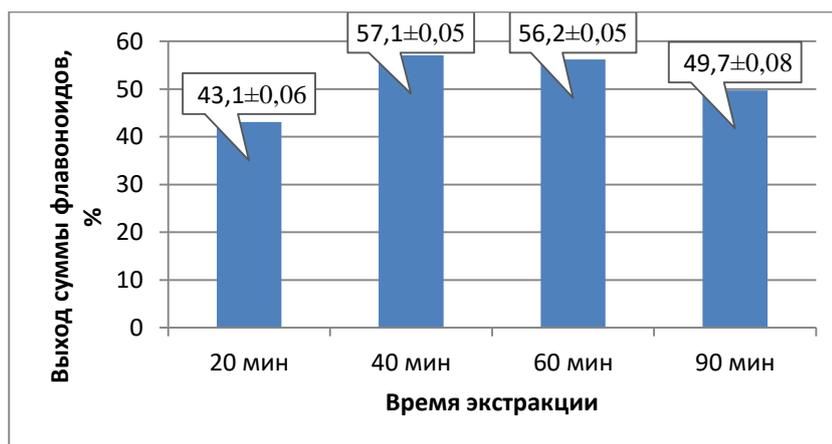


Рисунок 20. Выход суммы флавоноидов в зависимости от продолжительности экстракции.

На основании анализа данных, представленных на рисунке 20, установлено, что наибольший выход флавоноидов достигается при экстракции в течение 40 минут.

При изучении степени измельчения на выход суммы флавоноидов. Сырье просеивали через сита с отверстиями диаметром 1-5 мм. Полученные результаты представлены на рисунке 21.

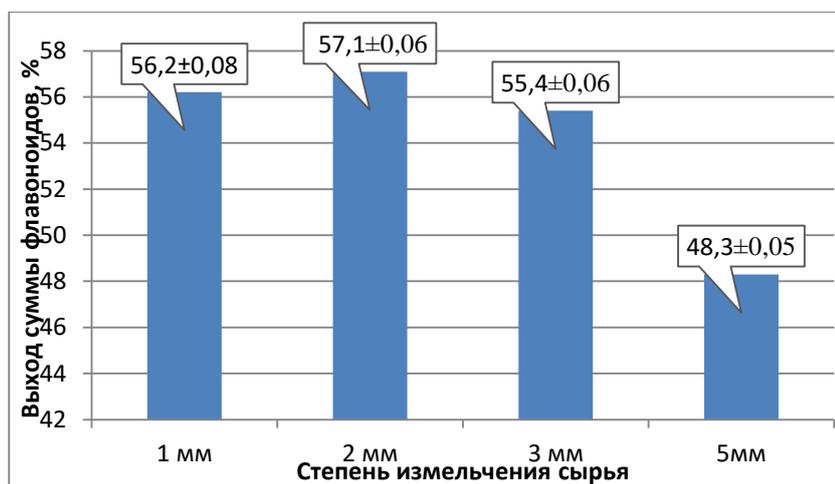


Рисунок 21. Выход суммы флавоноидов в зависимости от степени измельчения сырья

При этом установлено, что наибольший выход суммы флавоноидов наблюдается при экстрагировании сырья со степенью измельчения 2 мм.

При изучении влияния гидромодуля экстракции на выход флавоноидов из персика обыкновенного листьев, готовили извлечения из сырья с размером частиц 2 мм в соотношении 1:7, 1:10, 1:15, 1:20. Время экстракции составляло 40 мин, в качестве экстрагента использовали спирт этиловый раствор 70%, обеспечивающий максимальный выход флавоноидов из персика обыкновенного листьев.

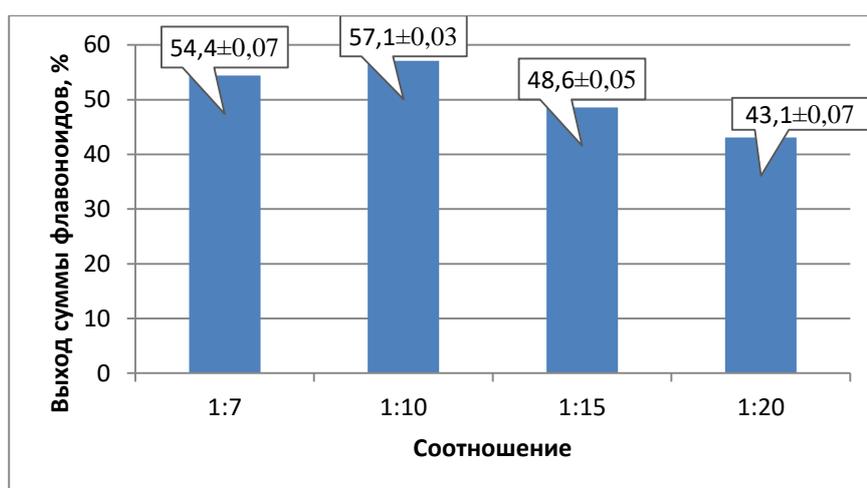


Рисунок 22. Зависимость выхода суммы флавоноидов из листьев персика обыкновенного от соотношения сырье - экстрагент

На основании анализа данных, представленных на рисунке 22, установлено, что наибольший выход суммы флавоноидов наблюдается при соотношении сырье – экстрагент 1:10. Таким образом, установлены факторы, обеспечивающие максимальный выход суммы флавоноидов из персика обыкновенного листьев: мацерация при температуре 70<sup>0</sup>С в течение 40 мин, экстрагент – спирт этиловый раствор 70%, степень измельчения сырья – 2 мм, соотношение сырье-экстрагент – 1:10 (стадия ТП 3 – получение вытяжки) [183].

### **4.3 Разработка технологии персика обыкновенного листьев экстракта густого**

Извлечение, полученное на стадии ТП 3, в установленном режиме, подвергли очистке методом отстаивания в плотно закрытой емкости при температуре 5-8<sup>0</sup> С в течение 3 суток. После отстаивания извлечение фильтровали с помощью друк-фильтра (стадия ТП 4) и очищенную вытяжку выпаривали в вакуум-выпарной установке при температуре 65-70<sup>0</sup> С и глубине вакуума -0,75 ...-0,85 бар, до остаточной влажности не более 20 % (стадия ТП 5).

По полученной технологии изготовлено пять серий экстракта густого (001,002, 003, 004, 005) и составлена технологическая схема получения персика обыкновенного листьев экстракта густого. Технологическая схема получения персика обыкновенного листьев экстракта густого представлена на рисунке 23.

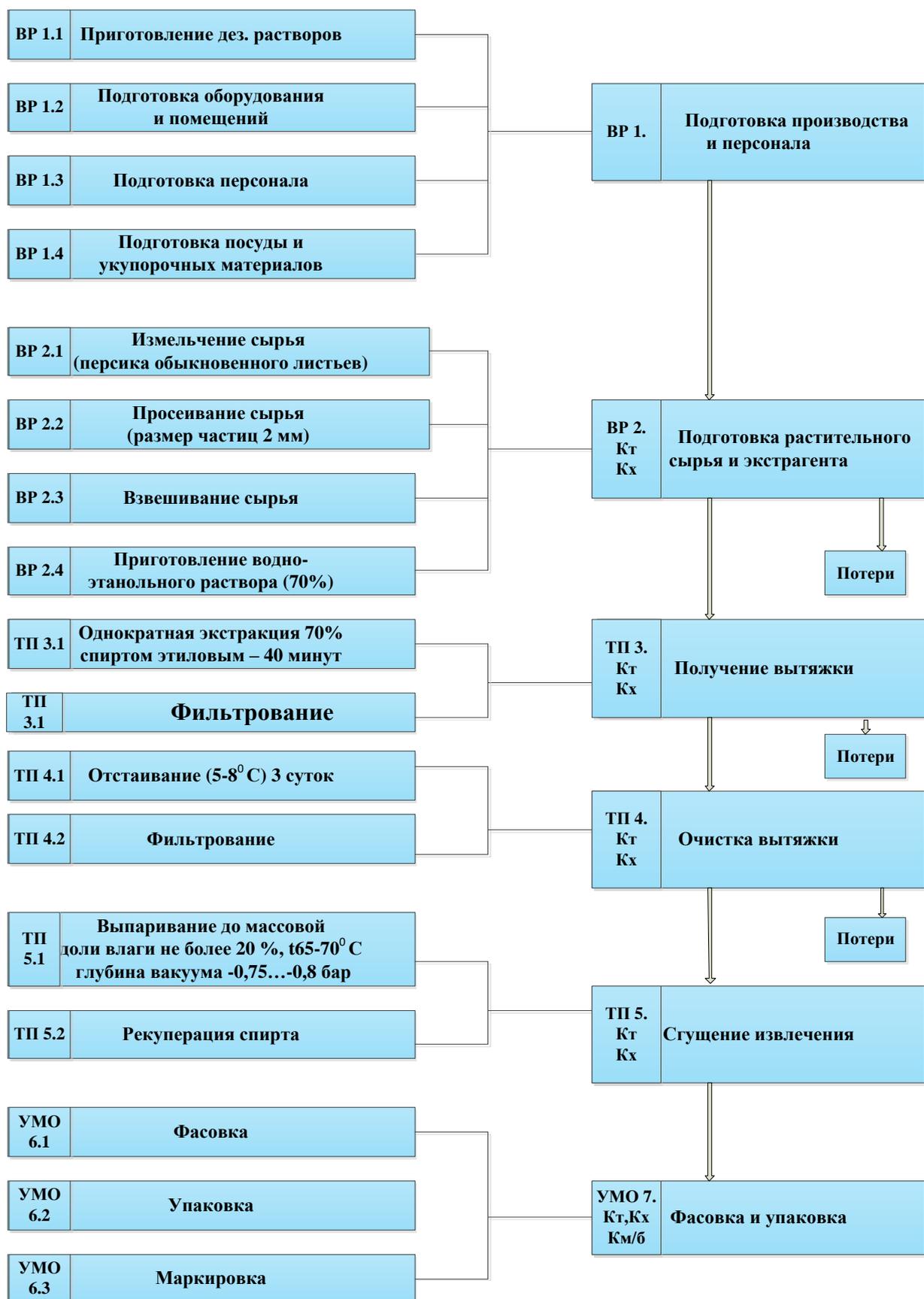


Рисунок 23. Технологическая схема производства персика обыкновенного листьев экстракта густого

#### **4.4 Стандартизация персика обыкновенного листьев экстракта густого**

Для стандартизации полученных серий персика обыкновенного листьев экстракта густого использованы методики качественного и количественного анализа для сырья персика обыкновенного, адаптированные для экстракта:

- количественное содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в персика обыкновенного листьев экстракте густом определяли спектрофотометрическим методом (глава 2, п. 2.9.3);
- количественное содержание рутина - методом ВЭЖХ (глава 2, п. 2.9.2);
- количественное содержание дубильных веществ - перманганатометрическим методом (глава 2, п. 2.5);
- количественное содержание каротиноидов - спектрофотометрическим методом (глава 2, п. 2.6);
- количественное содержание аскорбиновой кислоты - йодометрическим методом (глава 2, п. 2.7).

##### **4.4.1 Качественное и количественное определение флавоноидов в персике обыкновенном листьев экстракте густом**

Анализ качественного состава флавоноидов в персике обыкновенного листьев экстракте густом проводили методом хроматографии на бумаге, в системе растворителей: бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2). Хроматограмма подтверждает переход флавоноидов из сырья персика обыкновенного в экстракт густой (рисунок 11). Количественное содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин, в персика обыкновенного листьев экстракте густом представлено в таблице 23. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в персика обыкновенного листьев экстракте густом представлены в таблице 24.

Таблица 23- Содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в персике обыкновенного листьев экстракте густом

Образец	Содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин
№ 1	5,09 %
№ 2	5,1 %
№ 3	4,88 %
№ 4	5,07 %
№ 5	5,31 %

Таблица 24 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в персике обыкновенного листьев экстракте густом

ЛС	n	f	$\bar{x}_{cp.}$	$S^2$	S	P, %	T (P, f)	$\Delta X$	E, %
Персика обыкновенного листьев экстракт густой	5	4	5,1	0,02325	0,1525	95	2,78	0,42	8,25

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин в персике обыкновенного листьев экстракте густом составило  $5,1 \% \pm 0,19$ .

*Идентификацию рутина* в персике обыкновенного листьев экстракте густом проводили методом ВЭЖХ (глава 2, п. 2.9.2).

Идентификацию проводили с использованием стандартного образца рутина по времени удерживания и УФ-спектрам, снятым в режиме хроматографирования. На хроматограммах зарегистрирован пик рутина в области времени удерживания  $12,30 \pm 0,15$  мин. Примеры хроматограмм и УФ- спектры представлены на рисунках 24– 27.

