

На правах рукописи



Таланов Андрей Александрович

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГОЛУБИКИ БОЛОТНОЙ
(VACCINIUM ULIGINOSUM L.)**

Специальность 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2013

Диссертационная работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ярославская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель - доктор фармацевтических наук, профессор
Фурса Николай Сергеевич
ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава России,
заведующий кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии

Официальные оппоненты: доктор фармацевтических наук, профессор
Белоногова Валентина Дмитриевна
ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России,
заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники

доктор фармацевтических наук, доцент
Гейн Людмила Федоровна
ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России,
заведующий кафедрой общей и биорганической химии

Ведущая организация – ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России

Защита состоится «26» ноября 2013 г. в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения РФ по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» по адресу: г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Отзыв на автореферат просьба отправлять по адресу Диссертационного совета.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «___» _____ 2013 г. и на сайте ПГФА <http://www.pfa.ru> «___» _____ 2013 г.

Автореферат разослан «___» _____ 2013 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета Д 208.068.01,
кандидат фармацевтических наук



Н.В. Слепова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Перспективным видом для использования в научной медицине является голубика болотная (*Vaccinium uliginosum* L.), известное пищевое растение, произрастающее в умеренных и холодных областях северного полушария, в тундровой и арктических зонах. Её ресурсы в Российской Федерации значительные. Только в Западной Сибири биологический урожай плодов может составлять до 300 тыс. т. Родина растения Северная Америка, где оно популярнее черной смородины. В культуре голубика широко распространена в США, Канаде, Гренландии, Аргентине, Польше, Испании.

В народной медицине настой и сок плодов голубики применяют как вяжущее, антиоксидантное, жаропонижающее, противочинготное, общеукрепляющее, радиозащитное средство при дизентерии, гастрите, пиелите, цистите, анемии, при лихорадочных заболеваниях, как укрепляющее и улучшающее циркуляцию сосудов; настой листьев – ранозаживляющее, противодиабетическое, мочегонное, антисептическое средство при сахарном диабете, урологических и кожных заболеваниях.

По данным зарубежных исследователей, употребление плодов голубики замедляет процессы старения головного мозга, защищает от воздействия радиоактивного излучения, предотвращает развитие онкологических заболеваний. В США их используют как источник антиоксидантов, оказывающих защитное действие от канцерогенов, и как средство, замедляющее развитие рака толстого кишечника. Плоды голубики не вызывают аллергических реакций и рекомендуются детям. В настоящее время они входят в состав отечественных («Взвар голубика с травами», «Голубичный нектар», «Леденцы с экстрактами лечебных трав», в том числе голубики (Россия)) и зарубежных («Agel Echo» (США), «Энзимная маска с голубикой и черникой» (Дания)) биологически активных добавок к пище. Вместе с тем, данные о химическом составе голубики носят фрагментарный характер, а по элементному составу, аминокислотам, сравнительной характеристике фенольных соединений отсутствуют.

Диссертационная работа является продолжением исследований представителей семейства вересковых на кафедре фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии (М.С. Коротаева, 2006; Н.Г. Марсов, 2006; С.В. Онегин, 2008; Л.С. Мазепина, 2010; М.Е. Жаворонкова, 2012).

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилось фармакогностическое изучение надземных и подземных органов голубики болотной для выявления возможностей их использования в медицине и разработка нормативной документации на плоды и листья.

Для реализации цели следовало решить следующие задачи:

- проанализировать данные литературы о состоянии фитохимических, фармакологических и морфолого-анатомических исследований голубики болотной;

- сравнить элементный состав различных органов (корни, стебли, листья, цветки, плоды) объекта исследования, определить содержание в них техногенных элементов и оценить их экологическую чистоту;

- предпринять сравнительное изучение веществ первичного обмена (аминокислот и углеводов в свободном и связанном состоянии) в подземных и надземных органах голубики;

- провести качественное обнаружение и адаптировать методики количественного определения отдельных фенольных соединений (фенологликозидов, флавонолов, антоцианов, гидроксикоричных кислот, дубильных веществ) в плодах и листьях растения;

- осуществить фармакологическое изучение отдельных свойств (нейротропных, акто-, гипокси- и стресспротективных) экстракта плодов голубики;

- выявить морфолого-анатомические особенности, определить числовые показатели, составить нормативную документацию на плоды и листья голубики, инструкцию по заготовке плодов.

Научная новизна работы. Впервые с применением современных физико-химических методов анализа (атомно-абсорбционный, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, ВЭЖХ, капиллярный электрофорез, хромато-масс-спектрометрия (ГХ/МС), УФ-спектрофотометрия и др.) проведено фитохимическое изучение надземных и подземных органов голубики. Методом масс-спектрометрии определено 7 макро-, 56 микро- и ультрамикроэлементов, с использованием аминокислотного анализатора «Hitachi» (Япония, модель 835) – 20 аминокислот, методом ВЭЖХ – 3 свободных и капиллярного электрофореза – 5 связанных углеводов в различных органах растения, при ГХ/МС-анализе выявлено 35 веществ, ВЭЖХ – 21 фенольное соединение, из которых идентифицировано 16.

Подобраны и адаптированы методики количественного определения фенологликозидов, флавонолов, гидроксикоричных кислот и дубильных веществ в плодах и листьях голубики болотной, проведен их сравнительный анализ из различных мест произрастания (24 образца плодов - 18 дикорастущих, заготовленных в РФ, и 6 торговых образцов голубики, культивируемой в США, Польше, Аргентине, Испании, Чили и 19 образцов листьев).

Изучены некоторые фармакологические свойства экстракта плодов голубики. Выявлены морфолого-анатомические особенности плодов и листьев растения и определены их числовые показатели.

Практическая значимость работы. В качестве ЛРС предложены плоды и листья голубики болотной. На основании исследований разработаны, внедрены и используются в учебном процессе методики

количественного определения отдельных БАВ (арбутин, флавонолы, антоцианы, гидроксикоричные кислоты) на кафедре фармакогнозии и фармацевтической технологии ЯГМА (акт о внедрении от 15.09.2010), на кафедре управления и экономики фармации и фармакогнозии Воронежского госуниверситета (акт о внедрении от 22.03.2011), на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники ПГФА (акт о внедрении от 14.04.2011), на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники Рязанского ГМУ им. акад. И.П. Павлова (акт о внедрении от 05.09.2011).

Результаты исследований нашли отражение в проектах ФСП «Голубики болотной плоды» и «Голубики болотной листья» для ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика».

Положения, выносимые на защиту:

- результаты определения элементного состава различных органов голубики болотной;
- итоги изучения некоторых веществ первичного и вторичного обмена в отдельных органах растения;
- выявленные особенности фармакологического действия экстракта плодов голубики;
- разработанные нормативные документы на плоды и листья растения.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и обобщены на следующих научно-практических конференциях: «Современные вопросы теории и практики лекарствоведения» (Ярославль, 2007), региональных научно-практических конференциях «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2008-2013), «Актуальные проблемы образования и общества» (Ярославль, 2008, 2011, 2012), «Актуальные вопросы судебно-химических, химико-токсикологических исследований и фармацевтического анализа» (ПГФА, Пермь, 2009), «Влияние антропогенного загрязнения окружающей природной среды на здоровье населения» (Ярославль, 2010), «Гаммермановские чтения-2011» (СПХФА, СПб., 2011), «Современная фармацевтическая наука и практика: традиции, инновации, приоритеты» (Самара, 2011), «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2011), «Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов» (Пермь, ПГФА, 2011), «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє» (Запорожье, 2012), VII międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji «Wykształcenie i nauka bez granic» (Польша, 2012), IX международна научна практична конференция «Бъдещите изследвания – 2013» (Болгария, 2013), на научных конференциях студентов и молодых учёных ЯГМА (Ярославль, 2007-2013), на совместном заседании кафедр: фармакогнозии и фармацевтической технологии, фармацевтической и токсикологической химии, управления и экономики фармации с курсом фармации ИПДО, фармакологии ЯГМА (Ярославль, 2012).

Личное участие автора. Автором осуществлено критическое обобщение литературных данных, сравнительный анализ элементного состава и веществ первичного обмена различных органов голубики, адаптированы методики количественного определения фенольных соединений в плодах и листьях, выявлены отдельные фармакологические свойства экстракта плодов, микродиагностические признаки плодов и листьев, определены их числовые показатели и составлены два проекта ФСП, инструкция по заготовке плодов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02. – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 6 и 7 паспорта «фармацевтическая химия, фармакогнозия».

Публикации материалов исследований. По теме диссертации опубликована 41 научная работа, из них 10 в журналах, в том числе 5 в изданиях, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов», рекомендованных ВАК.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ (номер гос. регистрации №01201052738).

Объем и структура диссертационной работы. Работа изложена на 175 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части (6 глав), общих выводов, списка литературы и приложения на 34 страницах, иллюстрирована 56 рисунками и 60 таблицами. Список литературы включает 234 источник, из них 39 на иностранных языках.

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, определены цели и задачи исследования, показана научная и практическая значимость работы. В обзоре литературы (первая глава) обобщены данные современного состояния о химико-фармакологическом изучении и применении в медицине голубики болотной. Во второй главе представлены материалы и описаны методики качественного и количественного анализа природных соединений. В третьей главе приведены данные исследования элементного состава. В четвертой главе отражены результаты исследования веществ первичного обмена (аминокислоты, углеводы), в пятой - качественного обнаружения и количественного определения фенольных соединений (феногликозидов, флавонолов, антоцианов, гидроксикоричных кислот, дубильных веществ), в шестой - фармакологического изучения экстракта плодов голубики, в седьмой – выявления микродиагностических признаков и определения числовых показателей плодов и листьев.

