

ОПТИМИЗАЦИЯ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ И ПРИМЕНЕНИЮ СЫРЬЯ «МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ПЛОДЫ»

[Д. Л. Макарова, В. В. Величко](#)

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

Проведен анализ промышленных образцов сырья «Можжевельника плоды». Установлено, что необходимо проведение стандартизации сырья по нескольким показателям содержания действующих веществ: сырье, используемое для получения эфирного масла, следует стандартизовать по содержанию эфирного масла, а сырье, предназначенное для получения водного извлечения, — по содержанию водорастворимых полисахаридов, сумме флавоноидов и оксикоричных кислот. Проведенный анализ также показал, что для выделения всех групп соединений сырье необходимо предварительно измельчать и указывать эту информацию на потребительской упаковке фасованного сырья.

Ключевые слова: плоды можжевельника обыкновенного, стандартизация сырья, эфирное масло, полисахариды, флавоноиды, биологически активные соединения.

Макарова Дарья Леонидовна — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 225-07-13, e-mail: mak_dl@mail.ru

Величко Виктория Владимировна — кандидат фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 225-07-13, e-mail: velichkvik@rambler.ru

В последние 20 лет отмечается всплеск интереса к лекарственным растениям, лекарственному растительному сырью (ЛРС), а также фитопрепаратам и биологически активным добавкам во всем мире [1]. При этом наряду с поиском новых лекарственных растений продолжается изучение видов, издавна применяемых в научной медицине. Эти исследования направлены на более детальное изучение состава, динамики накопления биологически активных соединений (БАС), фармакологического действия, новых возможностей применения, а также на проблемы стандартизации сырья

и фитопрепаратов [2, 3].

В Российской Федерации в настоящее время на ЛРС действуют частные фармакопейные статьи Государственной фармакопеи XI издания (ГФ XI), два выпуска которой вышли в 1987 и 1990 годах соответственно. Поэтому к настоящему времени многие разделы фармакопейных статей, особенно регламентирующие числовые показатели качества ЛРС, нуждаются в существенной доработке [4].

Одним из известных и широко применяемых видов сырья являются плоды можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.), которые используются в промышленном производстве для выделения эфирного масла и промышленной фасовки в пачки по 50 или 100 г для последующего получения водного извлечения — сырье «Можжевельника плоды» («*Juniperi fructus*»), реализуемое через аптечную сеть [5, 6].

Согласно Фармакопейной статье (ФС) № 34 ГФ XI стандартизацию плодов можжевельника проводят по внешним признакам, результатам микроскопического анализа, числовым показателям: эфирному маслу (выделяемому методом гидродистилляции из измельченного сырья), влажности, зольности, содержанию побуревших и зеленых плодов, органической и минеральной примеси [7]. В проекте фармакопейной статьи, рассмотренной Советом Минздрава России по ГФ, прошедшей научное редактирование и предназначенной для включения в ГФ XIII издания [8], стандартизацию плодов можжевельника также планируется проводить по эфирному маслу и содержанию посторонних примесей.

При этом в показателях стандартизации и дальнейшем применении сырья заложены некоторые противоречия:

1. По требованиям ФС стандартизацию плодов можжевельника необходимо проводить по эфирному маслу, выделяемому из измельченных плодов, тогда как из сырья, реализуемого через аптечную сеть, потребители в домашних условиях получают водные извлечения;
2. фасованное в потребительские упаковки сырье «Можжевельника плоды» представляет собой твердые, цельные, шаровидные, черно-фиолетовые плоды около 8 мм в диаметре. В способе применения сырья указано: «около 10 г (1 столовая ложка) плодов помещают в эмалированную посуду, заливают 200 мл (1 стакан) горячей кипяченой воды, закрывают крышкой и нагревают на кипящей водяной бане 15 мин, охлаждают при комнатной температуре 45 мин», т. е. предполагается использование цельных плодов из упаковки.

В последнее время активно начал развиваться новый подход к стандартизации ЛРС — оценка качества по нескольким группам БАС [9], так как при получении водно-спиртовых, а также водных извлечений из ЛРС фармакологическое действие будет обусловлено не одним веществом, а комплексом соединений растения.