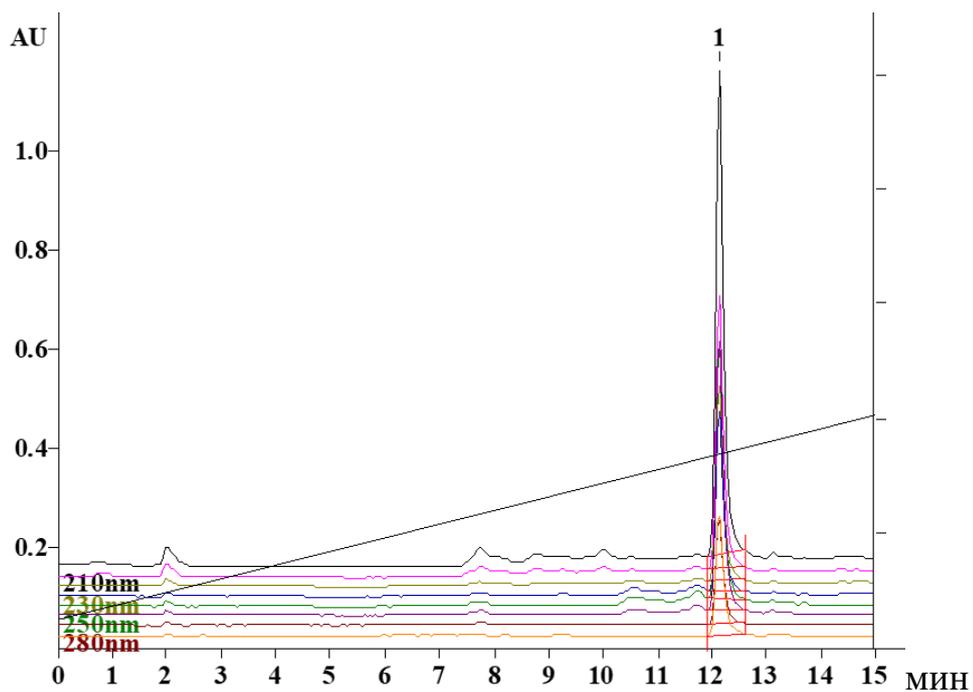


Рисунок 24. Хроматограмма раствора ГСО рутина

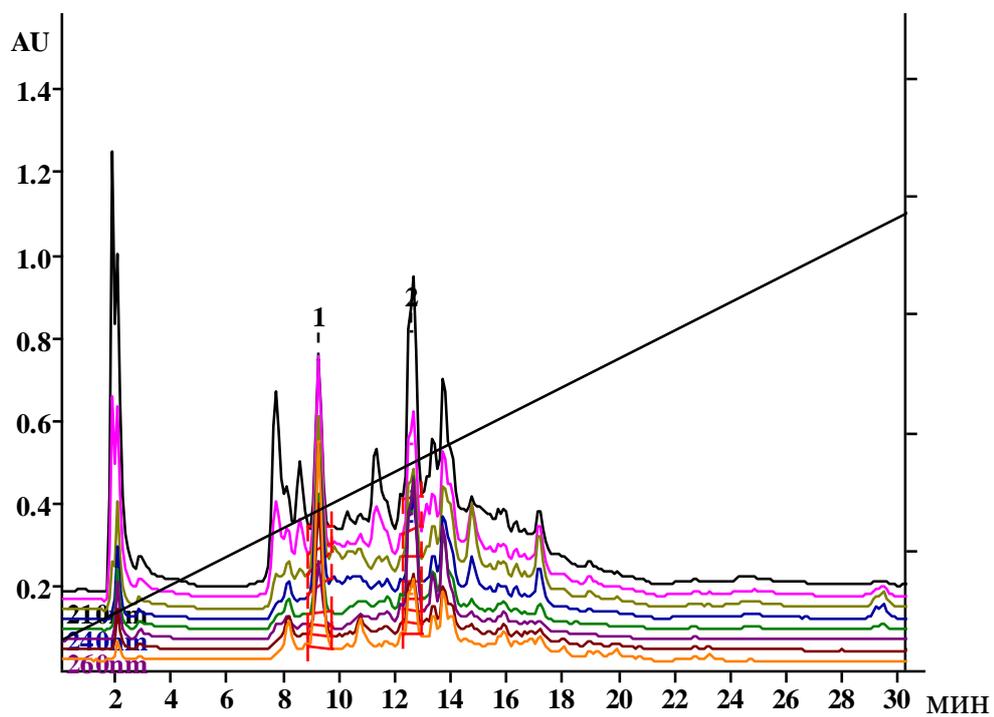


Рисунок 25. Хроматограмма персика обыкновенного листьев экстракта  
густого

AU

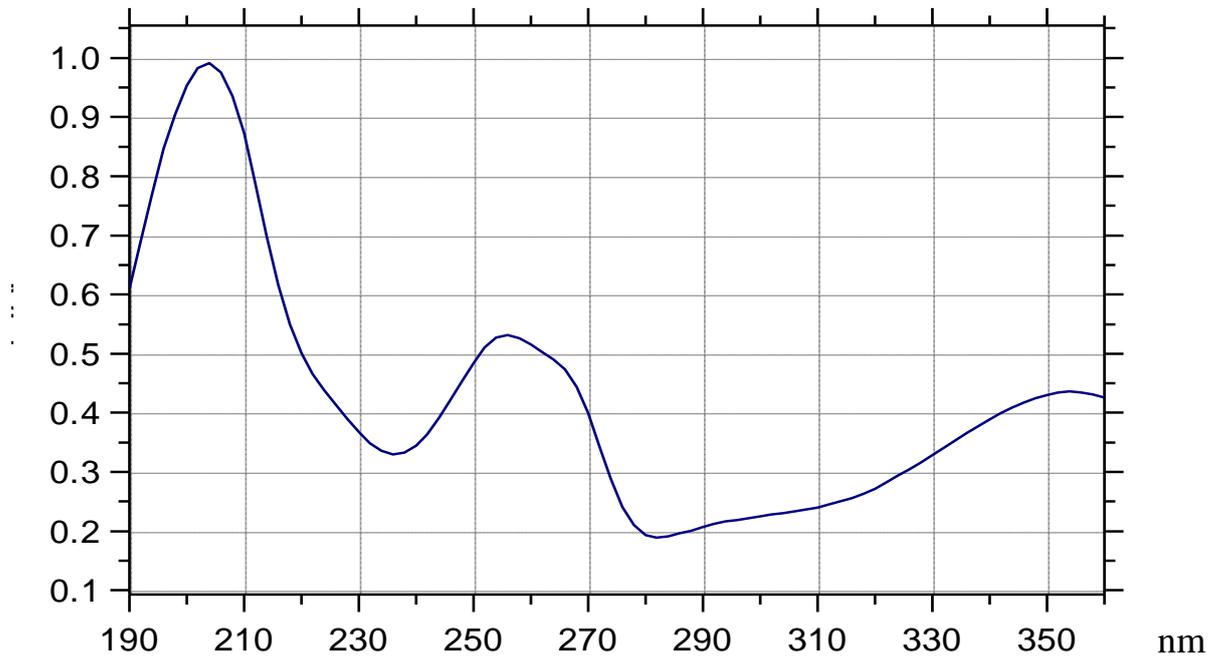


Рисунок 26. УФ-спектр рутина на хроматограмме раствора ГСО рутина

AU

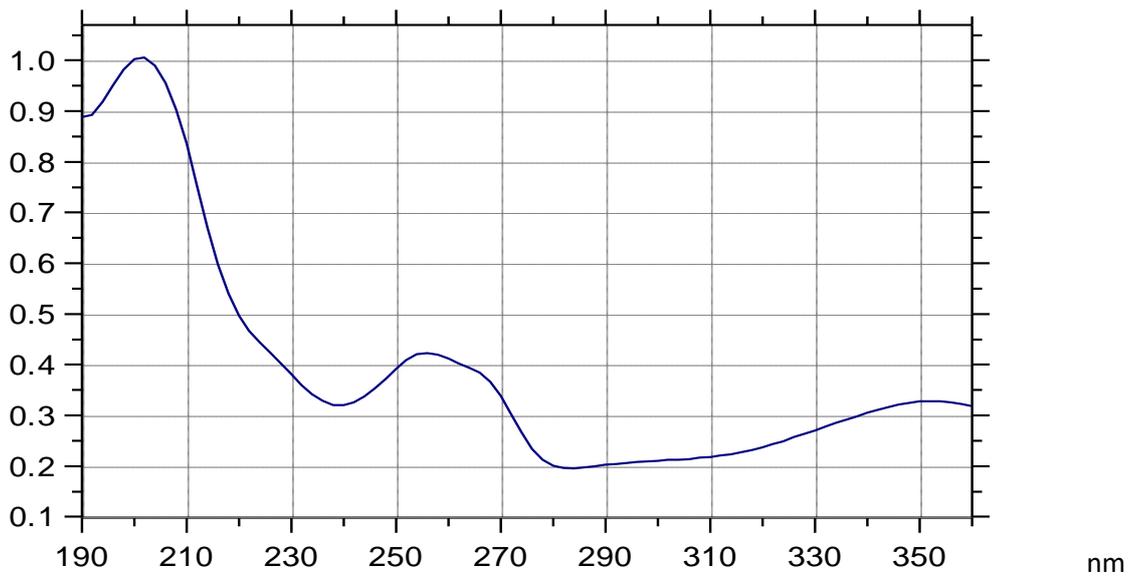


Рисунок 27. УФ-спектр рутина на хроматограмме раствора персика обыкновенного листьев экстракта густого

Количественное содержание рутина представлено в таблице 25. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания рутина в персике обыкновенного листьев экстракте густом представлены в таблице 26.

Таблица 25 - Содержание рутина в персика обыкновенного листьев экстракте густом

<b>№</b>	<b>Навески</b>	<b>Площади хроматографического пика рутина в испытуемом растворе и растворе ГСО рутина</b>	<b>Содержание рутина в персике обыкновенного листьев экстракте густом, (%)</b>
1	$a_1 = 0,25085$	$S_1 = 15,52$	$X_1 = 0,81$
	$a_2 = 0,24840$	$S_2 = 15,91$	$X_2 = 0,84$
	$a_3 = 0,24795$	$S_3 = 14,93$	$X_3 = 0,79$
	$a_0 = 0,00415$	$S_0 = 15,82$	$X_{cp.} = 0,81 \pm 0,06$
2	$a_1 = 0,28665$	$S_1 = 17,04$	$X_1 = 0,76$
	$a_2 = 0,26340$	$S_2 = 16,89$	$X_2 = 0,82$
	$a_3 = 0,25550$	$S_3 = 15,99$	$X_3 = 0,80$
	$a_0 = 0,00480$	$S_0 = 18,77$	$X_{cp.} = 0,79 \pm 0,076$
3	$a_1 = 0,26140$	$S_1 = 15,67$	$X_1 = 0,77$
	$a_2 = 0,27265$	$S_2 = 16,21$	$X_2 = 0,76$
	$a_3 = 0,23805$	$S_3 = 15,08$	$X_3 = 0,81$
	$a_0 = 0,00525$	$S_0 = 20,43$	$X_{cp.} = 0,78 \pm 0,066$

Таблица 26 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания рутина в персике обыкновенного листьев экстракте густом

ЛС	n	f	х <sub>ср.</sub> , %	S <sup>2</sup>	S	P, %	T (P, f)	ΔX	E, %
Персика обыкновенного листьев экстракт густой	3	2	0,79	0,00023	0,01528	95	2,35	0,03	3,8

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что содержание рутина в персике обыкновенном листьев экстракте густом составило 0,79 % ± 0,04.

#### 4.4.2 Количественное определение других групп БАВ в экстракте густом.

С целью определения перехода всего комплекса БАВ из персика обыкновенного листьев в экстракт густой, нами проводилась оценка качества по содержанию не только флавоноидов, но и других групп БАВ: дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, каротиноидов, макро- и микроэлементов.

##### 4.4.2.1 Качественное и количественное определение суммы дубильных веществ в персике обыкновенном листьев экстракте густом

*Качественный и количественный анализ дубильных веществ в персике обыкновенном листьев экстракте густом проводили в соответствии с главой 2, п. 2.5. С помощью качественных реакций подтверждено присутствие дубильных веществ в персике обыкновенном листьев экстракте густом.*

Количественное содержание суммы дубильных веществ, в пересчете на танин, в персике обыкновенном листьев экстракте густом представлено в таблице 27.

Метрологические характеристики методики количественного определения дубильных веществ, в пересчете на танин в персике обыкновенного листьев экстракте густом представлены в таблице 28.

Таблица 27 - Содержание суммы дубильных веществ, в пересчете на танин в персике обыкновенном листьев экстракте густом

Образец	Содержание суммы дубильных веществ, в пересчете на танин в персике обыкновенном листьев экстракте густом
№ 1	5,89 %
№ 2	6,09 %
№ 3	6,29 %
№ 4	6,01 %
№ 5	6,09 %

Таблица 28 – Метрологические характеристики методики количественного определения дубильных веществ, в пересчете на танин в персике обыкновенного листьев экстракте густом.

ЛС	n	f	$\bar{x}_{ср.}, \%$	$S^2$	S	P, %	T (P, f)	$\Delta X$	E, %
Персика обыкновенного листьев экстракт густой	5	4	6,07	0,0213	0,1459	95	2,78	0,41	6,75

Из данных таблицы видно, что содержание дубильных веществ, в пересчете на танины, в персике обыкновенном листьев экстракте густом составило 6,07 %  $\pm$  0,18.

#### 4.4.2.2 Качественное и количественное определение каротиноидов в персике обыкновенном листьев экстракте густом

*Качественный и количественный анализ каротиноидов в персике обыкновенном листьев экстракте густом проводили в соответствии с главой 2,*

п. 2.6. С помощью ТСХ подтверждено присутствие каротиноидов в персике обыкновенном листьев экстракте густом.

Количественное содержание суммы каротиноидов, в пересчете на каротин, в персике обыкновенном листьев экстракте густом представлено в таблице 29. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания каротиноидов, в пересчете на каротин в персике обыкновенного листьев экстракте густом представлены в таблице 30.

Таблица 29 - Содержание суммы каротиноидов, в пересчете на каротин в персике обыкновенном листьев экстракте густом

Образец	Содержание суммы каротиноидов, в пересчете на каротин в персике обыкновенном листьев экстракте густом
№ 1	0,72 %
№ 2	0,75 %
№ 3	0,73 %
№ 4	0,74 %
№ 5	0,71 %

Таблица 30 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания каротиноидов, в пересчете на каротин в персике обыкновенного листьев экстракте густом.

ЛС	n	f	$\bar{x}$ , %	$S^2$	S	P, %	T (P, f)	$\Delta X$	E, %
Персика обыкновенного листьев экстракт густой	5	4	0,73	0,00025	0,01581	95	2,78	0,04	5,48

Из данных таблицы видно, что содержание каротиноидов, в пересчете на  $\beta$ -каротин, в экстракте листьев персика обыкновенного составило  $0,73\% \pm 0,02$ .

#### 4.4.2.3 Качественное и количественное определение аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом

*Качественный и количественный анализ* аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом проводили в соответствии с главой 2, п. 2.7. С помощью качественных реакций подтверждено присутствие аскорбиновой кислоты в персика обыкновенного листьев экстракте густом.

Количественное содержание аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом представлено в таблице 31. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом представлены в таблице 32.