Приложение включает проекты ФСП «Голубики болотной плоды» и «Голубики болотной листья», инструкцию по заготовке плодов и другие материалы, подтверждающие значимость, проведенных исследований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами фармакогностического исследования служили образцы корней, стеблей, листьев, цветков и плодов голубики болотной, собранные в различных регионах РФ, и торговые образцы плодов голубики культивируемой в США, Аргентине, Польше, Чили, Испании. При этом использовали как классические, так и современные методы анализа, в частности, хроматографию на бумаге (БХ), титриметрические методы, спектрофотометрия (СФ-46), ВЭЖХ с УФ-детекцией (хроматограф «Gilson»), ВЭЖХ с фотометрической детекцией (аминокислотный анализатор «Hitachi», модель 835), капиллярный электрофорез («Applied Biosystem» 273Т), ГХ/МС (газовый хроматограф с масс-селективным детектором 6890N-5973N, Agilent Technologies, США), атомно-абсорбционный анализ, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (масс-спектрометр ELAN-DRC-e). Морфолого-анатомический анализ проводили в соответствии с требованиями ГФ XI с использованием цифровой камеры для микроскопа («Webbers MYscope 200M CCD»). Определение числовых показателей осуществляли руководствуясь методиками, описанными в ГФ XI издания (ГФ XI, вып. 1, 1987; вып. 2, 1989), а разработку проектов нормативной документации – в соответствии с ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» (2000).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Элементный состав

Элементный состав подземных и надземных органов голубики определяли с помощью атомно-абсорбционного и масс-спектрометрического методов и обнаружили, что содержание в них As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Zn соответствовало нормативной документации, принятый в РФ. С использованием масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе ELAN-DRC-e (PerkinElmer, США) в различных органах голубики болотной определено 7 макро-, 56 микро- и ультрамикроэлементов (табл. 1). Ряды убывания содержания химических элементов свидетельствуют об индивидуальных особенностях их накопления в каждом анализируемом органе растения. Больше всего максимальных значений отдельных элементов отмечено в корнях, значительно меньше - в листьях, стеблях, цветках и особенно в плодах, которые наиболее экологически безопасны, так как в них меньше всего содержалось кадмия, свинца, цинка.

Таблица 1 – Результаты масс-спектрометрического определения элементного состава различных органов голубики

Элемент	Содержание, мкг /г					Li	0,0330	0,0320	1,3200	0,0410	0,0049
	Корни	Стебли	Листья	Цветки	Плоды	Lu	0,0005	0,0003	0,0004	<0,0001	0,0001
Макроэлементы, мкг/г						Mn	313,0000	231,0000	610,0000	217,0000	112,0000
Al	145,0000	75,3000	7,4000	58,1000	7,2000	Cu	3,3200	7,3600	5,3200	11,5000	3,6200
K	1457,0000	1088,0000	4582,0000	12184,0000	5875,0000	Mo	0,0990	0,3100	0,0300	0,1500	0,0760
Ca	1034,0000	1439,0000	9443,0000	2237,0000	961,0000	As	<0,0050	<0,0050	4,9800	<0,0050	0,2600
Si	60,5000	55,5000	2232,0000	98,2000	6503,0000	Nd	0,0770	0,0330	0,0170	0,0900	0,0035
Mg	528,0000	623,0000	3339,0000	1520,0000	545,0000	Ni	3,4800	1,9700	1,7400	2,3500	0,3000
Na	55,8000	71,6000	17,0000	56,0000	13,0000	Nb	0,0170	0,0810	0,0120	0,0110	0,0039
P	305,0000	495,0000	948,0000	2621,0000	1549,0000	Sn	0,1600	0,0860	0,0200	0,0380	0,0084
Микро- и ультрамикроэлементы						Pr	0,0200	0,0100	0,0056	0,0310	0,0009
Ba	29,0000	60,2000	49,0000	17,1000	7,5000	Hg	0,0130	0,0074	0,0097	0,0002	0,0035
Be	0,0010	0,0091	-	0,0150	<0,0050	Rb	6,6500	7,0000	14,3000	28,3000	11,4000
B	3,9400	6,1900	19,1000	19,6000	6,2000	Sm	0,0130	0,0620	0,0046	0,0280	0,0012
Br	0,4300	0,0920	128,0000	1,2400	8,9000	Pb	0,9800	1,5600	0,5300	0,4300	0,0620
V	0,4000	0,1800	9,8000	0,0850	0,5300	Se	0,7600	<0,0005	4,3300	<0,0005	0,9700
Bi	0,0890	0,0790	0,0225	0,0280	0,0008	Ag	0,0490	0,1300	0,0380	0,0240	0,0091
W	0,0140	0,0078	0,0250	0,0044	0,0380	Sr	4,4900	7,2300	19,5000	1,3200	0,9200
Gd	0,0150	0,0062	0,0034	0,0020	0,0005	Sb	0,0240	0,0240	0,0160	0,0100	0,0032
Ga	0,1000	0,0300	0,0990	0,0450	0,0630	Tl	0,2000	0,0840	0,0069	0,0015	0,0008
Hf	0,0023	0,0020	0,0036	0,0020	0,0008	Ta	0,0005	0,0008	0,0012	0,0009	0,0009
Ge	0,0360	0,0002	-	<0,0002	-	Ti	5,7000	3,3100	6,1000	3,9500	2,4000
Ho	0,0021	0,0006	0,0006	0,0004	0,0001	Te	-	-	-	-	0,0008
Dy	0,0110	0,0037	0,0028	0,0013	0,0006	Tb	0,0019	0,0005	0,0007	0,0004	0,0002
Eu	0,0028	<0,0001	0,0056	0,0004	0,0006	Th	0,0800	0,0450	0,0054	0,0230	0,0010
Fe	125,0000	72,7000	114,0000	72,0000	87,0000	Tm	0,0009	0,0006	0,0005	0,0001	-
Au	0,0024	0,0044	0,0010	0,0081	0,0009	U	0,0063	0,0034	0,0025	0,0012	0,0010
In	-	-	-	-	0,0003	Cr	3,3600	2,7300	3,7600	3,0200	0,9100
Yb	0,0040	0,0009	0,0015	0,0003	0,0003	Cs	0,1300	0,2200	0,2630	0,3800	0,2900
Y	0,0600	0,0240	0,0160	0,0100	0,0025	Ce	0,0350	0,1300	0,0480	0,0410	0,0300
I	0,4000	0,2900	0,2300	0,3400	0,0510	Zn	64,0000	119,0000	57,1000	63,9000	24,0000
Cd	0,6100	1,6800	0,9500	0,3800	0,1180	Zr	0,1300	0,0940	0,1300	0,1300	0,0204
Co	0,6700	0,1400	0,2000	0,0630	0,0190	Er	0,0042	0,0018	0,0009	0,0003	0,0002
La	0,1900	0,0760	0,0280	0,0170	0,0047						

Вещества первичного обмена

Углеводы. При обнаружении сахаров в свободном состоянии в различных органах голубики болотной хроматографией на бумаге выявлены глюкоза и фруктоза. Наличие свободных сахаров анализировали методом ВЭЖХ на хроматографе Gilson, связанных – методом капиллярного электрофореза на приборе Applied Biosystem 273Т. Сбор и обработка хроматограмм осуществлялась с помощью программ «ЭкоХром» (табл. 2 и 3).

Таблица 2 - Содержание свободных углеводов в органах голубики

Орган	Содержание, %			
	Фруктоза	Глюкоза	Сахароза	Сумма
Корни	0	0	0	0
Стебли	0	0	0	0
Листья	3,18	3,70	0,40	7,28
Цветки	4,60	4,10	0	8,70
Плоды	14,33	9,20	0,50	24,03

Из проведенных исследований следует, что листья, цветки и плоды содержали фруктозу и глюкозу. Кроме того, в плодах и листьях выявлен дисахарид сахароза. Больше всего свободных сахаров определено в плодах с доминированием фруктозы, в меньших концентрациях обнаружена глюкоза и особенно сахароза. В листьях основным компонентом являлась глюкоза, несколько меньше содержалось фруктозы и меньше всего сахарозы.

Среди связанных сахаров в корнях, стеблях, листьях, цветках, плодах отмечены пентозы (арабиноза и ксилоза) и гексозы (галактоза, глюкоза, манноза). При чем, глюкоза накапливалась во всех исследуемых органах, галактоза – лишь в листьях, цветках и плодах, манноза - только в цветках. При этом содержание, как отдельных пентоз, так и их суммы больше всего накапливалось в листьях, несколько меньше – в корнях, стеблях, плодах и меньше всего - в цветках. Максимум гексоз выявлен в плодах, меньше их содержалось в цветках, листьях и особенно в корнях и стеблях. Наиболее значимая сумма связанных сахаров определена в плодах, ниже в листьях и в цветках. Их содержание в корнях и стеблях находилось на одном уровне.

Таблица 3 - Содержание связанных сахаров в органах голубики

Орган	Содержание, %							
	Пентозы			Гексозы				Общая сумма
	Арабиноза	Ксилоза	Сумма	Галактоза	Глюкоза	Манноза	Сумма	
Корни	0,87	3,46	4,33	0	0,74	0	0,74	5,07
Стебли	0,89	3,43	4,32	0	0,62	0	0,62	4,94
Листья	2,20	2,81	5,01	1,80	4,45	0	6,25	11,26
Цветки	1,15	0,84	1,99	0,76	2,05	3,79	6,60	8,59
Плоды	1,60	2,37	3,97	4,27	11,02	0	15,29	19,26

Следовательно, среди свободных углеводов плодов больше всего накапливалось фруктозы, среди связанных – глюкозы.