Поэтому *целью работы* являлось усовершенствование подходов к стандартизации и применению ЛРС «Можжевельника плоды».

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили 3 промышленных образца сырья «Можжевельника плоды» различных производителей: образец № 1 — ОАО «Красногорсклексредства» (г. Красногорск, серия 51113), образец № 2 — ЗАО «Здоровье» (Красногорский район, пос. Нахабино, серия 010913), образец № 3 — ООО «ЛЕК С+» (г. Химки, серия 010712).

Анализ внешних признаков сырья, наличие примесей, анатомо-диагностическое

исследование проводили по методикам ГФ XI [10]. Эфирное масло получали методом гидродистилляции, согласно ФС, из плодов, измельченных до размера частиц 1 мм, время перегонки составляло 2 ч.

Для оценки выхода групп БАВ были получены водные извлечения из цельных и измельченных с помощью кофемолки (как наиболее доступного для измельчения в домашних условиях технического средства) плодов. Извлечения получали способом, указанным на потребительской упаковке. Количественное содержание суммы флавоноидов определяли методом прямой и дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин; суммы оксикоричных кислот — в пересчете на хлорогеновую кислоту. Анализ содержания полифенольных окисляемых веществ определяли по методике ГФ XI методом перманганатометрии [10]. В водных извлечениях также определяли содержание полисахаридов и смолистых веществ методом гравиметрии: смолистые вещества выпадали в осадок при охлаждении извлечения, их удаляли и взвешивали, фильтрат обрабатывали трехкратным объемом 95 % этилового спирта для осаждения полисахаридов.

Результаты исследований. По внешним признакам все промышленные образцы сырья соответствовали требованиям ФС и представляли собой шаровидные, блестящие, черно-фиолетовые шишкоягоды с зеленовато-бурой мякотью и 1-м — 3-мя треугольными семенами сладковато-пряного вкуса с ароматным смолистым запахом.

Микроскопическое исследование также выявило идентичность испытуемых образцов. Были выявлены многоугольные клетки эпидермы с утолщенными стенками (рис. 1); рыхло расположенные овальные клетки паренхимы (рис. 2); крупные капли прозрачного желтоватого эфирного масла — рис. 3.

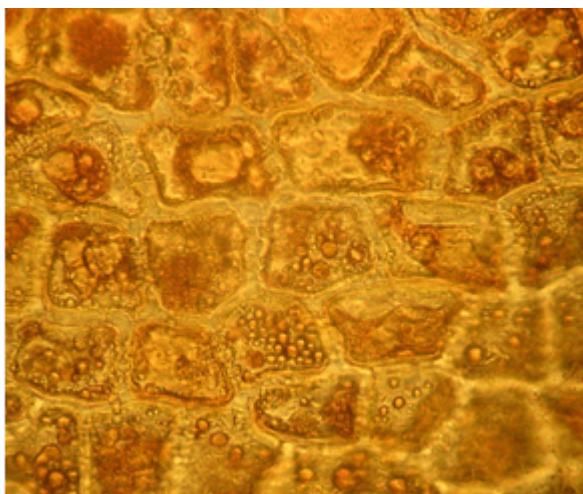


Рис. 1. Многоугольная эпидерма с утолщенными стенками (×600)

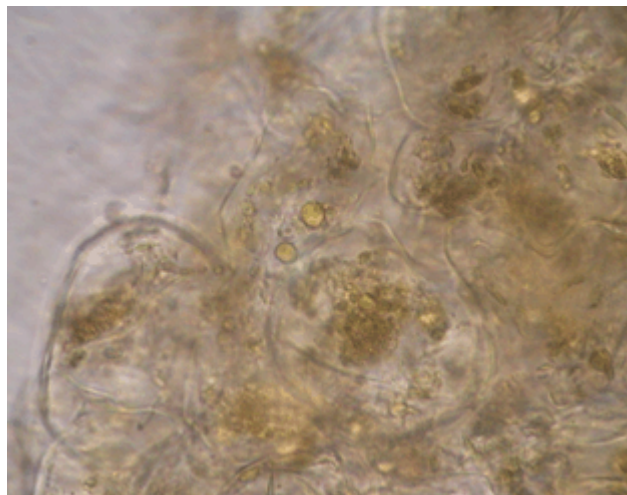


Рис. 2. Овальные клетки паренхимы (×600)