Таблица 31 - Содержание аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом

Образец	Содержание аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом
№ 1	1,09 %
№ 2	0,97 %
№ 3	0,99 %
№ 4	1,30 %
№ 5	1,13 %

Таблица 32 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом

ЛС	n	f	х <sub>ср.</sub> , %	S <sup>2</sup>	S	P, %	T (P, f)	ΔX	E, %
Персика обыкновенного листьев экстракт густой	5	4	1,1	0,01748	0,1322	95	2,78	0,38	33,9

Из данных таблицы видно, что содержание аскорбиновой кислоты в персике обыкновенном листьев экстракте густом составило  $1,1 \% \pm 0,16$ .

#### 4.4.3 Содержание биологически активных веществ в персике обыкновенном листьях и экстракте густом из них

Сравнительное содержание БАВ в сырье и экстракте густом представлено в таблице 33.

Таблица 33 – Содержание БАВ в персике обыкновенном листьях и экстракте густом из них

Наименование БАВ	Содержание в лекарственном растительном сырье (среднее значение)	Содержание в экстракте густом (среднее значение)	% перехода БАВ из сырья в экстракт
Флавоноиды, в пересчете на рутин	1,78 %	5,1 %	89,5 %
Дубильные вещества в пересчете на танины	1,82 %	6,07 %	95,0 %
Каротиноиды	0,087 %	0,73 %	97,0 %
Аскорбиновая кислота	0,018 %	1,10 %	98,0 %

Полученный экстракт густой содержит большое количество биологически активных веществ. Из персика обыкновенного листьев в экстракт густой перешло

89,5 % рутина, 95 % - дубильных веществ, 97 % - каротиноидов, 98 % - аскорбиновой кислоты.

#### 4.4.4 Исследование элементного состава

Исследование проводили на образцах персика обыкновенного листьев экстракта густого по методике, описанной в главе 2 п. 2.8. Результаты исследования представлены в таблице 34.

Таблица 34 - Содержания микро- и макроэлементов в персике обыкновенного листьев экстракте густом

Элемент	Содержание мкг/кг
1	2
Cu	533,0
Zn	824,0
Na	52000,0
Mg	5310,0
Al	8120,0
Si	-
P	14800,0
S	3312,0
K	878000,0
Ca	28780,0
Ti	654,0
Cr	63,0
Mn	827,0
Fe	697,7
Co	-
Ni	84,0

Продолжение таблицы 34	
1	2
Pb	-
Mo	-
Sn	-
Ba	-

Наибольшее содержание, среди элементов в персике обыкновенного листьев экстракте густом приходится, так же, как и в листьях на долю калия и натрия. Присутствие тяжелых металлов (молибдена, стронция и свинца) в экстракте густом не обнаружено.

Ряд элементного состава экстракта густого выглядит следующим образом: K>Na>Ca>P>Al>Fe>Mg>S>Mn>Zn>Ti>Cu>Ni>Cr [172].

#### 4.5 Определение остаточного содержания экстрагента (спирта этилового) в персике обыкновенного листьев экстракте густом

Определение проводили в соответствии с методикой, описанной в главе 2, п. 2.10.

Идентификацию этанола проводили по времени удерживания, которое составило  $6,1 \pm 0,08$  мин (рисунок 28, 29).

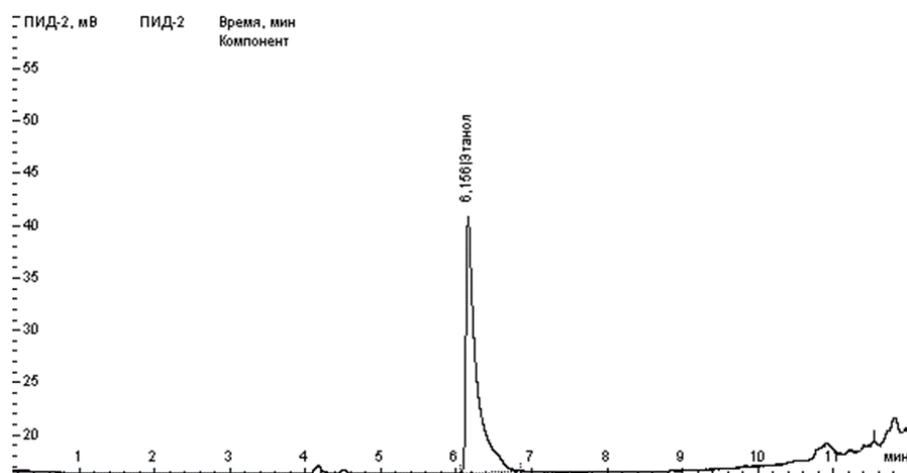


Рисунок 28. Хроматограмма стандартного раствора этанола 0,005%

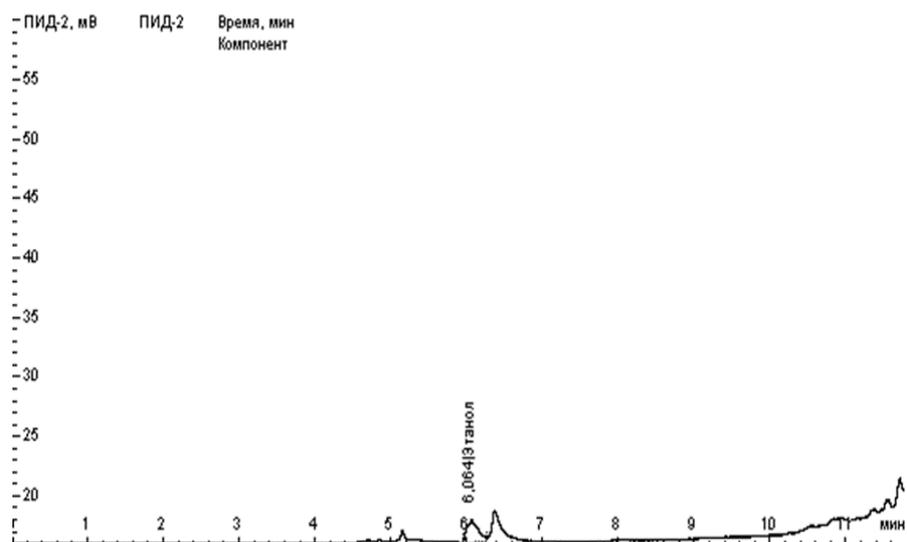


Рисунок 29. Хроматограмма персика обыкновенного листьев экстракта густого

Из рисунка 29 видно, что пик спирта этилового на хроматограмме персика обыкновенного листьев экстракта густого незначительный, что свидетельствует о незначительном содержании спирта этилового в экстракте густом.

Нами проанализировано пять серий экстракта, результаты исследования приведены в таблице 35.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания спирта этилового в персике обыкновенного листьев экстракте густом приведены в таблице 36.

Таблица 35 - Содержание спирта этилового в персике обыкновенного листьев экстракте густом

Образец	Содержание спирта этилового в персике обыкновенного листьев экстракте густом
№ 1	0,0047 %
№ 2	0,0050 %
№ 3	0,0049 %
№ 4	0,0056 %
№ 5	0,0052 %

Таблица 36 – Метрологические характеристики методики количественного определения содержания спирта этилового в персике обыкновенного листьев экстракте густом

ЛС	n	f	$x_{\text{ср.}}$ , %	$S^2$	S	P, %	T (P,f)	$\Delta X$	E, %
Персика обыкновенного листьев экстракт густой	5	4	0,0051	0,000000117	0,000343	95	2,78	0,00095	18,6

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что содержание спирта этилового в персике обыкновенного листьев экстракте густом составило 0,0051 % $\pm$ 0,0004, что не превышает нормы 0,5%, регламентирующей ГФ XIV изд., ОФС.1.1.0008.15 «Остаточные органические растворители» [151].

#### 4.6 Определение показателей качества персика обыкновенного листьев экстракта густого

На основании данных, полученных в результате качественного и количественного анализа персика обыкновенного листьев экстракта густого, обоснованы показатели качества. Результаты обобщены в виде спецификации и представлены в таблица 37.

Таблица 37 - Спецификация показателей качества персика обыкновенного листьев экстракта густого

Наименование показателя	Требование НД	Характеристика экстракта густого
1	2	3
Описание	Вязкая масса темно-коричневого цвета горьковатого вкуса со специфическим запахом	Соответствует

Продолжение таблицы 37		
1	2	3
Подлинность	Флавоноиды определяли с помощью качественных реакций	Соответствует
Содержание флавоноидов, %	Не менее 5,0 %	5,1 %
Массовая доля влаги, %	Не более 20,0 %	19,0 % ± 0,12
Тяжелые металлы, %	Не более 0,01 %	Не обнаружено
Упаковка	Банки из стекломассы с винтовой горловиной оранжевого стекла	Соответствует
Хранение	В сухом прохладном защищенном от света месте	Соответствует
Срок годности	24 месяца	Соответствует

#### **4.7 Определение сроков годности персика обыкновенного листьев экстракта густого**

Подтверждение срока годности проводили в соответствии с главой 2, п. 2.14. Срок наблюдения стабильности составил от 6 месяцев до 2,5 лет. Экстракт густой расфасовывали в банки из стекломассы с винтовой горловиной оранжевого стекла, укупоривали пробками полиэтиленовыми и крышками пластмассовыми навинчиваемыми, которые предназначены для хранения экстрактов густых.

Данные контроля показателей качества и количественного содержания представлены в таблице 38.

Таблица 38 - Результаты анализа персика обыкновенного листьев экстракта густого при хранении при температуре  $4\pm 2^0$  C (n = 5)

Дата	Рекомендации	15.06.17	15.12.17	15.06.18	15.12.18	15.06.19
Подлинность	Качественные реакции	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Содержание флавоноидов, %	Не менее 5,0%	5,7%±0,05	5,6%±0,05	5,45%±0,06	5,4%±0,04	5,2%±0,05
Массовая доля влаги, %	Не более 20,0%	18,0%±0,1	18,0%±0,1	18,5%±0,12	18,7%±0,1	18,9%±0,13
Тяжелые металлы, %	Не более 0,01%	Не более 0,01%	Не более 0,01%	Не более 0,01%	Не более 0,01%	Не более 0,01%
Срок хранения	2 года	0,5 года	1 год	1,5 года	2 года	2,5 года

На основании результатов анализа, представленных в таблице 38, можно сделать вывод, что срок хранения персика обыкновенного листьев экстракта густого составляет 2 года и 6 месяцев. Таким образом, установлен срок годности экстракта густого – 2 года.

## ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4.

1. Проведено обоснование выбора технологии персика обыкновенного листьев экстракта густого.

2. Разработанная технология персика обыкновенного листьев экстракта густого обеспечивает переход БАВ сырья в экстракт густой на 89,5-98%.

3. Проведена стандартизация персика обыкновенного листьев экстракта густого, определены показатели качества: содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин - не менее 5,0 %, массовая доля влаги – не более 20,0 %, тяжелые металлы - не более 0,01 %.

4. Установлен срок годности персика обыкновенного листьев экстракта густого при хранении, при температуре  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ , не менее 2 лет.

5. Разработаны, утверждены, и апробированы нормативные документы предприятия ООО «Апифитофарм» (Приложение 4): Технические Условия «Персика обыкновенного листьев экстракт густой», лабораторный регламент «Производство персика обыкновенного листьев экстракта густого».

## ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО ЛИСТЬЕВ ЭКСТРАКТА ГУСТОГО

Персика обыкновенного листья являются богатейшим источником биологически активных веществ. Из всего многообразия классов веществ данного вида сырья, особого внимания заслуживают флавоноиды.

Учитывая литературные данные о биологической активности данной групп веществ и результаты проведённого фитохимического исследования, было проведено исследование фармакологической активности и острой токсичности персика обыкновенного листьев экстракта густого.

Исследование острой токсичности, фармакологической активности персика обыкновенного листьев экстракта густого проводили на трех сериях (001, 002, 003), полученных в лабораторных условиях.

### 5.1 Изучение острой токсичности

Исследование острой токсичности персика обыкновенного листьев экстракта густого проводили по стандартной методике (глава 2, п. 2.11.1.).

Результаты исследования представлены в таблице 39.

Таблица 39 – Острая токсичность персика обыкновенного листьев экстракта густого

№ образца	Соединение	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг
Серия 001	Персика обыкновенного листьев экстракт густой	>5000
Серия 002	Персика обыкновенного листьев экстракт густой	>5000
Серия 003	Персика обыкновенного листьев экстракт густой	>5000

Результаты исследования острой токсичности позволяют отнести персика обыкновенного листьев экстракт густой к классу 4 малотоксичных веществ ( $LD_{50} > 5000$ ) [185].

## 5.2 Изучение антиоксидантной активности

Исследование проводили в соответствии с методикой, описанной в главе 2, п. 2.11.3. В качестве препарата сравнения использовали плодов шиповника настой. Результаты представлены в таблице 40.