Аминокислоты. Анализ аминокислот различных органов голубики проводили с помощью аминокислотного анализатора «Hitachi» (Япония, модель 835), результаты которого отражены на рисунках 1-5 и обобщены в таблице 4.

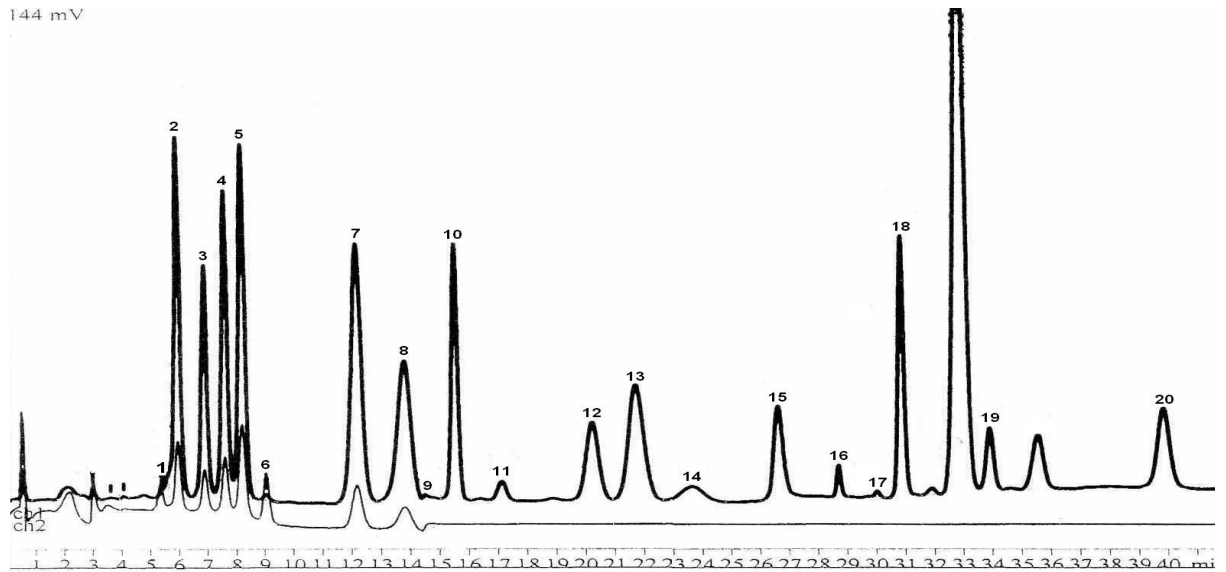


Рис. 1. Хроматограмма аминокислот корней голубики

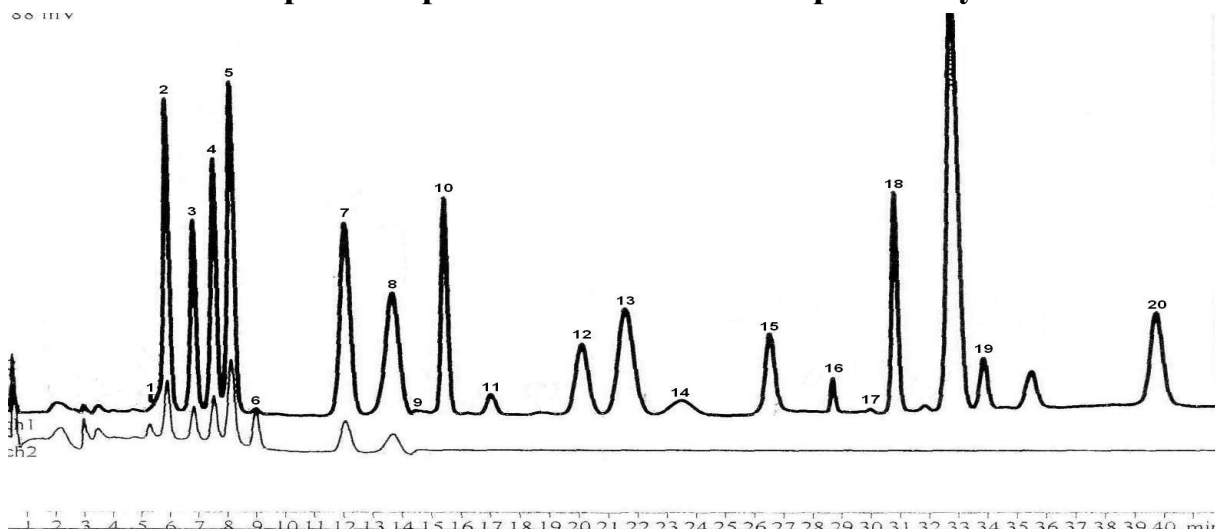


Рис. 2. Хроматограмма аминокислот стеблей голубики

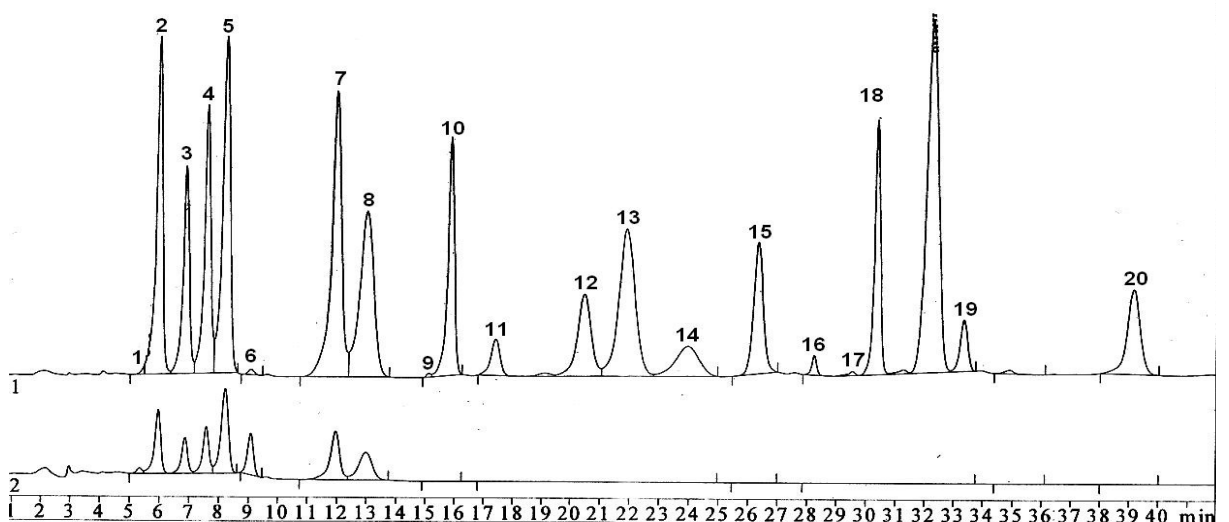


Рис. 3. Хроматограмма аминокислот листьев голубики

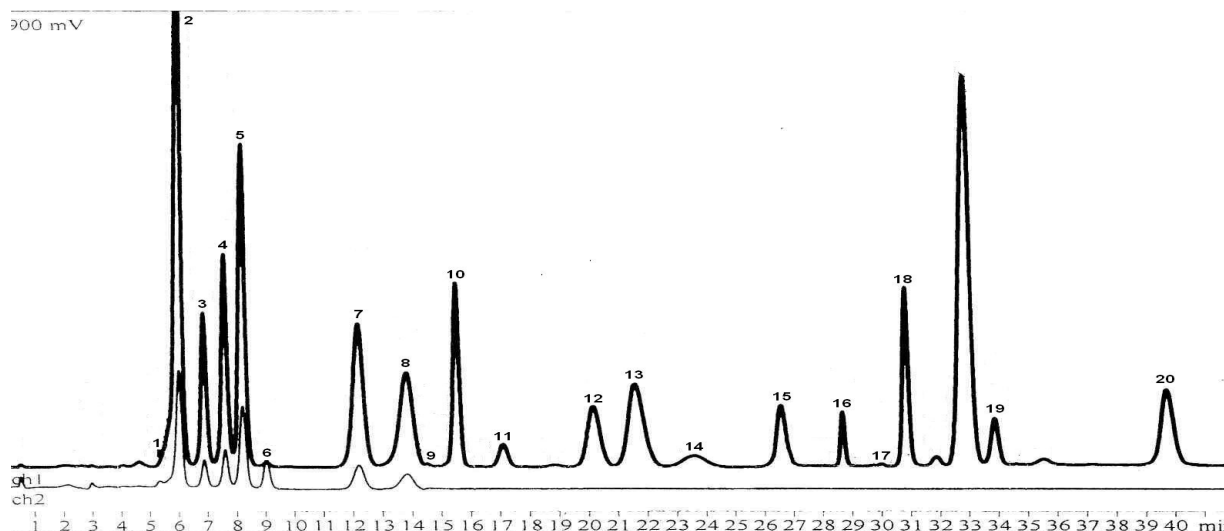


Рис. 4. Хроматограмма аминокислот цветков голубики

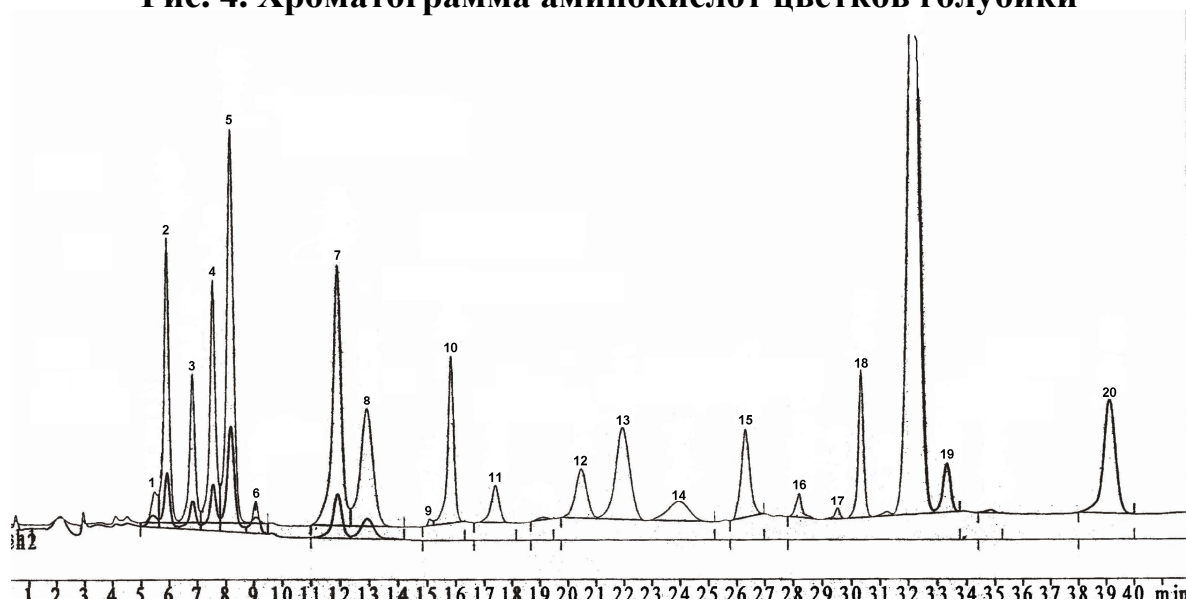


Рис. 5. Хроматограмма аминокислот плодов голубики

Условные обозначения: 1 - оксипролин, 2 - аспарагиновая кислота, 3 - треонин, 4 - серин, 5 - глютаминовая кислота, 6 - пролин, 7 - глицин, 8 - аланин, 9 - цистеин, 10 - валин, 11 - метонин, 12 - изолейцин, 13 - лейцин, 14 - тирозин, 15 - фенилаланин, 16 - оксилизин, 17 - орнитин, 18 - лизин, 19 - гистидин, 20 - аргинин.

В анализируемых органах определено 20 аминокислот, среди которых 8 незаменимых (Val, Ile, Leu, Met, Lys, OH-Lys, Thr, Phe) и 12 заменимых (Ala, Gly, Orn, Ser, Tyr, Cys, Asp, Glu, Arg, His, Pro, OH-Pro). В ряду идентифицированных аминокислот независимо от органа в суммарном выражении преобладали моноаминомонокарбоновые кислоты, меньше содержалось моноаминодикарбоновых, диаминомонокарбоновых и гетероциклических кислот. Больше всего общей суммы аминокислот содержалось в листьях и несколько меньше в цветках. Значительно меньшее её содержание обнаружено в плодах, еще меньше в стеблях и особенно в корнях. Больше всего моноаминомонокарбоновых кислот отмечено в листьях,

моноаминодикарбоновых – в цветках. Плоды характеризуются наибольшей долей заменимых и диаминокарбоновых кислот от общей суммы этих веществ (табл. 4). Среди заменимых аминокислот во всех органах преобладали глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин, глицин, среди незаменимых - валин, лейцин, лизин, фенилаланин. В наименьших количествах выявлены цистеин, оксализин и оксипролин.

Таблица 4 - Содержание аминокислот в органах голубики

Название	Орган, мг/100мг и в % от общей массы									
	Корни		Стебли		Листья		Цветки		Плоды	
	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%
Моноаминомонокарбоновые кислоты										
Аланин	0,09	6,12	0,12	6,12	0,64	7,08	0,41	4,78	0,22	5,79
Валин*	0,09	6,12	0,12	6,12	0,53	5,86	0,45	5,25	0,19	5,00
Глицин	0,10	6,80	0,11	5,61	0,59	6,53	0,40	4,67	0,25	6,58
Изолейцин*	0,06	4,08	0,09	4,59	0,43	4,76	0,35	4,08	0,12	3,16
Лейцин*	0,12	8,16	0,17	8,67	0,94	10,4	0,61	7,12	0,28	7,37