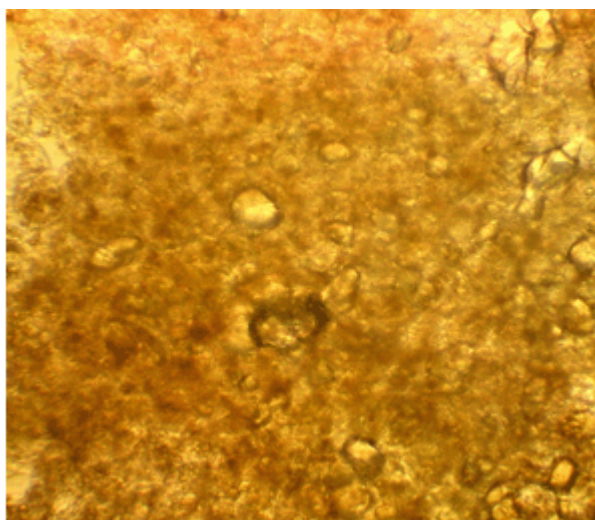


Рис. 3. Капли эфирного масла (×600)

Также в соответствии с требованиями ФС были определены показатели: массовая доля бурых и зеленых плодов, органическая и минеральная примеси. Анализ сырья показал, что в образце № 1 превышено содержание бурых и зеленых плодов и органической примеси (табл. 1).

Таблица 1

Числовые показатели образцов сырья «Можжевельника плоды», % в пересчете на абсолютно сухое сырье

Показатель	№ образца			Норма по НД
	1	2	3	
Массовая доля бурых и зелёных плодов, %	11,4	6,08	9,2	Не более 10
Органические примеси, %	1,14	0,1	—	Не более 1
Минеральные примеси, %	—	—	—	Не более 0,5

Влажность и зольность всех образцов соответствует требованиям ФС (табл. 2).

Таблица 2

Влажность и зольность сырья «Можжевельника плоды», % в пересчете

на абсолютно сухое сырье

№ образца	1	2	3	Норма по НД
Влажность	6,48	7,03	7,09	Не более 20
Зольность	2,8	3,36	2,33	Не более 5

Согласно требованиям ГФ XI и проекту ФС, предназначенному для включения в ГФ XIII издания, стандартизацию плодов можжевельника необходимо проводить по эфирному маслу — его выход должен составлять не менее 0,5 %. В результате анализа было установлено, что все образцы сырья соответствуют требованиям (табл. 3). Наибольшее количество эфирного масла извлеклось из образца № 3.

Таблица 3

Выход эфирного масла из аптечных образцов сырья «Можжевельника плоды», % в пересчете на абсолютно сухое сырье

№ образца	Содержание эфирного масла
1	0,86
2	0,91
3	1,56

Так как компоненты эфирного масла больше частью практически нерастворимы в воде [11], а фасованное сырье предназначено для получения водного извлечения, было проанализировано содержание других групп БАС.

По ФС эфирное масло извлекают из измельченного сырья, а в потребительских упаковках плоды цельные. Поэтому для сравнения были получены в одинаковых условиях водные извлечения из цельных и измельченных плодов. Настой из цельных плодов представлял собой прозрачную, бесцветную жидкость, по внешнему виду не отличающуюся от воды; из измельченных плодов настой был мутный, желтовато-бурового цвета. Проведенный количественный анализ содержания фенольных БАС в полученных извлечениях показал, что в извлечении из цельных плодов содержатся следовые количества веществ, в отличие от настоев, полученных из измельченного сырья. Это характерно как для флавоноидов, так и оксикоричных кислот (табл. 4).