Таблица 40 – Антиоксидантная активность плодов шиповника настоя

Сухой остаток, мг/мл	Оптическая плотность, нм	% связывания радикала
0,112	0,2695	74,13
0,106	0,3573	65,7
0,08	0,5615	46,1
0,064	0,6513	37,48
0,053	0,7040	32,42

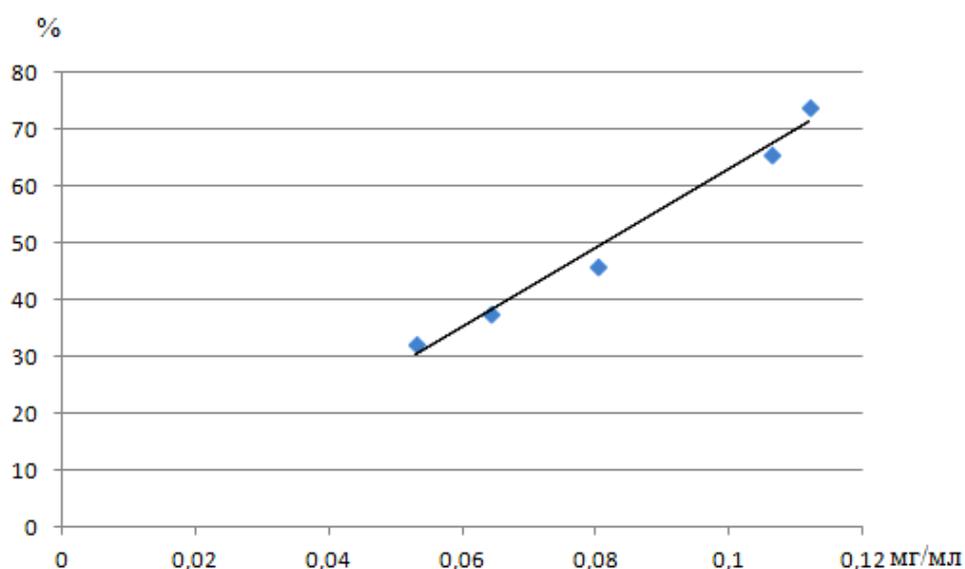


Рисунок 30. Зависимость процента (%) связывания свободного радикала ДФПГ от концентрации плодов шиповника настоя

Из уравнения линейной зависимости процента связывания свободного радикалаДФПГ от концентрации плодов шиповника настоя (рисунок 30) определено значение показателя  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  для плодов шиповника настоя составляет 0,08132мг/мл в пересчете на сухой остаток.

Таблица 41 - Антиоксидантная активность персика обыкновенного листьев экстракта густого

Концентрация густого экстракта, мкг/мл	Оптическая плотность, нм	Антиоксидантная активность, %
100	0,7045	22,14
200	0,4903	45,81
300	0,4452	50,8
500	0,3978	56,03
800	0,1939	78,57

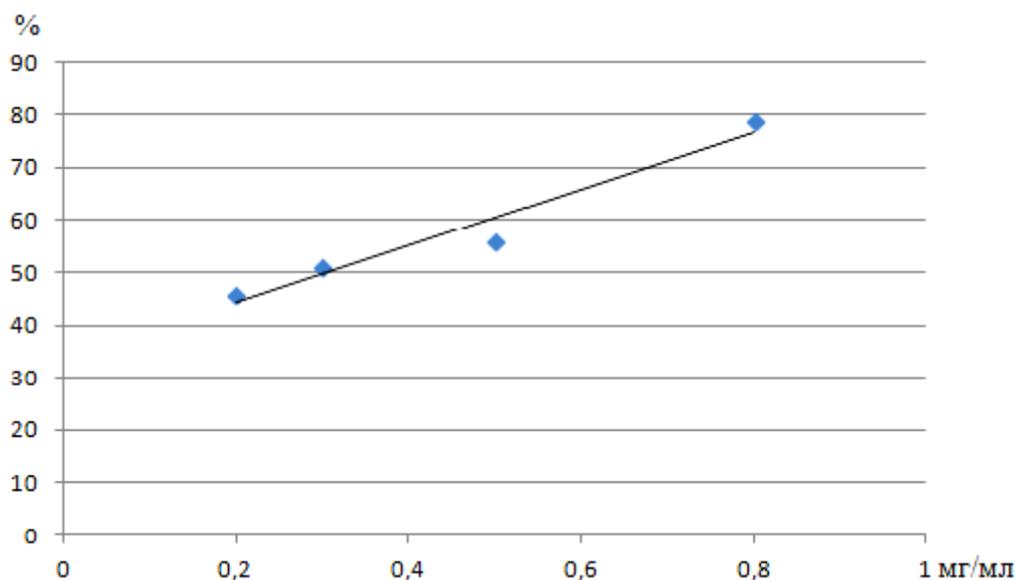


Рисунок 31. Зависимость процента (%) связывания свободного радикалаДФПГ от концентрации персика обыкновенного листьев экстракта густого

Из уравнения линейной зависимости процента связывания свободного радикалаДФПГ от концентрации персика обыкновенного листьев экстракта

густого (рисунок 31) определено значение показателя  $IC_{50}$ , которое составляет 0,304 мг/мл [166].

Таким образом, установлено, что персика обыкновенного листьев экстракт густой обладает умеренной антиоксидантной активностью, в сравнении с плодов шиповника настоем.

### 5.3 Изучение противовоспалительной активности

Исследование противовоспалительной активности персика обыкновенного листьев экстракта густого проводили на модели острого воспалительного отека, методика (глава 2, раздел 2.9.4.).

На основе полученных результатов определяли эффект торможения в процентах к контрольному уровню. В качестве препарата сравнения использовали лекарственный препарат «Нимесулид». О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции. Если этот показатель был более 30%, результат учитывался как положительный. Результаты исследования представлены в таблице 42.

Таблица 42 - Противовоспалительная активность персика обыкновенного листьев экстракта густого

Вещество	Прирост объема стопы через 4 часа, %	Торможение реакции через 4 часа, %
Персика обыкновенного листьяв экстракт густой	38,7 $\pm$ 5,87 p <0,05	41,45
Нимесулид	33,9 $\pm$ 6,8 p <0,05	48,7
Контроль	66,1 $\pm$ 6,7	

p – достоверность в сравнении с контролем

Результаты представленные в таблице 42 демонстрируют достаточно высокий уровень противовоспалительной активности персика обыкновенного листьев экстракта густого, сравнимый с нимесулидом [184, 185].

Следует отметить, что персика обыкновенного листьев экстракт густой вводился крысам в малой дозе 50 мг/кг. Малая токсичность экстракта густого позволяет использовать данную субстанцию в гораздо больших дозах, что так же может способствовать увеличению противовоспалительной активности.

Результаты исследований противовоспалительной активности указывают на перспективность дальнейших исследований персика обыкновенного листьев экстракта густого.

## **ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5**

1. На основании исследований острой токсичности персика обыкновенного листьев экстракта густого установлено, что экстракт относится к классу «малотоксичных веществ»  $LD_{50} > 5000$  мг/кг.

2. Выявлена противовоспалительная активность персика обыкновенного листьев экстракта густого на модели острого воспалительного отека, равная активности нимесулида.

3. Определена умеренная антиоксидантная активность персика обыкновенного листьев экстракта густого, спектрофотометрическим методом, по реакции со стабильным свободным радикалом ДФПГ, сопоставимая с плодов шиповника настоем.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Установлены диагностические морфолого-анатомические признаки персика обыкновенного листьев, которые положены в основу проекта ФС «Персика обыкновенного листа».

2. Определены товароведческие показатели персика обыкновенного листьев, включенные в раздел «Испытания» проекта ФС «Персика обыкновенного листа»: влажность – не более 8,0 %; зола общая - не более 7,5 %; зола не растворимая в растворе хлористоводородной кислоты - не более 5,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм (цельное сырье) - не более 5,0 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7мм (измельченное сырье) - не более 5,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм (измельченное сырье) - не более 5,0 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,18 мм (порошок) - не более 5,0 %.

3. Установлено наличие основных групп БАВ: флавоноидов, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, каротиноидов.

4. Разработана методика количественного определения флавоноидов в персике обыкновенного листьях на основе фармакопейной методики определения флавоноидов в зверобое траве, адаптированная для исследуемого сырья.

5. Определено количественное содержание: флавоноидов в персике обыкновенном листьях, которое составило  $1,78\% \pm 0,075$ , дубильных веществ -  $1,82\% \pm 0,069$ , аскорбиновой кислоты –  $0,018\% \pm 0,002$ , каротиноидов –  $0,087\% \pm 0,006$ .

6. Изучено содержание элементного состава, персика обыкновенного листьев, наибольшее содержание приходится на калий и кальций. Свинец, стронций и молибден содержатся в количествах, не превышающих значения ПДК, установленных ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», Техническим регламентом Таможенного Союза 021/2011 «О

безопасности пищевой продукции». Определен ряд биологического поглощения микроэлементов: K>Ca>Na>P>Mg>S>Al>Fe>Mn>Si>Ti>Zn>Cu>Ba>Ni>Mo>Sn>Pb.

7. Проведена валидационная оценка методики количественного определения флавоноидов, экспериментально оценены линейность, правильность, межлабораторная повторяемость, прецизионность.

8. Определена относительная ошибка единичного определения с вероятностью 95%, которая составила  $\pm 3,13\%$ .

9. Определены оптимальные параметры экстракции суммы флавоноидов персика обыкновенного листьев: экстрагент- спирт этиловый раствор 70%; экстракция при температуре 80<sup>0</sup>C; в течение 40 минут; степень измельчения сырья – 2 мм; соотношение сырье-экстрагент – 1:10.

10. Разработана технология персика обыкновенного листьев экстракта густого, с учетом физико-химических свойств комплекса БАВ сырья, с целью получения субстанции с максимальным содержанием комплекса БАВ.

11. Проведена стандартизация персика обыкновенного листьев экстракта густого, определены показатели качества: содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин - не менее 5 %, массовая доля влаги – не более 20,0 %, тяжелые металлы - не более 0,01 %.

12. Установлен срок годности персика обыкновенного листьев экстракта густого при хранении, при температуре 4 $\pm$ 2<sup>0</sup> C, не менее 2 лет.

13. Разработаны, утверждены, и апробированы нормативные документы предприятия ООО «Апифитофарм» (Приложение 4): Технические Условия «Персика обыкновенного листьев экстракт густой», лабораторный регламент «Производство персика обыкновенного листьев экстракта густого».

14. На основании исследований острой токсичности, персика обыкновенного листьев экстракта густого установлено, что экстракт относится к классу «малотоксичных веществ» ЛД<sub>50</sub>>5000 мг/кг.

15. Выявлена противовоспалительная активность персика обыкновенного листьев экстракта густого на модели острого воспалительного отека, равная активности нимесулида.

16. Определена умеренная антиоксидантная активность персика обыкновенного листьев экстракта густого, спектрофотометрическим методом, по реакции со стабильным свободным радикаломДФПГ, сопоставимая с плодов шиповника настоем.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Иванова, Д. Ф. Фитохимическое изучение, разработка и стандартизация лекарственных средств на основе первоцвета весеннего: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Иванова Д. Ф.; Башкирский государственный медицинский университет. – Уфа, 2017. – 32 с.
2. Афанасьева, Т. Г. Маркетинговый анализ ассортимента российского рынка фитосредств / Т. Г. Афанасьева // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. – 2006. – № 2. – С. 206 – 208.
3. Роль биологически активных добавок в жизни современного человека / Е. А. Никитина, Л. И. Карушина, Л. С. Василевская, Л. Г. Игнатенко // Вопросы здорового и диетического питания. – 2011. – № 8. – С. 56-64.
4. Use of dietary supplements in Denmark is associated with health and former smoking / V. K. Knudsen, L. B. Rasmussen, J. Haraldsdottir, L. Ovesen, I. Bülow, N. Knudsen, T. Jørgensen, P. Laurberg, H. Perrild // Public Health Nutr. – 2002. – Vol. 5, № 3. – P. 463-468.
5. Use of vitamins, minerals, and other dietary supplements by 17 and 18-year-old students in Korea / S. H. Kim, J. H. Han, Q. Y. Zhu, C. L. Keen // Journal Med. Food. – 2003. – Vol. 6, № 1. – P. 27-42.
6. Николаев, С. М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний / С. М. Николаев. – Улан-Удэ: Издательство Бурятского госуниверситета, 2012. – С. 9.
7. Hensrud, D. D. Underreporting the use of dietary supplements and nonprescription medications among patients undergoing a periodic health examination / D. D. Hensrud, D. D. Engle, S. M. Scheitel // Mayo Clin. Proc. – 1999. – Vol. 74. – P. 443-447
8. Зенков, Н. К. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова. – Москва : Наука/Интерпериодика, 2001. – 343 с.
9. Модуляция перекисного окисления липидов биогенными аминами в модельных системах / Е. Б. Бурлакова, А. Е. Губарева, Г. В. Архипова, В. А. Рогинский //

Вопросы медицинской химии. – 1992. – № 2. – С. 17-20.

10. Кравцова, С. С. Оценка содержания углеводов, флавоноидов и антиоксидантной активности мыла с растительными добавками / С. С. Кравцова, О. В. Бочкарева, В. В. Хасанов // Химия растительного сырья. – 2014. – № 2. – С. 249-253.
11. Применение метода ультразвукового экстрагирования в приготовлении напитка направленного действия из ягод черной смородины / Н. С. Родионова, М. В. Мануковская, А. Е. Небольсин, М. В. Серченя // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2016. – № 2. – С. 162-169.
12. Самуйлова, Л. В. Косметическая химия: учеб. изд.: в 2 ч. Ч. 1. Ингредиенты / Л. В. Самуйлова, Т. В. Пучкова. – Москва : Школа косметических химиков, 2005. – С. 246-268.
13. Струпан, Е. А. Технология получения экстрактов из дикорастущего растительного сырья, широко применяемого в пищевой промышленности и фитотерапии / Е. А. Струпан, В. С. Колодязная, О. А. Струпан // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2012. – № 8. – С. 199-205.
14. Чугунова, О. В. Практические аспекты использования плодово-ягодного сырья при создании продуктов, способствующих снижению уровня оксидативного стресса / О. В. Чугунова, Е. В. Пастушкова, А. В. Вяткин // Индустрия питания. – 2017. – № 2. – С. 57-63.
15. Вахрушева, Ю. А. Сравнительная антиоксидантная активность ягод шелковицы черной (*Morus Nigra* L.), шелковицы белой (*Morus Alba* L.) и шелковицы красной (*Morus Rubra* L.) / Ю. А. Вахрушева, И. И. Селина, Э. Т. Оганесян // Фармация и фармакология. – 2015. – № 2. – С. 4-6.
16. Способы тестирования антиоксидантных свойств лекарственных препаратов в лабораторных условиях и возможности использования этих показателей в клинической практике / Ю. А. Панесенко, Е. И. Ременякина, В. Д. Левичкин, А.А. Басов, И.И. Павлюченко // Научные ведомости Белгородского государственного

национального исследовательского университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2013. – № 25. – С. 239-243.

17. Энциклопедия лекарственных растений / Н. И. Мазнев. - 3-е изд., испр. и доп. – Москва : Мартин, 2004. – 496 с.