Метионин*	0,01	0,68	0,02	1,02	0,14	1,55	0,10	1,17	0,07	1,84
Серин	0,09	6,12	0,12	6,12	0,51	5,64	0,46	5,37	0,23	6,05
Тирозин	0,03	2,04	0,05	2,55	0,39	4,31	0,17	1,98	0,13	3,42
Треонин*	0,08	5,44	0,10	5,10	0,44	4,87	0,36	4,20	0,15	3,95
Фенилаланин*	0,07	4,76	0,10	5,10	0,53	5,86	0,34	3,97	0,18	4,74
Цистеин	0,01	0,68	0,00	0,00	0,04	0,44	0,02	0,23	0,04	1,05
Сумма	0,75	51,02	1,00	51,02	5,18	57,3	3,67	42,82	1,86	48,95
Моноаминодикарбоновые кислоты										
Аспарагиновая	0,15	10,20	0,20	10,20	0,86	9,51	1,83	21,35	0,34	8,95
Глутаминовая	0,18	12,24	0,26	13,27	1,14	12,61	1,13	13,19	0,66	17,37
Сумма	0,33	22,45	0,46	23,47	2,00	22,12	2,96	34,54	1,00	26,32
Диаминомонокарбоновые кислоты										
Аргинин	0,09	6,12	0,17	8,67	0,59	6,53	0,60	7,00	0,38	10,00
Лизин*	0,10	6,80	0,13	6,63	0,58	6,41	0,48	5,60	0,17	4,47
Оксализин*	0,01	0,68	0,02	1,02	0,04	0,44	0,13	1,52	0,04	1,05
Орнитин	0,01	0,68	0,00	0,00	0,08	0,88	0,02	0,23	0,08	2,11
Сумма	0,21	14,29	0,32	16,33	1,29	14,27	1,23	14,35	0,67	17,63
Гетероциклические кислоты										
Гистидин	0,04	2,72	0,04	2,04	0,17	1,88	0,18	2,10	0,08	2,11
Пролин	0,08	5,44	0,10	5,10	0,39	4,31	0,39	4,55	0,18	4,74
Оксипролин	0,06	4,08	0,04	2,04	0,01	0,11	0,14	1,63	0,01	0,26
Сумма	0,18	12,24	0,18	9,18	0,57	6,30	0,71	8,28	0,27	7,11
Общая сумма аминокислот	1,47		1,96		9,04		8,57		3,80	
незаменимые*	0,54	36,73	0,75	38,27	3,63	40,15	2,82	32,91	1,20	31,58
заменимые	0,93	63,27	1,21	67,73	5,41	59,85	5,75	67,09	2,60	68,42

Методом ГХ/МС в плодах (метанольное и хлороформное извлечение) обнаружены молочная, гликолевая, леволиновая, малоновая, бензойная, янтарная, фумаровая, яблочная кислоты, 1,3-дигидроксиацетон, глицерин, 4-гидроксифенол, 5-оксопролин, гулоновая и манноновая кислоты, глюкоза, рибоза, галактоза, ксилоза, сахароза, пальмитиновая, линолевая, олеиновая, α -линоленовая, стеариновая, бегеновая, церотиновая кислоты, гваякола глюкопиранозид, дигидроантрахинон, кампестерол, β -ситостерол, β -ситостерол-24(28)-ен, стигмастен-5-ен-3-ол, сквален, D-маннопираноза, галактофураноза, в листьях - стигмастен-5-ен-3-ол, неофитодиен, сквален, миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, линоленовая кислоты.

Вещества вторичного обмена

При исследовании фенольного комплекса плодов голубики ВЭЖХ (хроматограф фирмы «Gilson», модель 305, Франция) обнаружено 21 соединение. Они представлены флавонолами (кверцетин, рутин), флаван-3-олами (катехин, эпикатехин), флавонами (лютеолин-7-глюкозид) гидроксикоричными (о-кумаровая, коричная, кофейная, феруловая, хлорогеновая, неохлорогеновая) и гидроксibenзойными кислотами (галловая), кумаринами (дигидрокумарин, умбеллиферон), фенологликозидами (арбутин) (рис. 6 и табл. 5).

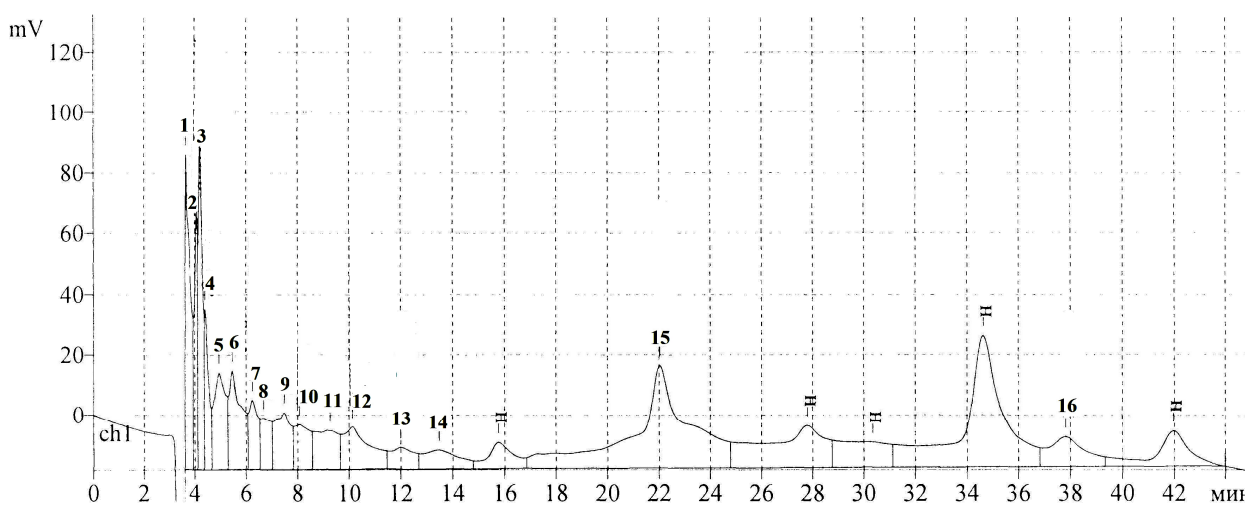


Рис. 6. ВЭЖХ-хроматограмма фенольных соединений метанольного извлечения плодов голубики

Условные обозначения: 1-умбеллиферон, 2-арбутин, 3-галловая кислота, 4-о-кумаровая кислота, 5-ЭГКГаллат, 6-хлорогеновая кислота, 7-кофейная кислота, 8-феруловая кислота, 9-катехин, 10-рутин, 11-неохлорогеновая кислота, 12-дигидрокумарин, 13-эпикатехин, 14-лютеолин-7-гликозид, 15-коричная кислота, 16-кверцетин, н – неидентифицировано.

Таблица 5 - Результаты ВЭЖХ-анализа фенольных соединений метанольного извлечения плодов голубики болотной

№ п/п	Время, мин	Высота, mV	Площадь, mV* сек	Содержание, % от суммы	Вещество
1	3,638	104,07	1417,81	5,19	Умбеллиферон
2	4,063	86,26	747,97	2,74	Арбутин
3	4,196	106,82	1229,67	4,50	Галловая к-та
4	4,397	53,22	596,36	2,18	О-кумаровая к-та
5	4,945	31,95	1011,09	3,70	ЭГКГаллат
6	5,455	32,73	1115,95	4,08	Хлорогеновая к-та
7	6,242	22,93	559,89	2,05	Кофейная к-та
8	6,665	17,06	470,56	1,72	Феруловая к-та
9	7,476	18,81	803,41	2,94	Катехин
10	8,065	14,85	622,10	2,28	Рутин
11	9,268	12,85	805,72	2,95	Неохлорогеновая к-та
12	10,120	14,07	1045,13	3,82	Дигидрокумарин
13	11,980	7,20	450,28	1,65	Эпикатехин
14	13,450	6,22	597,61	2,19	Лютеолин-7-глюкозид
15	22,020	33,99	5124,16	18,75	Коричная к-та
16	37,800	9,80	976,50	3,57	Кверцетин

Нами впервые в плодах голубики обнаружен флавоноид (лютеолин-7-глюкозид), гидроксикоричные кислоты (о-кумаровая, коричная, неохлорогеновая), кумарины (дигидрокумарин, умбеллиферон), гидроксibenзойные кислоты (галловая) и её эфир – эпигаллокатехингаллат.

Количественное определение фенольных соединений

Для количественного определения фенольных соединений нами использованы 19 образцов листьев, собранных в РФ, и 24 образца плодов (18 из РФ и 6 культивируемых в США, Испании, Чили, Аргентине, Польше). Используемые методики адаптированы к объектам исследования после выявления оптимальных условий экстракции (типа экстрагента, степени измельчения сырья, продолжительности и количества экстракций, соотношения сырья к экстрагенту).

Фенологликозиды. При хроматоспектрофотометрическом определении фенологликозидов (табл. 7 и 8) с использованием удельного показателя поглощения арбутина-стандарта фирмы «Sigma» (США) максимум поглощения нами отмечен при длине волны 285 нм, значение его удельного показателя поглощения равно 72,23, коэффициент неполного элюирования – 1,14025.

Гидроксикоричные кислоты. Сумму гидроксикоричных кислот (табл. 7 и 8) определяли методом прямой спектрофотометрии, используя в качестве стандарта хлорогеновую кислоту фирмы «Fluka» (Германия). Её удельный показатель поглощения равен 504,425.

Флавонолы. При количественном определении суммы флавонолов (табл. 7 и 8) методом дифференциальной спектрофотометрии после реакции комплексообразования с алюминия хлоридом пересчет осуществляли на рутин-стандарт (Украина), удельный показатель поглощения которого с алюминия хлоридом равнялся 187,36.

Антоцианы. Из высушенного сырья получали суммарное извлечение с использованием в качестве экстрагента 1% кислоты хлористоводородной. Количественное определение в плодах антоцианов проводили с использованием метода дифференциальной рН – спектрофотометрии. Контроль величины рН осуществляли с помощью рН – метра рН – 150 М с комбинированным электродом ЭСК – 10601/4. Испытуемый раствор и раствор сравнения имели исходное рН, равное 1. При добавлении к анализируемому раствору нескольких капель водного раствора аммиака доводили рН до уровня, равного 4,5. При анализе УФ-спектров выявлен максимум поглощения при $\lambda = 520$ нм, перерасчет проводили на цианидин – 3 – глюкозид (табл.6).

Таблица 6 – Результаты количественного определения антоцианов в плодах голубики

Место сбора	Содержание, %
Ярославская обл., окр. г. Рыбинск, 2009 г	0,76
Ярославская обл., окр. г. Тутаева, 2009 г	0,81
Республика Коми, окр. г. Воркута, 2008 г	0,77
Костромская обл., Костромской р-н, д. Шода, 2009 г	0,67
Ивановская обл., Родниковский р-н, д. Леушиха, 2009 г	0,98
Костромская обл., Костромской р-н, с. Мисково, 2009 г	0,86
Тверская обл., Жарковский р-н., п. Кривая Лука, 2009 г	1,34

Содержание антоцианов в плодах голубики ниже, чем черники. Оно равнялось 0,67 – 1,34%.

Дубильные вещества. Определение дубильных веществ осуществляли по методике ГФ XI (табл. 7 и 8).

Метрологическая характеристика количественного определения упомянутых групп фенольных соединений отражена в таблице 9.

Таким образом, содержание арбутина в плодах голубики колебалось от 0,401% до 2,046%; в плодах культивируемых образцах - от 0,699% до 1,003%; в листьях - от 1,691% до 6,289%.

Содержание суммы гидроксикоричных кислот в плодах голубики находилось в пределах от 0,892% до 2,038%; в плодах голубики культивируемой - 0,365% до 1,178%; в листьях - 2,787% - 7,423%.

Содержание суммы флавонолов в плодах голубики болотной отмечалось в интервале от 0,008% до 0,139%; в листьях - от 2,069% до 4,347%.

Содержание дубильных веществ в плодах дикорастущей голубики составляло от 2,900% до 7,096%; в плодах культивируемой - от 1,223% до 3,814%; в листьях - от 10,412% до 14,629%.

Таблица 7 – Содержание фенольных соединений в плодах голубики, %

№ образ-ца	Арбутин	Флавоноиды	Гидроксикорич-ные кислоты	Дубильные вещества
Дикорастущие образцы				
1	1,9236 ± 0,025	0,0170 ± 0,003	1,2917 ± 0,007	3,3538 ± 0,082
2	1,1489 ± 0,035	0,0670 ± 0,005	1,7828 ± 0,005	4,1562 ± 0,127
3	1,1705 ± 0,028	0,0110 ± 0,001	1,7236 ± 0,002	3,7805 ± 0,165
4	2,0464 ± 0,022	0,0630 ± 0,001	1,3478 ± 0,007	3,7554 ± 0,061
5	1,8351 ± 0,015	0,0520 ± 0,003	1,2695 ± 0,007	3,7617 ± 0,072
6	1,9448 ± 0,021	0,0680 ± 0,003	1,1833 ± 0,007	3,7603 ± 0,102
7	1,4541 ± 0,034	0,0570 ± 0,002	0,9791 ± 0,005	3,7347 ± 0,095
8	1,4963 ± 0,035	0,1390 ± 0,008	0,8924 ± 0,007	4,2174 ± 0,078
9	0,4010 ± 0,015	0,0930 ± 0,007	1,2822 ± 0,005	3,7521 ± 0,127
10	1,1355 ± 0,025	0,0640 ± 0,005	1,7921 ± 0,005	4,1595 ± 0,185
11	1,9052 ± 0,033	0,0350 ± 0,002	2,0383 ± 0,005	7,0963 ± 0,105
12	1,7724 ± 0,022	0,0380 ± 0,003	1,7442 ± 0,005	3,3375 ± 0,161
13	1,5179 ± 0,033	0,0600 ± 0,005	1,8994 ± 0,005	3,6899 ± 0,098
14	1,3458 ± 0,025	0,0270 ± 0,002	1,5623 ± 0,004	4,6087 ± 0,093
15	1,9548 ± 0,035	0,0570 ± 0,006	1,2423 ± 0,008	2,9001 ± 0,093
16	1,9243 ± 0,037	0,0340 ± 0,002	1,0637 ± 0,004	3,7554 ± 0,061
17	0,7636 ± 0,026	0,0080 ± 0,001	1,3230 ± 0,003	3,3454 ± 0,078
18	0,9716 ± 0,035	0,0610 ± 0,003	1,2345 ± 0,002	3,3285 ± 0,076
Культивируемые образцы				
19	0,8254 ± 0,035	0,0420 ± 0,005	0,5790 ± 0,003	1,2234 ± 0,125
20	0,7320 ± 0,035	0,0630 ± 0,004	0,6918 ± 0,003	2,8868 ± 0,091
21	0,9595 ± 0,034	0,0110 ± 0,001	1,0075 ± 0,007	2,0524 ± 0,132
22	0,5994 ± 0,023	0,0570 ± 0,005	0,3654 ± 0,005	2,5438 ± 0,118
23	1,0031 ± 0,032	0,0390 ± 0,004	1,0256 ± 0,004	3,8142 ± 0,105
24	0,6989 ± 0,028	0,0870 ± 0,006	1,1779 ± 0,005	2,1318 ± 0,135