18. Дул, В. Н. Исследование красных листьев винограда на содержание фенольных соединений и макро- и микроэлементов / В. Н. Дул, А. А. Кирьянов, Я. Ф. Копытько, Т.А. Сокольская, Т.Д. Даргеева // Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке. - 2010. - Т. 12, № 1. - URL: <https://elibrary.ru/contents.asp?id=33754299>(дата обращения: 10.10.2019 ). - Текст: электронный (Дата обращения: 10.10.2019).

19. Яницкая, А. В. Количественное определение дубильных веществ травы девясила британского / А. В. Яницкая, В. В. Гукасова, А. И. Страхова В.Н. Емцева, А.С. Рабичева // Современная фармация: проблемы и перспективы развития / под редакцией Ф. Н. Бидаровой. - Владикавказ, 2015. - С. 168-170.

20. Гарбузов, Г. А. Рак можно победить! Ловушка для раковых клеток / Г. А. Гарбузов / Питер - 2012. - 320 с.; Персик обыкновенный. Фармакологические свойства. - Текст: электронный. - URL : <http://lektrava.ru/encyclopedia/persik-obuyknovennyu/>) (Дата обращения: 15.05.2017).

21. «Лечебные свойства». - Текст: электронный. - URL: <https://seyakha-school.ru/cvetki-persika-lechebnye-svoystva.html> (Дата обращения: 15.05.2017) .

22. «Олексин» - источник чудодейственных биофлавоноидов.-Текст: электронный.-URL: [http://oleksinperm.ru/production/oleksin/instruktsii\\_po\\_primeneniyu](http://oleksinperm.ru/production/oleksin/instruktsii_po_primeneniyu) (Дата обращения: 15.05.2017).

23. «Акан» - инструкция по применению. – Текст: электронный. - URL: <http://www.transferfactory.ru/akan>. (Дата обращения: 03.03.2019)

24. «Флавоперсин».-Текст:электронный.-URL: [http://milapharma.ru/catalog/flavopersin\\_10ml/](http://milapharma.ru/catalog/flavopersin_10ml/) (Дата обращения: 03.03.2019).

25. «Персифен»- инструкция по применению. - Текст: электронный. - URL: <https://ru-transferfactor.ru/persifen> (Дата обращения: 03.03.2019).

26. «Софол» - инструкция по применению - Текст: электронный. - URL : [https://ilive.com.ua/health/safol\\_124960i15828.html](https://ilive.com.ua/health/safol_124960i15828.html) (Дата обращения: 13.11.2019)
27. Плешаков, А.А. Препараты на основе экстракта листьев персика. Использование в медицинской практике / А. А. Плешаков, В. А. Потоцкий. - Москва; Пермь, 2019.- С. 8-15.
28. Патент № 2445113-2012. Российская Федерация. Способ получения противовоспалительного и ранозаживляющего средства : заявл. 11.06.2010 : опубл. 20.03.2012 / С. Н. Пятаков, С. Р. Федосов.
29. Дул, В. Н. Фитохимическое изучение жирорастворимого комплекса, выделенного из листьев винограда (*Vitis Vinifera L*) / В. Н. Дул, Т. Д. Даргаева, К. А. Пупыкина, Я.Ф. Копытько, Т.А. Сокольская // Медицинский вестник Башкортостана. - 2011. - Т. 6, № 3. - С. 128-130.
30. Ибрагимов, З. Р. Листья облепихи как источник БАВ / З. Р. Ибрагимов, Т. Р. Гайтова // Актуальные проблемы химии, биологии, биотехнологии. – Владикавказ, 2016. – С. 323-325.
31. Противораковое действие этанольного экстракта листьев облепихи (*Hipporhae rhamnoides L.*) на клетки острой миелоидной лейкемии человека *in vitro* / Г. Т. Жаманбаева, М. К. Мурзахметова, С. Т. Тулеуханов, М. П. Даниленко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2014. - Т. 158, № 8. - С. 221-224.
32. Состав и содержание флавоноидов листьев *Hipporhae rhamnoides L.*, произрастающей в Азербайджане / Э.Н. Новрузов, З.Г. Мамедов, Л.А. Мустафаева, Х.М. Мирюсифова, А.М. Зейналова // Химия растительного сырья. - 2018. – № 3. – С. 209-214.
33. Корохов, Д. А. Получение экстракта листьев облепихи на вибрационном экстракторе / Д. А. Корохов // Научный вклад молодых ученых в развитие пищевой и перерабатывающей промышленности АПК : сборник научных трудов VII конференции молодых ученых и специалистов научно исследовательских институтов Отделения хранения и переработки сельскохозяйственной продукции Россельхозакадемии / ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии, Россельхозакадемия. – 2013. – С. 194-197.

34. Легостева А. Б. Листья вишни и перспективность их использования в фитотерапии / А. Б. Легостева, Н. А. Анисимова, Е. Н. Загребельная // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. - 2010. - Т. 5, № 1. - С. 361.
35. Мотылева, С.М. Антиоксидантная активность плодов и листьев вишни и черешни в Подмосковье / С.М. Мотылева, Н.Г. Морозова, М.Е. Мертвищева // Плодоводство и ягодоводство России. - 2014. - Т. 38, № 2. - С. 20-27.
36. Мотылева, С. М. Изучение содержания аскорбиновой и хлорогеновой кислот в листьях некоторых видов вишни / С. М. Мотылева, М. Е. Мертвищева, Е. Н. Джигадло // Селекция, генетика и сортовая агротехника плодовых культур. – Орел, 2011. – С. 77-81.
37. Сафонова, И. А. Изучение фенольных соединений листьев сливы колючей (*Prunus Spinosa L.*) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / И. А. Сафонова, В. Я. Яцюк // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2011. – № 4 (99). – С. 165-169.
38. Изучение элементного состава плодов и листьев сливы колючей (*Prunus Spinosa L.*) / И. А. Сафонова, В. Я. Яцюк, А. А. Фатьянов, А. А. Сафонов // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – № 10-3 (129). – С. 46-48.
39. Физиолого-биохимические и анатомические характеристики листьев сливы, связанные с инактивацией вируса шарки / Л. Л. Бунцевич, Н. И. Ненько, Г. К. Киселева, М. А. Костюк, Е. Н. Беседина // Научные труды Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства. – 2016. – Т. 9. – С. 216-219.
40. Сафонова, И. А. Изучение фенольных соединений листьев сливы колючей (*PRUNUS SPINOSA L.*) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // И. А. Сафонова, В. Я. Яцюк // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2011. – № 4 (99). – С. 165-169.
41. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной /

- Т. А. Брежнева, Е. И. Недолужко, Е. Е. Логвинова, А.А. Гудкова, А.И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2018. - № 2. - С. 306-311.
42. Смирнова, Н. С. Сравнительное фитохимическое исследование почек и листьев рябины обыкновенной и гибридной, произрастающих на территории Самарской области / Н. С. Смирнова // Аспирантские чтения 2016. - Самара, 2016. - С. 231-232.
43. Ясенявская, А. Л. Определение биологически активных веществ в листьях калины обыкновенной (*Viburnum opulus*) / А. Л. Ясенявская, А. А. Цибизова, А. К. Абукова // Фармацевтические науки: от теории к практике. - Астрахань, 2016. - С. 161-163.
44. Григорьева, К. В. Фармакогностический анализ листьев калины *Boul de neig* / К. В. Григорьева, А. А. Мальцева // Молодые ученые и фармация XXI века. - Москва, 2015. - С. 26-29.
45. Бескровная, Д. Р. Листья бузины черной как источник лекарственных средств / Д. Р. Бескровная, З. А. Алиева, Н. Н. Вдовенко-Мартынова // Беликовские чтения. - Пятигорск, 2018. - С. 77-80.
46. Аляева, Ц. В. Количественное определение рутина в листьях бузины черной методом капиллярного электрофореза / Ц. В. Аляева, В. В. Федотова // Беликовские чтения: материалы VI Всероссийской научно-практической конференции. - 2018. - С. 107-110.
47. Аляева, Ц. В. Количественное определение рутина в листьях бузины черной методом спектрофотометрии / Ц. В. Аляева, В. В. Федотова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции сборник научных трудов. - Пятигорск, 2018. - С. 66-68.
48. Попова, Т. С. Флавоноиды листьев и почек черной смородины / Т. С. Попова, О. Г. Потанина // Фармация. - 2011. - № 6. - С. 19-21.
49. Кузнецова, А. А. Антиокислительные свойства экстракта листьев черной смородины / А. А. Кузнецова, С. Н. Петрова // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. - 2012. - № 2 (3). - С. 146-147.

50. Медведева, Т. М. Разработка технологии смородины чёрной листьев экстракта сухого / Т. М. Медведева, И. Е. Каухова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. - 2012. - № 10-2 (129). - С. 118-122.
51. Кузнецова, А. А. Исследование состава и антиоксидантных свойств экстрактов листьев черной смородины / А. А. Кузнецова, С. Н. Петрова, Л. С. Одинцова // Актуальные вопросы развития науки / редактор А. А. Сукиасян. - Уфа, 2014. - С. 216-218.
52. Ророва Т. S. Качественное и количественное определение катехинов в почках и листьях черной смородины / Т. S. Ророва // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2014. - № 1(6). - С. 22-24.
53. Стандартизация листьев черной смородины / Т. С. Попова, В. Н. Кузина, Д. М. Попов, О. Г. Потанина // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2014. - № 2 (7). - С. 100-106.
54. Попова, Т. С. Изучение флавоноидов почек и листьев черной смородины методом ВЭЖХ / Т. С. Попова, Д. М. Попов, Н. С. Терёшина // Фармация. - 2015. - № 1. - С. 13-15.
55. Петрова, С. Н. Состав плодов и листьев смородины черной *Ribes nigrum* (обзор) / С. Н. Петрова, А. А. Кузнецова // Химия растительного сырья. - 2014. - № 4. - С. 43-50.
56. Попова, Т. С. Тритерпеновые сапонины в листьях и почках черной смородины / Т. С. Попова, Н. С. Терёшина // Фармация. - 2015. - № 8. - С. 3-5.
57. Мушкина, О. В. Хроматографический анализ смородины черной листьев / О. В. Мушкина, Т. Т. Толкач, Е. С. Данченко // Актуальные вопросы фармации Республики Беларусь / под редакцией Л. А. Реутской. - Минск, 2016. - С. 44-46.
58. Пиюкова, Ю. В. Аскорбиновая кислота в листьях смородины черной / Ю. В. Пиюкова, С. М. Сулиев // День фармацевтического факультета ВолгГМУ. - 2016 / под редакцией Н. В. Роговой. - Волгоград, 2016. - С. 137-139.
59. Хандусенко, Е. А. Содержание дубильных веществ в листьях черной и красной смородины / Е. А. Хандусенко // Актуальные проблемы химии и образования. -

Астрахань, 2018. - С. 36-38.

60. Ажбаева, А. Г. Содержание дубильных веществ в листьях смородины черной и красной в сравнении / А. Г. Ажбаева // Актуальные проблемы химии и образования. - Астрахань, 2018. - С. 109-111.

61. Кантан, А. Д. Антиоксидантная активность густых экстрактов листьев черной и красной смородины / А. Д. Кантан, Ю. В. Яргунова, С. Н. Петрова // Наука XXI века: теория, практика и перспективы: международная научно-практическая конференция // Ответственный редактор А. А. Сукиасян. - 2015. - С. 10-12.

62. Полифенольный состав листьев крыжовника отклоненного и шелковицы черной / С. Л. Пеливанова, И. И. Селина, О. А. Андреева, Э. Т. Оганесян // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. - 2012. - № 22-1(141). - С. 170-173.

63. Аджиахметова, С. Л. Сравнительный анализ аминокислотного состава листьев крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L) Mill.) / С. Л. Аджиахметова // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 1. - С. 374.

64. О химическом составе листьев крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L) Mill.) / С. Л. Аджиахметова, О. А. Андреева, Н. А. Туховская, Э. Т. Оганесян // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. - Пятигорск, 2014. - С. 6-7.

65. Фенольные соединения и пектиновые вещества листьев крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L) Mill.) / С. Л. Аджиахметова, Д. И. Поздняков, Н. М. Червонная, Л. П. Мыкоц, А. В. Воронков, Э. Т. Оганесян // Фармация и фармакология. - 2018. - Т. 6, № 2. - С. 121-134.

66. Изучение процесса адсорбции пектиновых веществ листьев крыжовника отклоненного на границе двух фаз / С. Л. Аджиахметова, Л. П. Мыкоц, Н. М. Червонная, И. И. Харченко, Н. А. Туховская, Э. Т. Оганесян // Фармация. - 2018. - Т. 67, № 8. - С. 37-43.

67. Нестерова, О. В. Фитохимическое обоснование использования листьев крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L) Mill.) в качестве натурального энтеросорбента / О. В. Нестерова, М. В. Санькова // Достижения вузовской науки-

2019. - Пенза, 2019. - С. 122-126.

68. Санькова, М. В. Исследование сорбционной способности листьев крыжовника отклоненного / М. В. Санькова, О. В. Нестерова // Медико-фармацевтический журнал "Пульс". - 2019. - Т. 21, № 8. - С. 91-96.

69. Нужная, Т. В. Анализ содержания микроэлементов в листьях ирги круглолистной, произрастающей в донецкой области / Т. В. Нужная // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. - 2013. - № 1 (331). - С. 121-123.

70. Виноградова, Н. А. Микроскопический анализ плодов и листьев ирги обыкновенной / Н. А. Виноградова, М. О. Болотских, В. П. Попович // Молодежный инновационный вестник. - 2017. - Т. 6, № 2. - С. 340-341.

71. Куклина, А. Г. Фитохимический анализ плодов и листьев ирги (*Amelanchier Medik.*) в культивируемых и инвазионных популяциях / А. Г. Куклина, В. Н. Сорокопудов, Н. С. Цыбулько // Плодоводство и ягодоводство России. - 2017. - Т. 49. - С. 182-185.