Примечание. Условные обозначения мест сбора плодов голубики: 1 - Владимирская область, окр. г. Владимир (июль 2008 г.); 2 - Вологодская область, Вожегодский район, пос. Вожега (август 2009 г.); 3 - Вологодская область, окр. г. Вологда (июль 2010 г.); 4 - Ивановская область, Родниковский район, д. Леушиха (июль 2009 г.); 5 - Костромская область, Костромской район, д. Шода (август 2008 г.); 6 - Костромская область, Костромской район, д.Шода (август 2009 г.); 7 - Костромская область, Костромской район, с. Мисково (июль 2009 г.); 8 - Костромская область, Буйский район, д. Куребрино (август 2009 г.); 9 - Костромская область, Макарьевский район, пос. Комсомолочка (июль 2009 г.); 10 - Республика Беларусь, Минская область (август 2009 г.); 11 - Республика Коми, окр. г. Воркуты (август 2008 г.); 12 - Республика Коми, окр. г. Сыктывкар (август 2009 г.); 13 - Республика Коми, окр. г. Ухта (июль 2010 г.); 14 - Тверская область, Жарковский район, пос. Кривая Лука (июль 2009 г.); 15 - Ярославская область, окр. г. Рыбинск (август 2009 г.); 16 - Ярославская область, окр. г. Тутаев (август 2009 г.); 17 - Ярославская область, Рыбинский район, п. Тихменево (август 2009 г.); 18 - Ярославская область, Ярославский район, д. Мясково (июль 2010 г.); 19 - Торговый образец из Испании (июль 2010 г.); 20 - Торговый образец из Чили

(июль 2010 г.); 21 - Торговый образец из Польши (июль 2010 г.); 22 - Торговый образец из Аргентины (август 2009 г.); 23 - Торговый образец из США (июль 2010 г.); 24 - Культивируемый образец, Костромская область, Костромской район, с. Мисково (август 2010 г.)

Таблица 8 – Содержание фенольных соединений в листьях голубики, %

№ образца	Арбутин	Флавоноиды	Гидроксикоричные кислоты	Дубильные вещества
1	3,1374 ± 0,025	2,0689 ± 0,023	5,4908 ± 0,067	10,4120 ± 0,212
2	2,6586 ± 0,019	4,2730 ± 0,023	7,4225 ± 0,067	11,6823 ± 0,138
3	1,6913 ± 0,024	3,8603 ± 0,032	6,6523 ± 0,063	11,2439 ± 0,341
4	2,9113 ± 0,031	3,1782 ± 0,017	6,6515 ± 0,065	12,1501 ± 0,253
5	1,8631 ± 0,030	3,5028 ± 0,056	6,8022 ± 0,055	11,7499 ± 0,347
6	3,0765 ± 0,031	4,3466 ± 0,016	6,6634 ± 0,058	12,1501 ± 0,125
7	3,1031 ± 0,031	2,8710 ± 0,043	4,6766 ± 0,065	10,4337 ± 0,128
8	3,0261 ± 0,024	3,1611 ± 0,019	6,8415 ± 0,057	14,6290 ± 0,231
9	2,6294 ± 0,025	4,0959 ± 0,021	3,3687 ± 0,067	11,2673 ± 0,178
10	6,2885 ± 0,020	2,8523 ± 0,049	6,2395 ± 0,055	11,6396 ± 0,405
11	2,7077 ± 0,023	2,7338 ± 0,023	5,2490 ± 0,054	10,8349 ± 0,412
12	2,6363 ± 0,025	3,5291 ± 0,067	7,0009 ± 0,067	10,8511 ± 0,310
13	2,5092 ± 0,019	2,4001 ± 0,054	2,8171 ± 0,052	12,9263 ± 0,295
14	2,0174 ± 0,018	2,3367 ± 0,018	2,7866 ± 0,056	12,4453 ± 0,297
15	2,9183 ± 0,017	2,9268 ± 0,039	6,0687 ± 0,054	13,8219 ± 0,231
16	4,1244 ± 0,032	3,1551 ± 0,065	3,3403 ± 0,053	11,2774 ± 0,354
17	2,6569 ± 0,023	3,2752 ± 0,022	6,5909 ± 0,066	13,2748 ± 0,301
18	1,8574 ± 0,020	3,4509 ± 0,065	6,6404 ± 0,058	12,8969 ± 0,267
19	1,9250 ± 0,026	3,1045 ± 0,027	6,5248 ± 0,056	12,9032 ± 0,421

Условные обозначения мест сбора листьев голубики: 1 - Владимирская область, окр. г. Владимир (сентябрь 2009 г.); 2 - Вологодская область, окр. г. Вологда (август 2008 г.); 3 - Вологодская область, окр. г. Вологда (август 2010 г.); 4 - Вологодская область, Тотемский район, окр. г. Тотма (июль 2008 г.); 5 - Вологодская область, Вожегодский район, пос. Вожега (август 2009 г.); 6 - Ивановская область, Родниковский район, д. Леушиха (июль 2009 г.); 7 - Костромская область, Костромской район, д. Шода (август 2008 г.); 8 - Костромская область, Буйский район, д. Куребрино (август 2009 г.); 9 - Республика Коми, окр. г. Воркута (июль 2006 г.); 10 - Республика Коми, окр. г. Сыктывкар (август 2008 г.); 11 - Республика Коми, окр. г. Сыктывкар (август 2009 г.); 12 - Республика Коми, Усть-Вымский район, п. Жемарт (август 2009 г.); 13 - Северо-восточное побережье озера Байкал, левый берег р. Верхняя Ангара (июль 2006 г.); 14 - Северо-восточное побережье озера Байкал, правый берег р. Верхняя Ангара (июль 2006 г.); 15 - Тверская область, Жарковский район, пос. Кривая Лука (август 2009 г.); 16 - Ямало – Ненецкий автономный округ, г. Ноябрьск (июль, 2006 г.); 17 - Ярославская область, Рыбинский район, д. Дымовское (август 2008 г.); 18 - Ярославская область, Рыбинский район, пос. Тихменево (июль 2010 г.); 19 - Ярославская область, Рыбинский район, д. Мягово (август 2010 г.).

Таблица 9 – Метрологическая характеристика определения фенольных соединений

Орган	n	f	X	S ²	S	S _x	P, %	t(p,f)	ΔX
Арбутин									
Плоды	10	9	1,474	0,0026	0,051	0,016	95	2,26	0,036
Листья	10	9	2,297	0,0019	0,0436	0,014	95	2,26	0,031
Гидроксикоричные кислоты									
Плоды	10	9	1,192	0,0001	0,01	0,003	95	2,26	0,007
Листья	10	9	7,278	0,01	0,1	0,032	95	2,26	0,071
Флавоноиды									
Плоды	10	9	1,040	0,0012	0,016	0,002	95	2,26	0,015
Листья	10	9	3,45	0,001	0,031	0,01	95	2,26	0,023
Дубильные вещества									
Плоды	10	9	3,68	0,024	0,15	0,047	95	2,26	0,107
Листья	10	9	13,44	0,20	0,45	0,142	95	2,26	0,322

Фармакологические исследования

Для исследования поведенческих реакций у лабораторных животных (белых крыс) применяли метод «открытого поля». В группах животных, употреблявших перед экспериментом экстракт голубики и для сравнения (экстракт элеутерококка), достоверно снизился стрессовый ответ на новые, потенциально опасные стимулы. На фоне введения экстракта голубики отмечено достоверное снижение вертикальной двигательной активности (количество подьёмов на задние лапки) по сравнению с интактной и контрольной группой. При этом также несколько была снижена горизонтальная двигательная активность (величина пройденного расстояния) и увеличена эмоциональная реакция животных, но достоверная разница не выявлена.

При изучении адаптогенной активности при моделировании стресс-синдрома (иммобилизацией крыс на спине в течение 24 ч, вследствие чего у них развивался эмоционально-болевым стресс «безвыходной ситуации») предварительно за 40 минут до эксперимента животным внутрижелудочно вводили анализируемые препараты и экстрагент спирт (контрольная группа). Животные интактной группы стрессу не подвергались. Введение животным экстракта голубики достоверно препятствовало стрессорной инволюции тимуса, сохраняя массовый показатель на уровне нормы. Вместе с тем он, как и препарат сравнения, препятствовал увеличению гипертрофии надпочечников.

Следовательно, экстракт голубики оказывал положительное влияние на универсальную сопровождающую стресс «триаду изменений» – инволюцию тимуса, гипертрофию надпочечника, изъязвление слизистой желудка, уступая выраженности стресспротективного эффекта классическому адаптогену.

Разработка нормативной документации

При проведении товароведческого анализа плодов и листьев голубики болотной нами определены по методикам, приведенным в ГФ XI издания, ГОСТ

24027.2-80 показатели влажности, золы общей, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, экстрактивных веществ.