72. Дроздова, И. Л. Изучение микродиагностических признаков листа ирги колосистой / И. Л. Дроздова, Е. И. Минаковат // Инновационные технологии в фармации / под редакцией Е. Г. Приваловой. - Иркутск, 2019. - С. 265-269.

73. Морфолого-анатомическое исследование органов кизила обыкновенного (*Cornus mas L.*) семейства кизиловые (*Cornaceae Dumort.*) / Т. А. Шаталова, Е. Н. Хромцова, И. С. Луговой // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2013. - Т. 15, № 3-6. - С. 2004-2007.

74. Хасанова, Д. А. Кизил как лекарственное растение / Д. А. Хасанова // Биология и интегративная медицина. - 2016. - № 4. - С. 45-54.

75. Разработка технологии и анализ экстракта листьев кизила жидкого / Т. А. Шаталова, А. Ю. Айрапетова, Л. А. Мичник, В.И. Погорелов, Е.Н. Хромцова, И.С. Луговой, Л.А. Саджая // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2012. - Т. 14, № 5-3. - С. 768-770.

76. Изучение биологического действия кизила листьев экстракта жидкого / Т. А. Шаталова, С. А. Кулешова, Л. А. Мичник, О.В. Мичник, Л.А. Саджая, А.Ю.

- Айрапетова, В.И. Погорелов, Н.С. Ляхова, И.С. Луговой // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 2. - С. 437.
77. Разработка методов сквозной стандартизации количественного определения суммы флавоноидов в листе малины и в сухом экстракте листа малины / Е. В. Казначеева, В. Н. Давыдова, Т. А. Сокольская, И. А. Самылина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2011. - № 5. - С. 4-5.
78. Казначеева, Е. В. Фармакогностическое изучение и стандартизация листа малины (*Rubus idaeus* L.) и сухого экстракта: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук: 14.04.02 / Казначеева Е. В. ; Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений. – Москва, 2012. -118 с.
79. Величко, В. В. Сравнительный фармакогностический анализ листьев и плодов малины обыкновенной / В. В. Величко, Д. Л. Макарова // Медицина и образование в Сибири. - 2015. - № 4. - С. 16.
80. Дергачева, Ж. М. Фитохимический анализ листьев малины обыкновенной / Ж. М. Дергачева, Н. С. Гурина / Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. - Витебск, 2016. - С. 218-220.
81. Сбойчакова, А. Ю. Экстрактивные вещества листьев малины обыкновенной, заготовленной в воронежской области / А. Ю. Сбойчакова, А. С. Чистякова, А. А. Мальцева // Молодые ученые и фармация XXI века. - Москва, 2015. - С. 126-128.
82. Сбойчакова, А. Ю. Элементный состав листьев малины обыкновенной, заготовленных в воронежской области / А. Ю. Сбойчакова, А. А. Мальцева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ. – Воронеж, 2016. - С. 506-509.
83. Полухина, Т. С. Биологически активные вещества в листьях малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.) / Т. С. Полухина, С. М. Мамедова, Э. М. Гаджиева / Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации. – Пенза, 2017. - С. 231-233.
84. Полухина, Т. С. Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты в листьях малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.) / Т. С. Полухина, С.

- М. Мамедова, Э. М. Гаджиева // Инновационные научные исследования: теория, методология, практика. - Пенза, 2017. - Ч. 2. - С. 255-257.
85. Полухина, Т. С. Изучение количественного содержания дубильных веществ в листьях малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.) / Т. С. Полухина, С. М. Мамедова, Э. М. Гаджиева // Фундаментальные и прикладные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации. - Пенза, 2017. - Ч. 4. - С. 240-242.
86. Анализ аминокислотного и элементного состава листьев малины обыкновенной, заготовленных в воронежской области / А. А. Мальцева, И. М. Коренская, А. Ю. Шевцова, А.С. Чистякова, А.И. Сливкин, С.А. Каракозова // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2017. - № 3. - С. 100-105.
87. Вдовенко-Мартынова, Н. Н. Фитохимическое исследование листьев ежевики сизой - *Rubus caesius* L. / Н. Н. Вдовенко-Мартынова, С. Н. Степанюк // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. - 2010. – № 7. - С. 37-40.
88. Костюкова, А. А. Антиоксидантная активность листьев ежевики, заготовленных в воронежской области / А. А. Костюкова, А. С. Чистякова, А. А. Мальцева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ. - Воронеж, 2016. – С. 338-341.
89. Костюкова, А. А. ТСХ анализ флавоноидов ежевики листьев, заготовленных в воронежской области / А. А. Костюкова, А. С. Чистякова, А.А. Мальцева // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. - Ижевск, 2016. - С. 33-35.
90. Мелкадзе, Р. Г. Листья кавказской ежевики (*Rubus caucasicus* L.) - перспективное сырье для производства травяного чая / Р. Г. Мелкадзе // Химия растительного сырья. - 2015. - № 1. - С. 155-166.
91. Магометова, Э. Ш. Изучение аминокислот и органических веществ в листьях ежевики сизой / Э. Ш. Магометова, С. Л. Аджихметова // Новая наука: Теоретический и практический взгляд. - 2017. - Т. 2, № 4. - С. 160-161.

92. Мелкадзе, Р. Г. Товароведческий анализ листьев ежевики кавказской / Р. Г. Мелкадзе // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. - Барнаул, 2017. - С. 122-124.
93. Мальцева, А. А. Исследование биостимулирующей активности листьев ежевики / А. А. Мальцева, А. А. Костюкова // Фармация будущего - 2017 / под редакцией Е. Е. Чупандиной. - Воронеж, 2017. - С. 54-57.
94. Касянюк, Е. Ю. Стандартизация листьев ежевики сизой / Е. Ю. Касянюк, О. В. Мушкина // Рецепт. - 2018. - Т. 21, № 1. - С. 57-66.
95. Магометова, Э. Ш. Изучение химического состава листьев ежевики сизой (*Rubus caesius* L.) / Э. Ш. Магометова // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. - Волгоград, 2017. - С. 792.
96. Магометова, Э. Ш. Изучение полифенольного состава листьев ежевики сизой (*Rubus caesius* L.) / Э. Ш. Магометова, С. Л. Аджихметова, Л. Б. Губанова // Беликовские чтения. – Пятигорск, 2018. – С. 28-31.
97. Брежнева, Т. А. Определение содержания дубильных веществ и суммы БАВ-антиоксидантов в листьях ежевики различных сортов / Т. А. Брежнева, М. В. Попова // Фундаментальная наука и технологии. - Норт-Чарлстон, 2018. - С. 133-135.
98. Брежнева, Т. А. Листья ежевики разных сортов как перспективный источник биологически активных веществ – антиоксидантов / Т. А. Брежнева, М. В. Попова, А. И. Сливкин // II Международная научная конференция «Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства» по направлению «Метаболомика и качество жизни». – Москва, 2019. С. 66-71.
99. Морфолого-анатомическое исследование листьев фейхоа *Feijoa sellowiana* Berg / Н. Н. Вдовенко-Мартынова, Н. В. Кобыльченко, Т. И. Блинова, Х. М. Додова / Фармация и фармакология. - 2015. - № 1 (8). - С. 4-10.
100. Определение элементного состава листьев фейхоа (*Feijoa sellowiana* Berg.) / Х. М. Додова, Н. Н. Вдовенко-Мартынова, Н.В. Благоразумная, Н.В. Кобыльченко, Т.И. Блинова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. - Ижевск, 2016. – С. 20-22.

101. Нестерова, О. А. Содержание флавоноидов в листьях жимолости синей / О. А. Нестерова // Исследовательский потенциал молодых ученых: взгляд в будущее. – Тула, 2014. – С. 109-111.
102. Яцюк, В. Я. Элементный состав некоторых видов сырья *AESCULUS HIPPOCASTANUM L.* / В. Я. Яцюк, О. А. Елецкая // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. - 2017. - № 26 (275). - С. 158-167.
103. Исследование петиолярной анатомии листьев каштана конского как перспективного источника биологически активных соединений / П. В. Белов, В. А. Куркин, В. М. Рыжов, Л.В. Тарасенко, Т.О. Каганова // Аспирантский вестник Поволжья. – 2019. – № 1-2. – С. 6-12.
104. Трашаева, П. И. Морфолого-анатомический анализ листьев каштана конского как перспективного источника биологически активных соединений / П. И. Трашева // Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты. – Самара, 2018. - С. 382-383.
105. Саушкина, А. С. Фитохимическое исследование листьев и цветков каштана / А. С. Саушкина, Л. Н. Савченко, Т. Т. Лихота // III Гаммермановские чтения. - Санкт-Петербург, 2017. - С. 110-113.
106. Нестерова, Н. В. Идентификация фенольных соединений в листьях яблони лесной (*Malus silvestris Mill.*) / Н. В. Нестерова, И. А. Самылина // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине / под редакцией И. А. Самылиной, А. Н. Луферова. - Москва, 2017. - С. 158-161.
107. Нестерова, Н. В. Сравнительная оценка суммарного содержания дубильных веществ в листьях яблони лесной и домашней зимних сортов / Н. В. Нестерова // Научные исследования: теория, методика и практика. - Чебоксары, 2017. - С. 94-96.
108. Нестерова, Н. В. Влияние условий экстракции на выход фенольных соединений листьев яблони лесной и домашней / Н. В. Нестерова // Научные исследования: векторы развития // главный редактор О. Н. Широков. - Чебоксары,

2017. - С. 11-14.

109. Карапетян, Т. Д. Некоторые аспекты фитохимического исследования листьев абрикоса *Armeniaca vulgaris* L. (Rosacea) / Т. Д. Карапетян, В. С. Мирзоян, Р. М. Анисян // Вестник фармации. - 2014. - № 2 (64). - С. 14-19.

110. Саякова, Г. М. Фитохимический анализ основных компонентов листьев грецкого ореха / Г. М. Саякова, Э. М. Бисенбаев, А. А. Мүсірәли // Здоровье семьи - 21 век. - 2017. - № 2 (2). - С. 51-58.

111. Ильбалиева, З. З. Экстрактивные вещества листьев грецкого ореха и их фитохимическое исследование / З. З. Ильбалиева // Инновации и перспективы современной науки. Естественные науки: материалы конференции. - 2018. - С. 245-246.

112. Мелкадзе, Р. Г. Кумарины листьев грузинских сортов инжира / Р. Г. Мелкадзе // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья / под редакцией Н. Г. Базарновой, В. И. Маркина. - Барнаул, 2012. - С. 279-282.

113. Куридзе, М. Г. Изучение биополимеров листьев инжира для практического применения / М. Г. Куридзе, Т. И. Иосебидзе, Е. Д. Гугава // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине. - Москва, 2016. - С. 356-357.

114. Мухитдинов, А. А. Получение суммы фурукумаринов из листьев инжира (*Ficus carica* L.) и разработка методов их количественного определения / А. А. Мухитдинов, К. А. Убайдуллаев // Вестник магистратуры. - 2014. - № 5-1 (32). - С. 46-51.

115. Селекция персика и ее результаты в Никитском ботаническом саду / А. В. Смыков, О. С. Федорова, Т. В. Шишова, Ю. А. Иващенко // Сборник научных трудов ГНБС. - 2015. - Т. 140.

116. Абиьфазова, Ю. С. Биохимическая оценка плодов персика в условиях черноморского побережья Краснодарского края // Russian Agricultural Sciences. – 2015. - № 6. - Р. 49.

117. Куркин, В. А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов) / В. А. Куркин. - 2-е изд., перераб. и доп. - Самара: Офорт,

2007. - 1239 с.

118. Сычев, А. И. Персики: Мечта Северного Садовода / А. И. Сычев // Сады России. - 2016. - № 11.

119. Опанасенко, Н. Е. О распространении и засухоустойчивости персика / Н. Е. Опанасенко, Т. С. Елманова // Бюллетень ГНБС. - 2017. - Вып.123. - С. 65.

120. Селекция персика и ее результаты в Никитском ботаническом саду / А. В. Смыков, О. С. Федорова, Т. В. Шишова, Ю. А. Иващенко // Сборник научных трудов ГНБС. - 2015. - Т. 140.

121. Каньшина, М. В. Персик в средней полосе России / М. В. Каньшина, В. А. Низяев // Сады России. - 2016. - № 12.

122. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения / под редакцией Г. П. Яковлева, К.Ф. Блиновой, - Санкт-Петербург : Издательство СПХФА, 2002.

123. Опанасенко, Н. Е. О распространении и засухоустойчивости персика / Н. Е. Опанасенко, Т. С. Елманова // Бюллетень ГНБС. - 2017. - Вып. 123. - С. 65.

124. Химический состав плодов гибридных форм персика / А. В. Смыков, А. А. Рихтер, О. С. Федорова, Т. В. Шишова, Ю. А. Иващенко // Бюлетень ДНБС. - 2013. - Вып. 108. - С. 32.

125. Селекция персика и ее результаты в Никитском ботаническом саду / А. В. Смыков, А. А. Рихтер, О. С. Федорова // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. - 2014. - № 2 (23). - С. 7-12.

126. Персик обыкновенный. Фармакологические свойства. – Текст: электронный. - URL: <http://lektrava.ru/encyclopedia/persik-obyknovennyy/>) (Дата обращения: 20.11.2019).

127. Левон, В. Ф. Содержание фенольных соединений и флавоноидов в листьях и побегах *Zizyphus Jujuba Mill* / В. Ф. Левон, М. Ю. Карнатовская // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2013. – № 109. – С. 65-69.

128. Оценка биологической активности растительных экстрактов, богатых флавоноидами, для использования в продуктах функционального питания / Н. А. Ломтева, Е. И. Кондратенко, С. К. Касимова, Л. А. Яковенкова //

Продовольственная безопасность: научное, кадровое и информационное обеспечение. - Воронеж, 2014. - С. 429-432.

129. Турсыматова, О. И. Биологическая активность флавоноидов / О. И. Турсыматова, М. М. Дильмаханова // Наука и Мир. - 2015. - Т. 1, № 5. - С. 28-29.