Результаты проведенных нами исследований использованы при разработке для ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика» проектов ФСП «Голубики болотной плоды», «Голубики болотной листья» и проекта «Инструкция по заготовке плодов голубики болотной».

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. С использованием современных методов впервые проведен сравнительный анализ отдельных веществ первичного (углеводов, аминокислот), вторичного (фенольных соединений) обмена и элементного состава подземных и надземных органов голубики болотной, изучены некоторые фармакологические свойства её плодов, разработаны нормативные документы на плоды и листья.

2. При помощи масс-спектрометрического и атомно-абсорбционного анализа в корнях, стеблях, листьях, цветках и плодах голубики определено 7 макро- (Al, Ca, K, Mg, Na, P, Si), 56 микро- и ультрамикроэлементов (Ag, As, Au, B, Ba, Be, Bi, Br, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Hg, Ho, I, In, La, Li, Lu, Mn, Mo, Nb, Nd, Ni, Pb, Pr, Rb, Sm, Sn, Se, Sb, Sr, Ta, Tb, Te, Th, Ti, Tl, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr), имеющих определенное значение в экологическом, токсикологическом, медицинском аспектах и отмечено, что не превышен допустимый уровень токсичных элементов.

3. Прямофазной ВЭЖХ и капиллярным электрофорезом проведено определение углеводов в свободном и связанном состоянии в подземных и надземных органах голубики; в свободном состоянии в листьях, цветках и плодах обнаружены глюкоза и фруктоза, в плодах и листьях – сахароза; в связанном состоянии во всех органах установлено наличие пентоз (арабиноза и ксилоза), гексоз (глюкоза), галактоза отмечена только в надземных органах, манноза – в цветках; отдельные пентозы и их сумма преобладали в листьях, несколько меньше их содержалось в корнях, стеблях и плодах; гексозы - в плодах, меньше в листьях и цветках; наиболее значимое суммарное содержание углеводов в свободном и связанном состоянии отмечено в плодах, значительно меньше - в листьях.

4. С помощью аминокислотного анализатора в различных органах обнаружено 20 аминокислот, из них 8 незаменимых (Val, Ile, Leu, Met, Thr, Phe, Lys, OH-Lys) и 12 заменимых (Ala, Gly, Ser, Tyr, Cys, Asp, Glu, Arg, Orn, His, Pro, OH-Pro), среди которых в суммарном выражении преобладали моноаминокарбоновые и моноаминодикарбоновые кислоты, среди отдельных заменимых аминокислот доминировали Asp, Glu, Ala, Gly, Arg, незаменимых – Leu, Lys, Phe, Val.

5. При ГХ/МС-анализе выявлено в плодах 35, в листьях 9 различных природных соединений, преимущественно первичного обмена, среди которых 9 углеводов, 8 органических и 7 жирных кислот, 1 спирт, 3 стерина.

6. Методом ВЭЖХ в плодах голубики установлено наличие 21 фенольного соединения, из которых идентифицировано 16, относящихся к флавоноидам, гидроксикоричным и гидроксibenзойным кислотам, фенологликозидам, кумаринам, из них 8 веществ впервые.

7. После выявления оптимальных условий проведения применительно к объектам исследования адаптированы спектрофотометрические методики количественного определения отдельных групп фенольных соединений (арбутина, флавонолов, антоцианов, гидроксикоричных кислот), осуществлена метрологическая характеристика и проанализировано их содержание в листьях из 19 мест произрастания в РФ и плодов из 24 мест, в том числе культивируемых в США, Аргентине, Испании, Чили, Польше.

8. При изучении особенностей фармакологической активности отмечено умеренное актопротекторное и стресспротективное действие экстракта плодов голубики.

9. При микроскопическом анализе выявлены микродиагностические признаки плодов и листьев голубики, при проведении их товароведческого анализа определены показатели «Влажность», «Зольность», «Экстрактивные веществ», «Примеси».

10. На основе проведенных исследований составлены проекты ФСП «Голубики болотной плоды» и «Голубики болотной листья», «Инструкция по заготовке плодов голубики болотной».

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Таланов, А.А. Изучение элементного состава и фенольных соединений голубики / А.А. Таланов, Ю.С. Виноградова, Н.Г. Марсов и др. // Современные вопросы теории и практики лекарствоведения: Сб. мат-лов научно-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 25-летию фармац. факультета ЯГМА / Под ред. Н.С. Фурсы. - Ярославль: Найс, 2007.- С. 318-321.

2. Дармограй, С.В. Рентгенофлуоресцентный анализ эссенциальных элементов в траве и листьях семейства гвоздичных и вересковых / С.В. Дармограй, А.В. Искра, А.А. Таланов // Актуальные проблемы образования и общества: Мат-лы научно-практич. конф. с междунар. участием (14 мая 2008 г.). - Т. 1. – Ярославль: ЯГТУ, 2008.- С. 156-157.

3. Таланов, А.А. Атомно-абсорбционный спектральный анализ техногенных элементов листьев и плодов голубики / А.А. Таланов // Сборник научных работ студентов и молодых ученых ЯГМА.- Ярославль: ЯГТУ, 2008.- С. 155-156.

4. Таланов, А.А. Изучение элементного состава листьев голубики / А.А. Таланов, Д.С. Круглов, Н.С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. научн. тр. - Вып. 63. – Пятигорск: ЗАО “Невинномыская город. типография», 2008.- С. 96-98.

5. Месхи, Н. Н. Анализ сайта “Аптечная справка” по номенклатуре лекарственных средств и биологически активных добавок на растительной основе / Н.Н. Месхи ... А.А. Таланов [и др.] // Изыскание и создание природных лекарственных средств: Межвуз. сб. научн. тр. с междунар. участием, посвящ. 25-летию кафедры фармакогнозии и ботаники / Под ред. Н.С. Фурсы.- Ярославль: ЯГТУ, 2009.- С. 206-209.

6. Таланов, А. А. Изучение аминокислотного состава листьев и плодов голубики / А.А. Таланов, Р.Я. Лайпанова, Е.А. Менькова // Изыскание и создание природных

лекарственных средств: Межвуз. сб. науч. тр. с междун. участием, посв. 25-летию кафедры фармакогнозии и ботаники / Под ред. Н.С. Фурсы.- Ярославль: ЯГТУ 2009. – С 269-271.

7. Талашова, С.В. Масс-спектрометрический анализ элементного состава лекарственного растительного сырья различных морфологических групп / С.В. Талашова ... А.А. Таланов, Л.С. Мазепина [и др.] // Изыскание и создание природных лекарственных средств: Межвуз. сб. науч. тр. с междун. участием, посвящ. 25-летию кафедры фармакогнозии и ботаники / Под ред. Н.С. Фурсы.- Ярославль: ЯГТУ, 2009. – С. 271 – 274.

8. Таланов, А.А. Масс – спектрометрическое определение элементного состава плодов голубики / А.А. Таланов, Д.С. Круглов, А.Я. Исаханов [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Вып. 64. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2009. – С. 110 – 111.

9. Талашова, С.В. Изучение аминокислотного состава различных морфологических групп растительного сырья / С.В. Талашова ... А.А. Таланов, М.Е. Жаворонкова [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. – Вып. 64. – Пятигорск: ПГФА, 2009 г. – С. 112 – 113.

10. Таланов, А. А. Углеводы листьев и плодов голубики / А.А. Таланов, Н.С. Фурса // Фармация. - 2009. - № 3. – С. 27 – 28.

11. Таланов, А.А. Спектрофотометрические варианты количественного определения антоцианов в плодах голубики / А.А. Таланов, Е.А. Тяпова, Д.С. Круглов [и др.] // Мат-лы Рос. научно – практ. конф. с междун. участием (28 сентября – 3 октября 2009 г.). – Пермь: ГОУ ВПО ПГФА Росздрава, 2009. – С. 171 – 173.

12. Таланов, А.А. Выявление экологической чистоты и элементного состава листьев голубики / А.А. Таланов, Т.А. Горохова // Изыскание и создание природных лекарственных средств / Межвуз. сб. науч. тр. с междун. участием, посвящ. 25-летию кафедры фармакогнозии и ботаники / Под ред. Н.С. Фурсы. – Ярославль: ЯГТУ, 2009 г. – С. 44 – 50.

13. Таланов, А. А. Изучение аминокислотного состава подземных и надземных органов голубики / А.А. Таланов // Актуальные вопросы медицинской науки, посвящ. 65-летию ЯГМА: сб. науч. работ студентов и мол. ученых Всерос. конф. с междун. участием. – Ярославль: ЯГТУ, 2009. – С. 284 – 285.

14. Таланов, А.А. Анализ свободных и связанных углеводов в подземных и надземных органах голубики / А.А. Таланов, Н.С. Фурса // Рос. медико – биолог. вестник имени академика И. П. Павлова. – 2010. - Вып. №2. – С 130 – 134.

15. Фурса, Н.С. Изучение элементного состава представителей семейств валериановых и вересковых – важное условие их применения в профилактике и лечении патологических состояний / Н.С. Фурса ... А.А. Таланов, Е.А. Тяпова [и др.] // Экологозависимые заболевания «Влияние антропогенного загрязнения окружающей среды на здоровье населения»: Мат-лы 2-ой научно-практ. конф. – Ярославль: ЯГМА, 2010. – С. 120-124.

16. Фурса, Н.С. Анализ аминокислотного состава отдельных видов семейств бурачниковых, валериановых, вересковых, гвоздичных, грушанковых и яснотковых / Н.С. Фурса ... А.А. Таланов, Л.С. Мазепина [и др.] // Фармация. – 2010. - № 4. – С. 22 – 24.