130. Benthath, A. Vitamin P / A. Benthath, S. Rusznyak, A. Szent-Gyorgy // Nature, 1937. - P. 326.

131. Турсыматова, О. И. Биологическая активность флавоноидов / О. И. Турсыматова, М. М. Дильмаханова // Наука и Мир. - 2015. - Т. 1, № 5. - С. 28-29.

132. Тринеева, О. В. Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, С. С. Воропаева // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2013. - № 2. - С. 215-219.

133. Разработка экспрессных методов аналитической экстракции каротиноидов из растительного сырья / Н. В. Ульяновский, Д. С. Косяков, К.Г. Боголицын, А.Д. Ивахнов, А.С. Амосова // Химия растительного сырья. – 2012. – № 4. – С. 147-152.

134. Лубсандоржиева, П. Б. Количественное определение каротиноидов в экстрактах сухих и многокомпонентных сборах / П. Б. Лубсандоржиева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – № 3(67). – С. 197-199.

135. Дадали, В. А. Каротиноиды. Биодоступность, биотрансформация, антиоксидантные свойства / В. А. Дадали, В. А. Тутельян, Ю. В. Дадали, Л. В. Кравченко // Вопросы питания. – 2010. – Т. 79, № 2. – С. 4–18.

136. Каротиноиды: строение, биологические функции и перспективы применения / В. И. Дейнека, А. А. Шапошников, Л. А. Дейнека, Т.С. Гусева, С.М. Вострикова, Е.А. Шенцева, Л.Р. Зактрова // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2008. – № 6. – С. 22–24.

137. Голубкина, Н. А. Биологическое значение каротиноидов / Н. А. Голубкина, О. Н. Пышная, Н. В. Бондарева // Овощи России. – 2010. – № 2(8). – С. 26-40.

138. Количественное определение дубильных веществ в траве горца почечуйного / А. А. Мальцева, А. С. Чистякова, А. А. Сорокина, А.И. Сливкин, А.С. Ткачева,

- П.М. Карлов // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – № 2. – С. 203-205.
139. Tannins and their Influence on Health / K. Macakova, B. Kolečkár, L. Cahlíková, J. Chlebek, A. Hošťálková, K. Kuča, D. Jun, L. Opletal // *Recent Advances in Medicinal Chemistry*. – 2014. – Vol. 1. – P. 159-208.
140. Галияхметова, Э. Х. Сравнительное изучение содержания дубильных веществ в листьях лимонника китайского, интродуцированного в республике Башкортостан / Э. Х. Галияхметова, Е. Г. Егорова, Н. В. Кудашкина // *Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине*. – Москва, 2016. – С. 200-202.
141. Молдошев, А. М. Определение содержания аскорбиновой кислоты (витамина С) в овощах и фруктах Чуйской долины / А. М. Молдошев, Ж. Т. Темирбекова // *Наука и новые технологии*. – 2015. – № 1. – С. 28-30.
142. Исследование содержания витамина С в лекарственных растениях брянской области / А. С. Моцепуро, М. Ю. Якушева, А. П. Косюк, И. В. Зюнева // *Advanced science*. – Пенза, 2017. – Ч. 1. – С. 47-50.
143. Арьян, М. В. К изучению кумаринов донника лекарственного травы, как растительной субстанции в технологии фитопрепаратов / М. В. Арьян, А. О. Иртегова // *Инновации в здоровье нации*. – Санкт-Петербург, 2018. – С. 13-17.
144. Абышев, А. З. Природные и синтетические кумарины и флавоноиды / А. З. Абышев, Э. М. Агаев, Р. А. Абышев // *Наука и образование*. – 2014. – 482 с.
145. Coumarin hybrids as novel therapeutic agents / S. Sandhu, Y. Bansal, O. Silakari, G. Bansal // *Bioorganic & medicinal chemistry*. – 2014. – Vol. 22, No. 15. – P. 3806-3814.
146. Sweetman, S. C. *Martindale: The Complete Drug Reference*. 36th Edition / S. C. Sweetman. – London: Pharmaceutical Press, 2009. – 3694 p.
147. Канжигалина, З. К. Биологическая роль и значение микроэлементов в жизнедеятельности человека / З. К. Канжигалина, Р. К. Касенова, А. Ш. Орадова // *Вестник КазНМУ*. – 2013. – № 5(2).
148. Hepatoprotective effect of *Prunus Persica* leaves extract against carbon

- tetrachloride induced hepatic injury in rat / Preeti Chaudhary, Ravinder Kumar Mehra, Ratendra Kumar, Shamim Ahamad // *Der Pharmacia Lettre.* – 2015. – No 7(2). – P. 150-153.
149. Suppressive Effect of Peach Leaf Extract on Glucose Absorption from the Small Intestine of Mice / M. Shirosaki, T. Koyama, K. Yazawa // *Biosci Biotechnol Biochem.* – 2012. – No. 76(1). – P. 89-94.
150. Supercritical fluid extraction of *Prunus persica* leaves and utilization possibilities as a source of phenolic compounds / Aslihan Kazan, Halil Koyu, Irem Comre Turu, Ozlem Yesil-Celiktas // *Journal of Supercritical Fluids.* – 2014. – Vol. 92. – P. 55-59.
151. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 3 т. - 14-е изд. – М., 2015.–[Электронный ресурс] –Режим доступа : [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_3/HTML/953/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_3/HTML/953/index.html) (Дата обращения: 20.11.2019).
152. ОСТ 91500.05.001-00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.
153. Фитохимический и товароведческий анализ лекарственного растительного сырья: учебное пособие к практическим занятиям по фармакогнозии / под редакцией Л. С. Теслова. – 2-е изд., испр. – Санкт-Петербург: Изд-во СПХФА, 2008. – 168 с.
154. Бубенчикова, В. Н. Исследование каротиноидов девясила иволистного / В. Н. Бубенчикова, А. В. Азарова // *Современные аспекты разработки и совершенствования состава и технологии лекарственных форм.* – Курск. 2011. – С.297-298.
155. Государственная фармакопея Российской Федерации XII издания, часть 1. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 223 С.
156. Клышев, Л. К. Флавоноиды растений / Л. К. Клышев, В. А. Бандюкова, Л. С. Алюкина. – Алма-Ата: Наука, 1978. – 220 с.
157. Краснов, Б. А. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Б. А. Краснов, Т. П. Березовская, Н. В. Алексеюк. – Томск: Изд-во ТГУ, 1987. – 184 с.

158. Химический анализ лекарственных растений / Н. И. Гринкевич, Л. Н. Сафронич. – Москва: Высшая школа, 1983. – 176 с.
159. Беликов, В. В. Избирательный метод анализа флавоноидов в фитохимических препаратах / В. В. Беликов, Т. В. Точкова, Л. Г. Колесник // Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств: материалы докладов Всесоюзной конференции. – Москва, 1991. – Т. 2, Ч. 2. – С. 13, 142.
160. Беликов, В. В. Реакции комплексообразования в анализе флавоноидов / В. В. Беликов, Т. В. Точкова // Фенольные соединения и их физиологические свойства. – Алма-Ата, 1973. – С. 168-172.
161. Беликов, В. В. Спектрофотометрия комплексных соединений флавоноловых смесей / В. В. Беликов, Т. В. Точкова // Современные проблемы фармацевтической науки и практики : тезисы докладов II Съезда фармацевтов УССР. – Киев, 1972. – С. 572-575.
162. Бубенчиков, Р. А. Изучение фенольных соединений фиалки полевой методом ВЭЖХ / Р. А. Бубенчиков, Н. Ф. Гончаров // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – № 3. – С. 18-21.
163. Эль Мабруки Хаким. Разработка состава и технологии лекарственных средств на основе сухих экстрактов грыжника голого травы: диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук: 14.04.01 / Эль Мабруки Хаким; [Место защиты: Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия]. – Санкт-Петербург, 2015. – С. 48.
164. Прозоровский, В. В. Экспресс метод определения средней летальной дозы / В. В. Прозоровский, В. М. Прозоровская // Фармакология и токсикология. – 1978. – № 4. – С. 497-502.
165. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под редакцией А. Н. Миронова. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с.
166. Иванцова, Л. В. К исследованию антиоксидантной активности листьев Персика обыкновенного — *Persika vulgaris folia* / Л. В. Иванцова, В. Д. Белоногова, Д. К. Гуляев // Традиционная медицина. - 2019. - № 3 (58). - С. 10-13.
167. Потанина, О. Г. Совершенствование стандартизации и контроля качества

лекарственного растительного сырья и лекарственных форм из него на основе микроскопического метода исследования: диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук: 15.00.02 / Потанина Ольга Георгиевна. – Москва, 2004. – 424 с.

168. Самылина, И. А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие: в 2-х томах / И. А. Самылина, О. Г. Аносова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – Т. 1. – 192 с.

169. Фармакогностическое исследование персика обыкновенного листьев / Л. В. Иванцова, О. Л. Блинова, А. А. Гилева, В. Д. Белоногова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2017. - Том 12, № 6 (72). - С. 108-111.

170. Кулбаева Т.В., Иванцова Л.В., Гилева А.А. Микроскопический анализ листьев персика обыкновенного / Т.В. Кулбаева, Л.В. Иванцова, А.А. Гилева // Вестник ПГФА. -2016. - № 17 - С. 183

171. Ivantsova L.V., Belonogova V.D., Gulyaev D.K., The study of the elemental composition of leaves, a dense extract of common peach - *Persica vulgaris* Mill / L.V. Ivantsova, V.D. Belonogova, D.K. Gulyaev // Scientific research of the sco countries: synergy and integration, (Пекин, 2019).

172. Иванцова, Л. В. Определение флавоноидов в листьях персика обыкновенного: валидация методики / Л. В. Иванцова, В. Д. Белоногова, А. А. Гилева // Фармация. – 2018. - Том 67, № 7. - С. 27-31.

173. Патент № 2132197-1999. Российская Федерация. Средство, обладающее противоопухолевым и иммуномодулирующим действием ("олексин") : заявл. 01.04.1999: опубл. 27.06.1999 / А. А Плешаков, В. Ф. Петров, Г. М Сафонова, А. Б. Перевозчикова.

174. Патент № 2233668-2004. Российская Федерация. Способ получения препарата фенольной природы из растительного сырья : заявл. 20.05.2003 : опубл. 10.08.2004 / Г. М Сафонова, А. В Казьянин.

175. Патент № 2604141-2016. Российская Федерация. Способ получения препарата фенольной природы из растительного сырья: заявл. 11.12.2014 : опубл. 10.12.2016 / А. В. Кулаков.

176. Патент № 2627590-2017. Российская Федерация. Способ получения

- биологически активной добавки к пище из растительного сырья: заявл. 21.04.2016: опубл. 09.08.2017 / П. А. Мокин, В. А. Несчисляев, Е. В. Орлова.
177. Бекетов, Н. В. Оценка планов технико-экономической эффективности развития производства / Н. В. Бекетов, Е. А. Извольская, П. Н. Бекетов // Анализ экономической эффективности. - 2008. № 1. - С. 2-8.
178. Разработка способа получения сухого экстракта из сбора «Гастрофит» / Я. В. Пешкова, А. А. Маркарян, К. А. Красильникова, Т. Д. Даргаева // Естественные и технические науки: научный журнал. - 2010.
179. Сорокин В.В. Исследование влияния ряда хлорорганических растворителей в составе двухфазных систем экстрагентов на извлечение флавоноидов из лекарственного растительного сырья / В.В. Сорокин, И.Е. Каухова, В.В. Вайнштейн, Е.В. Холодных, В.В. Сердюк // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов / Пятигорская ГФА. - 2008. - С. 333-335.
180. Левин Б.Д., Федюлин А.С. Влияние гидромодуля на выход биологически активных веществ / Б.Д. Левин, А.С. Федюлин // Вестник КрасГАУ. - 2006. - №2 – С. 266.
181. Идентификация фенольных соединений в сборе «Гастрофит» методом ВЭЖХ / Я.В. Пешкова, К.А. Красильникова, А.А. Маркарян // Естественные и технические науки: научный журнал. - 2010.
182. Kwon, D.-J. Chemical constituents from the stem bark of *Acer barbinerve* / D.-J. Kwon, Y.-S. Bae // Chemistry of Natural Compounds. - 2011. - Vol. 47, № 4. - P. 636-638.
183. Иванцова, Л. В. Разработка технологии экстракционного препарата из листьев персика обыкновенного (*Persica vulgaris* Mill.). Гармонизация подходов к фармацевтической разработке / Л. В. Иванцова, Е. И. Молохова // Сборник тезисов II Международной научно-практической конференции ( Москва, РУДН, 14 ноября 2019 г.).
184. Иванцова Л.В., Забоева А.И., Хафизова Г.Ф. Исследование противовоспалительной активности биологически активной добавки к пище

«Оксифрин» / Л.В. Иванцова, А.И. Забоева., Г.Ф. Хафизова // Вестник ПГФА. - 2015. - № 15 - С. 89

185. Иванцова Л.В., Молохова Е.И., Рудакова И.П., Зверева Е.В. Изучение острой токсичности и противовоспалительной активности экстракционного препарата из листьев персика обыкновенного / Л.В. Иванцова, Е.И. Молохова, И.П. Рудакова, Е.В. Зверева // Сборник статей IV Всероссийской научно-практической конференции (Пенза, 30 октября 2019 г).

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

Проект

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**

«Утверждаю»

Ф.И.О.

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

---

**Персика обыкновенного листа**

*Persicae vulgaris folia*  
порошок.

**ФС 42 – XXXXX –**  
цельные, измельчённые,

Срок введения установлен  
с « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ г.

Срок действия  
до « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ г.

Собранные в период вегетации (в конце августа) и высушенные листья культивируемого дерева персика обыкновенного - *Persica vulgaris* Mill., сем. розоцветных - Rosaceae

---

**Издание официальное**

**Перепечатка воспрещена**



**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**  
федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
**«Пермская государственная  
фармацевтическая академия»**  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России)  
Юридический адрес: ул. Екатерининская, д.101,  
г. Пермь, 614990  
Почтовый адрес: ул. Полевая, д.2, г. Пермь, 614990  
Тел/факс (342) 233-55-01; 236-90-50;  
E-mail: [perm@pfa.ru](mailto:perm@pfa.ru); <http://www.pfa.ru>  
ИНН 5902291011; КПП 590201001

Генеральному директору ФГБУ  
«Научный центр экспертизы средств  
медицинского применения»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации д.м.н.  
Олефиру Ю.В.

14 НОЯ 2019 № 039/1205

Глубокоуважаемый Юрий Витальевич!

Направляем Вам проекты фармакопейных статей «Персика обыкновенного листа» и «Якорцев стелющихся трава», разработанные сотрудниками кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава РФ для рассмотрения вопроса о включении в Государственную Фармакопею РФ.

Приложения:

1. ФС «Персика обыкновенного листа» - 2 экз.
2. Обоснование спецификации проекта ФС «Персика обыкновенного листа» - 2 экз.
3. Инструкция по сбору и сушке персика обыкновенного листьев - 2 экз
4. ФС «Якорцев стелющихся трава» - 2 экз.
5. Обоснование спецификации проекта ФС «Якорцев стелющихся трава» - 2 экз.

Ректор ФГБОУ ВО ПГФА  
Минздрава России  
к.ф.н., доцент

А.Ю. Турышев

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО ПГФА

Минздрава России, кандидат

фармацевтических наук, доцент

А.Ю. Турышев

« 11 / 2019 г.



**ИНСТРУКЦИЯ  
ПО СБОРУ И СУШКЕ ПЕРСИКА ОБЫКНОВЕННОГО ЛИСТЬЕВ**

г. Пермь

2019 г

Персик обыкновенный (*Persica vulgaris*) – дерево высотой 3-5 м с ветвями, образующими широкую крону. Листья продолговато – ланцетные длиной 8-15 см, шириной 2-3,5 см, очередные, эллиптические. Цветки розовые или красные, многочисленные, неодинаковые по размерам, сидячие. Появляются раньше листьев, на короткой цветоножке. Плоды - сочные костянки, обычно крупные, яйцевидные, опушенные или голые. Косточка бороздчатая, ребристая.

Заготавливают с медицинской целью листья персика обыкновенного.

Листья простые, черешковые, без прилистников. Листовые пластины продолговато-ланцетной формы, длиной от 8 до 15 см, шириной от 2 до 3,5 см. Верхушка листа заостренная, основание клиновидное. Край листовой пластинки пильчатый. Жилкование перистое. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, коричневатозеленый, с нижней - светло-зеленый. Запах своеобразный, ароматный. Вкус водного извлечения горький.

Ареал диких видов персика – горные районы Китая. Персик обыкновенный является важной промышленной косточковой культурой на юге России. Персик обыкновенный культивируют в Китае, Европейском Союзе, США, Турции, Аргентине, Бразилии, Южной Африке, Мексике, Чили, Японии, Австралии, Канаде, Украине, Таджикистане, Армении, Молдове, России.

В России персик выращивают в Северо-Кавказском регионе, Краснодарском и Ставропольском краях, Ростовской области.

В качестве сырья используют листья. Сырье заготавливают в период созревания плодов (в августе - сентябре в зависимости от района).

Сушат листья персика на открытом воздухе в тени под навесом или на чердаках, разложив их тонким слоем (толщиной 5 – 7 см) и периодически перемешивая. В хорошую погоду сырье высыхает за 3 – 5 дней. Сушку прекращают, когда листья хорошо ломаются. Выход сухого сырья составляет 30 – 32% от массы свежесобранного. Допускается искусственная сушка при температуре 35 – 40<sup>0</sup>С.

Согласно требованиям фармакопейной статьи, признаки сырья следующие:

*Цельное сырье.* Цельные или частично измельченные листья, простые, черешковые, без прилистников. Листовые пластины продолговато-ланцетной формы, длиной от 8 до 15 см, шириной от 2 до 3,5 см. Верхушка листа заостренная, основание клиновидное. Край листовой пластинки пильчатый. Жилкование перистое. Цвет листьев с верхней стороны зеленый, коричневатозеленый, с нижней - светло-зеленый. Запах своеобразный, ароматный. Вкус водного извлечения горький.

*Измельченное сырье.* Кусочки листовых пластинок различной формы и черешков, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. При рассмотрении под лупой видны кусочки листовых пластинок с пильчатым краем. Кусочки черешков с желтовато-белой древесиной и светло-коричневой корой.

Цвет измельченного сырья от зеленого, темно-зеленого до коричневатозеленого цвета. Запах своеобразный, ароматный. Вкус водного извлечения горький.

*Порошок.* Порошок от зеленого, темно-зеленого до коричневатозеленого цвета, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Запах своеобразный, ароматный. Вкус водного извлечения горький.

Согласно требованиям фармакопейной статьи, числовые показатели сырья следующие:

*Цельное сырье.* Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1 %; потеря в массе при высушивании не более 8,0 %; золы общей не более 7,5 %; золы не растворимой в растворе хлористоводородной кислоты не более 5,0 %; органической примеси не более 1,0 %; минеральной примеси не более 1,0 %; других частей растения, не соответствующих описанию внешних признаков не более 2,0 %.

*Измельченное сырье.* Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1 %; потеря в массе при высушивании не более 8,0 %; золы общей не более 7,5 %; золы не растворимой в растворе хлористоводородной кислоты не более 5,0 %; органической примеси не более 1,0 %; минеральной примеси не

более 1,0 %; других частей растения, не соответствующих описанию внешних признаков не более 2,0 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм не более 5,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм не более 5,0 %.

*Порошок.* Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1 %; потеря в массе при высушивании не более 8,0 %; золы общей не более 7,5 %; золы не растворимой в растворе хлористоводородной кислоты не более 5,0 %; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм не более 5,0 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 0,18 мм не более 5,0 %.

Сырье, персика обыкновенного листа упаковывают в мешки бумажные многослойные по ГОСТ 2226-88 или мешки тканевые по ГОСТ 30090-93 не более 20 кг. Тара должна быть чистой, сухой и однородной для всей партии сырья.

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

Маркировка транспортной упаковки должна соответствовать ГОСТ 14192-96.

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

Транспортируют персика обыкновенного листа в соответствии с ГОСТ 6077-80 в сухих, чистых, не имеющих постороннего запаха, крытых транспортных средствах.

Хранить сырье необходимо на стеллажах или подтоварниках в сухих, чистых, хорошо вентилируемых складских помещениях, не зараженных амбарными вредителями.

Срок годности сырья 3 года.

Персика обыкновенного листа используют как антиоксидантное, противовоспалительное средство. Для производства экстракционных препаратов (настойки, сухого и жидкого экстрактов).

#### Литература

1. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 3 т. - 14-е изд. – М., 2015. – [ Электронный ресурс] - Режим доступа : [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_3/HTML/953/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_3/HTML/953/index.html) (Дата обращения: 20.11.2019).
2. ГОСТ 2226-88 - Мешки бумажные. Технические условия.
3. ГОСТ 6077-80 - Сырье лекарственное растительное. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение
4. ГОСТ 14192-96 - Маркировка грузов.
5. ГОСТ 30090-93 - Мешки и мешочные ткани. Общие технические условия.

**УТВЕРЖДАЮ**

Директор

ООО «НПП «Укрпромвест-05»

(г. Киев, ул. Янгинская, 5Б)

В.В.Визир

«  »    2020 г.**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

**Предмет внедрения:** методика количественного определения суммы флавоноидов в персика обыкновенного листьев

**Автор (разработчик):** аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Иванцова Любовь Витальевна в соавторстве.

**Источник информации:** методика составлена по материалам кандидатской диссертации Иванцовой Л.В. на тему: «Фармакогностическое исследование, стандартизация персика обыкновенного листьев и разработка экстракта густого на его основе»

**Внедрено:** ООО «НПП «Укрпромвест-05»

**Цель внедрения:** апробация показателей качества персика обыкновенного листьев в условиях контрольно-аналитической лаборатории предприятия.

**Ответственный за внедрение:** Технолог ООО «НПП «Укрпромвест -05» Покотило Екатерина Петровна

**Эффективность и значимость внедрения:** методика используется для оценки качества персика обыкновенного листьев.

**Апробация внедренческой документации:** В условиях контрольно-аналитической лаборатории ООО «НПП «Укрпромвест-05» изучена методика количественного определения суммы флавоноидов в персика обыкновенного листьях.

Технолог

ООО «НПП «Укрпромвест-05»

Покотило Е.П.

**УТВЕРЖДАЮ**  
Генеральный директор  
ООО «НПК «Лаборатория  
красоты и здоровья»  
(Московская обл., г. Протвино,  
Завелской проезд, д. 6а)  
О.В. Архипов  
2020 г



### АКТ ВНЕДРЕНИЯ

**Предмет внедрения:** методика количественного определения суммы флавоноидов в персика обыкновенного листьев

**Автор (разработчик):** аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Иванцова Любовь Витальевна в соавторстве.

**Источник информации:** методика составлена по материалам кандидатской диссертации Иванцовой Л.В. на тему: «Фармакогностическое исследование, стандартизация персика обыкновенного листьев и разработка экстракта густого на его основе»

**Внедрено:** ООО «Научно-производственное предприятие «Лаборатория красоты и здоровья»

**Цель внедрения:** апробация показателей качества персика обыкновенного листьев в условиях контрольно-аналитической лаборатории предприятия.

**Ответственный за внедрение:** главный технолог ООО «Научно-производственное предприятие «Лаборатория красоты и здоровья» Леньшина Екатерина Романовна

**Эффективность и значимость внедрения:** методика используется для оценки качества персика обыкновенного листьев.

**Апробация внедренческой документации:** В условиях контрольно-аналитической лаборатории ООО «Научно-производственное предприятие «Лаборатория красоты и здоровья» изучена методика количественного определения суммы флавоноидов в персика обыкновенного листьях.

главный технолог

ООО «НПК «Лаборатория красоты и здоровья»



Леньшина Е.Р.

**УТВЕРЖДАЮ**

Генеральный директор

ООО «Апифитофарм»

(г. Пермь, ул. Трамвайная 33а)

 Н.А. Степанова«01»  2019 г**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

**Предмет внедрения:** методика количественного определения суммы флавоноидов в персика обыкновенного листьях

**Автор (разработчик):** аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России Иванцова Любовь Витальевна в соавторстве.

**Источник информации:** методика составлена по материалам кандидатской диссертации Иванцовой Л.В. на тему: «Фармакогностическое исследование, стандартизация персика обыкновенного листьев и разработка экстракта густого на его основе»

**Внедрено:** ООО «Апифитофарм»

**Цель внедрения:** апробация показателей качества персика обыкновенного листьев в условиях контрольно-аналитической лаборатории предприятия.

**Ответственный за внедрение:** инженер-лаборант ООО «Апифитофарм» Скобелева Ксения Васильевна

**Эффективность и значимость внедрения:** методика используется для оценки качества персика обыкновенного листьев.

**Апробация внедренческой документации:** В условиях контрольно-аналитической лаборатории ООО «Апифитофарм» изучена методика количественного определения суммы флавоноидов в персика обыкновенного листьях.

Инженер-лаборант

ООО «Апифитофарм»

Скобелева К.В.

«Утверждаю»  
 Проректор по учебной работе ФГБОУ ВО СамГМУ  
 Минздрава России, доктор фармацевтических наук,  
 профессор

Е.В. АВДЕЕВА

« 03 октября » 2019 г.

### АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Иванцовой Любови Витальевны «Фармакогностическое исследование, стандартизация персика обыкновенного листьев и разработка экстракта густого на его основе» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии: зав. кафедрой, д.фарм.н., профессора В.А. Куркина, д.фарм.н., доцента В.Б. Браславского, д.фарм.н., доцента О.Е. Правдивцевой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Иванцовой Л.В., посвященного фармакогностическому исследованию и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и экстракта густого на основе персика обыкновенного листьев, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе. Внедренные результаты способствуют разработке методик диагностики и определения качества персика обыкновенного листьев и экстракта густого на его основе.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,

д.фарм.н., профессор



В.А КУРКИН

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,

д.фарм.н.



В.Б. БРАСЛАВСКИЙ

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,

д.фарм.н.



О.Е. ПРАВДИВЦЕВА

**«Утверждаю»**  
 Проректор по учебно-воспитательной работе  
 ФГБОУ ВО «Пермская государственная  
 фармацевтическая академия» Минздрава России,  
 д.ф.н., доцент Курбатов Е.Р.

«09» февраля 2020 г.

**АКТ**

о внедрении результатов диссертационной работы Иванцовой Любови Витальевны «Фармакогностическое исследование, стандартизация персика обыкновенного листьев и разработка экстракта густого на его основе» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии с курсом ботаники: д.фарм.н., доцента Т.В. Бомбела, к.фарм.н., доцента О.Л. Блиновой, к.фарм.н., доцента А.А. Гилевой, подтверждает использование материалов диссертационного исследования Иванцовой Л.В., посвященного фармакогностическому исследованию и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и экстракта густого на основе персика обыкновенного листьев, в учебном процессе, при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе кафедры.

Внедренные результаты способствуют разработке методик диагностики и определения качества персика обыкновенного листьев и экстракта густого на его основе.

Члены комиссии:

Доктор фарм.н., доцент



Т.В. БОМБЕЛА

Кандидат фарм.н., доцент



О.Л. БЛИНОВА

Кандидат фарм.н., доцент



А.А. ГИЛЕВА

Общество с ограниченной ответственностью  
«Апифитофарм»

УТВЕРЖДАЮ:  
Генеральный директор  
ООО «Апифитофарм»  
 Н.А. Степанова  
«0» ноября 2019 г



## ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ

на производство персика обыкновенного листьев экстракта густого

Общество с ограниченной ответственностью  
«Апифитофарм»

Код ОКПД2 10.89.19.210

**УТВЕРЖДАЮ**  
Генеральный директор  
ООО «Апифитофарм»  
Н.А. Степанова



**Персика обыкновенного листьев экстракт густой**  
**Технические условия**  
**ТУ 10.89.19 – 070 – 46766115 - 2019**

Дата введения *01» ноября* 2019 г

г. Пермь  
2019 г.