17. Таланов, А.А. Голубика и черника – потенциальные источники противодиабетических средств / А.А. Таланов [и др.] // Вестник Перм. гос. фармац. академии (научно-практ. журнал). –Пермь: ПГФА. - 2010. - №7. – С. 196-198.

18. Тяпова, Е.А. Антоцианы черники и голубики - основа средств для профилактики и лечения болезней глаз / Е.А. Тяпова, А.А. Таланов, Д.С. Круглов [и др.] // Вестник Перм. гос. фармац. академии (научно-практ. журнал). – Пермь: ПГФА. - 2010. - №7. – С. 203 - 204.

19. Таланов, А.А. Сравнительная характеристика аминокислотного состава подземных и надземных органов голубики / А.А. Таланов, Н.С. Фурса, Н.А. Кузьмичева // Вестник Фармации (Беларусь). – 2010. - №1. – С. 9-17.
20. Таланов, А.А. Определение аминокислотного состава различных органов голубики / А.А. Таланов, Е.А. Тяпова, Н.С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Вып. 65. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2010. – С. 128 – 129.
21. Тяпова, Е.А. Исследование аминокислотного состава листьев черники / Е.А. Тяпова, А.А. Таланов, Н.С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Вып. 65. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2010. – С. 133 - 134.
22. Таланов, А.А. Изучение некоторых веществ первичного обмена голубики / А.А. Таланов // Актуальные вопросы медицинской науки: Сб. науч. работ студентов и молодых ученых Всерос. научно-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 1000-летию г. Ярославля. – Ярославль: ЯГТУ, 2010. – С. 374 – 375.
23. Фурса, Н.С. Виды семейства вересковые – потенциальные источники новых урологических средств / Н.С. Фурса ... А.А. Таланов, Е.А. Тяпова [и др.] // Научно-методическая конференция: Гаммермановские чтения – 2011, 1-3 февраля. Сб. науч. тр. – Санкт-Петербург, 2011. – С. 78 – 81.
24. Жаворонкова, М.Е. Поиск арбутиносодержащих видов семейства вересковые, перспективных для применения в урологии / М.Е. Жаворонкова, А.А. Таланов, Е.А. Тяпова [и др.] // Современная фармацевтическая наука и практика: традиции, инновации, приоритеты / Сб. мат-лов Всерос. научно – практ. конф., посвящ. 40 – летию фармац. фак-та Самар. гос. мед. ун-та. – Самара, 2011. – С. 117 – 119.
25. Таланов, А.А. Анализ накопления дубильных веществ в листьях и плодах голубики из различных мест произрастания / А.А. Таланов // Актуальные вопросы медицинской науки: сб. науч. работ студентов и мол. ученых Всерос. научно-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 65-летию студен. науч. об-ва Ярослав. гос. мед. академии. – Ярославль, 2011. – С. 283 – 284.
26. Таланов, А.А. Хроматоспектрометрическое определение арбутина в плодах голубики из разных мест произрастания / А.А. Таланов, Е.А. Тяпова, И.В. Чикина [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. – Вып. 66. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2011. – С. 196 – 197.
27. Таланов, А.А. Использование экологически чистых плодов и лекарственного растительного сырья – основа безопасного питания и лечения / А.А. Таланов, Е.А. Тяпова, М.Е. Жаворонкова [и др.] // Актуальные проблемы образования и общества: Сб. тр. второй Междунар. научно-практ. конф. – Т. 2. – Ярославль: ООО Издательский дом “Углич”, 2011. – С. 107 – 110.
- 28. Тяпова, Е.А. Сравнительное изучение аминокислотного состава плодов черники и голубики / Е.А. Тяпова, А.А. Таланов / Вестник урал. мед. акад. науки: тематический выпуск по фармации. – 2011. - №3/1 (37). – С. 74 – 75.**
29. Таланов, А.А. Особенности химико-фармакологического изучения голубики / А.А. Таланов, Н.С. Фурса // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Мат-ли 4-ї науково-практ. конф. з міжнар. участю. – Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2011. – С. 49 – 50.
- 30. Таланов, А.А. Масс-спектрометрическое определение элементного состава различных органов голубики / А.А. Таланов, Д.С. Круглов, Н.С. Фурса // Рос. медико-биолог. вестник им. акад. И. П. Павлова. – 2012. - Вып. №1. – С. 120 – 125.**
31. Таланов, А.А. Выявление микродиагностических признаков листьев голубики болотной и голубики узколистной / А.А. Таланов // Вестник Перм. гос. фармац. академии (научно-практич. журнал). – Пермь: ПГФА. - 2012. - №9. – С. 213 – 215.

32. Таланов, А.А. Определение содержания флавоноидов в листьях голубики болотной из различных мест произрастания европейской части России / А.А. Таланов // Вестник Перм. гос. фармац. академии (научно-практический журнал). – Пермь: ПГФА. - 2012. - №9. – С. 215 – 217.
33. Таланов, А.А. Изучение влияния настойки голубики на поведенческие реакции крыс / А.А. Таланов, Н.В. Пунегова // Актуальные вопросы медицинской науки: Сб. научн. работ студентов и мол. ученых Всерос. научно-практ. конф. с междуна. участием, посвящ. 70-летию профессора А. А. Чумакова. – Ярославль; ЯГМА, 2012. – С. 56 – 57.
34. Федорова, Ю.В. Морфолого-анатомическое изучение листьев голубики болотной / Ю.В. Федорова, А.С. Горькова, А.А. Таланов // Актуальные вопросы медицинской науки: Сб. научн. работ студентов и мол. ученых Всерос. научно-практ. конф. с междуна. участием, посвящ. 70-летию профессора А. А. Чумакова. – Ярославль: ЯГМА, 2012. – С. 337 – 338.
35. Таланов, А.А. Фармако-биохимическое изучение настойки плодов голубики болотной / А.А. Таланов / Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє: 72 Всеукр. науково-практ. конф. мол. вчених та студентів з міжнар. участю, посвящ. Дню науки (19 – 20 квітня 2012 р.). – Запорожье, 2012. – 223 – 224.
36. Таланов, А.А. Спектрофотометрическое определение гидроксикоричных кислот в плодах и листьях голубики болотной из различных мест произрастания / А.А. Таланов, В.Г. Корниевская, Н.С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Вып. 67. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2012. – С. 122 – 123.
37. Таланов, А.О. Мас-спектрометричне визначення елементного складу ягід українських та іспанських буяхів / А.О. Таланов, М.Г. Меньков, А.М. Мішаніна [та інші] // Хімія природних сполук: III Всеукр. науково-практ. конф. (30-31 жовтня 2012 р.). – Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2012. – С. 135 – 136.
38. Корнієвська, В.Г. Аналіз фенольних сполук плодів буяхів методом ВЕРХ / В.Г. Корнієвська, А.А. Таланов, М.С. Фурса // Фармац. журн. - 2012. - №2. – С. 100 – 102.
39. Таланов, А.А. Виды рода вакциниум: химия, фармакология, клиника / А.А. Таланов, А.П. Иванов, И.Н. Солеников [и др.] // Инновационные процессы в лекарствоведении: сб. мат-лов Всерос. научно-практ. конф. с междуна. участием, посвящ. 30-летию фармац. факультета ЯГМА (18-19 декабря 2012 года) / Под ред. Н.С. Фурсы. – Ярославль: Аверс-Плюс, 2012. – С. 315 - 326.
40. Таланов, А.А. Голубика – *Vaccinium uliginosum* L. Хромато-спектрофотометрическое определение арбутина в плодах / А.А. Таланов, П.Ю. Шкроботько, Н.С. Фурса // Wykształcenie i nauka bez granic – 2012: Materiały VII międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji (07 – 15 grudnia 2012 r.). – Vol. 31. – Premysl: Nauka i studia, 2012. – С. 27 – 28.
41. Таланов, А.А. Голубика – *Vaccinium uliginosum* L. Перманганатометрическое определение дубильных веществ в плодах / А.А. Таланов, П.Ю. Шкроботько, Т.А. Горохова, Н.С. Фурса // Бъдещите изследвания – 2013: Материали за IX международна научна практична конференция (17-25 февруари 2013 г.). – Т.23. – София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2013. – С. 10 – 12.

Резюме

Таланов Андрей Александрович (Россия)

Фармакогностическое изучение голубики болотной (*Vaccinium uliginosum* L.)

С использованием атомно-абсорбционного метода, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, капиллярного электрофореза, хромато-масс-спектрометрии, ВЭЖХ, ГХ/МС, спектрофотометрии и других методов осуществлен анализ макро-, микро- и ультрамикроэлементов, углеводного и аминокислотного состава различных органов голубики болотной, а также фенольных соединений плодов и листьев голубики. Изучены отдельные фармакологические свойства настойки плодов голубики болотной. Предложено использовать в качестве лекарственного растительного сырья плоды и листья голубики болотной.

Summary

Talanov Andrey Aleksandrovich (Russia)

Pharmacognostic study of *Vaccinium uliginosum*

The analysis of macro- micro- and ultramicroelements, carbohydrates, amino acids of various bodies *vaccinium uliginosum*, and also phenolic compound composition of fruits and leaves *vaccinium uliginosum* was carried out by means of atomic absorbtive methods, mass-spectrometry with inductively coupled plasma, capillary electrophoresis, HPLC, GC/MS, spectrophotometry and other methods. Some pharmacological effects of *Vaccinium uliginosum* fruits tincture were studied. The use of fruits and leaves *Vaccinium uliginosum* as raw material for herbal medicines was suggested.