Таблица 4

Количественное содержание суммы фенольных соединений в водных извлечениях из цельного и измельченного сырья можжевельника, % в пересчете на абсолютно сухое сырье

№ образца	Извлечения из цельного сырья		Извлечения из измельченного сырья	
	Сумма оксикоричных кислот	Сумма флавоноидов	Сумма оксикоричных кислот	Сумма флавоноидов
1	—	—	0,30 ± 0,03	0,40 ± 0,04
2	—	—	0,31 ± 0,04	0,41 ± 0,04
3	—	—	0,18 ± 0,02	0,20 ± 0,03

Примечание: «—» — следовые количества веществ на пределе чувствительности прибора

Полученные результаты показывают, что перед получением водного извлечения плоды можжевельника необходимо измельчать, поэтому дальнейшие исследования проводили с извлечением из измельченного сырья.

В извлечении из измельченных плодов было проанализировано содержание суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин. Содержание флавоноидов составляет от 0,1-0,2 % (табл. 5).

Таблица 5

Содержание суммы флавоноидов в водном извлечении из измельченных плодов можжевельника в пересчёте на рутин, % в пересчете на абсолютно сухое сырье

№ образца	Содержание суммы флавоноидов
1	0,19 ± 0,02
2	0,2 ± 0,02
3	0,1 ± 0,01

В водное извлечение из ЛРС также переходят другие группы водорастворимых БАС — полифенольные окисляемые вещества, полисахариды, смолистые вещества.

Содержание полифенольных окисляемых веществ определялось по методике ГФ XI, оно составляет от 2,5 до 4 % (табл. 6). Наибольшее содержание характерно для образца № 2.

Таблица 6

Содержание суммы полифенольных окисляемых веществ в водном извлечении, % в пересчете на абсолютно сухое сырье

№ образца	Содержание полифенольных окисляемых веществ
1	2,9 ± 0,3
2	4,1 ± 0,5
3	2,5 ± 0,3

Содержание смолистых веществ и полисахаридов определялось методом гравиметрии. Наибольшее содержание полисахаридов характерно для образцов № 2 и 3 (табл. 7).

Таблица 7

Содержание суммы смолистых веществ и водорастворимых полисахаридов в настое из плодов можжевельника, % в пересчете на абсолютно сухое сырье

№ образца	Сумма смолистых веществ	Сумма полисахаридов
1	2,9 ± 0,3	10,49 ± 1,1
2	3,8 ± 0,4	22,43 ± 1,8
3	2,7 ± 0,3	23,83 ± 1,8

Так как смолистые вещества могут оказывать раздражающее действие [6] на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, их можно удалить, фильтруя охлажденное водное извлечение через ватный фильтр.

Выводы

1. Из трех проанализированных образцов образец № 1 не соответствует требованиям ФС по показателю «содержание зеленых и бурых плодов».
2. В результате исследования установлено, что для извлечения всех групп БАС плоды можжевельника необходимо предварительно измельчать. Причем данная информация должна быть указана на потребительской упаковке ЛРС.
3. В связи с тем, что плоды можжевельника используются как для выделения эфирного масла, так и для получения водных извлечений, необходимо проведение стандартизации сырья по нескольким показателям: «содержание эфирного масла», «содержание водорастворимых полисахаридов» и «содержание суммы фенольных соединений» и введение в ФС соответствующих разделов.

Список литературы

1. Robinson M. M. The world medicines situation 2011. Traditional medicines : global situation, issues and challenges / M. M. Robinson, X. R. Zhang. — 3rd ed. — Geneva : World Health Organization, 2011. — 14 p.
2. Chemical composition of berry essential oils from *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) growing wild in Republic of Macedonia and assessment of the chemical composition in accordance to European Pharmacopoeia / F. Sela [et al.] // Macedonian pharmaceutical bulletin. — 2011. — N 57 (1, 2). — P. 43-51.
3. Chemical composition and antioxidant properties of Juniper Berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism / M. Höferl [et al.] // Antioxidants. — 2014. — N 3. — P. 81-98.
4. Киселева Т. Л. Лекарственные растения в мировой медицинской практике : государственное регулирование номенклатуры и качества / Т. Л. Киселева, Ю. А. Смирнова. — М. : Изд-во Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009. — 295 с.
5. Государственный реестр лекарственных средств. — Режим доступа : (<http://grls.rosminzdrav.ru>). — Дата обращения : 10.08.2015.
6. Общие знания и состояние исследований в области фармакологии растений рода *Juniperus* L. (обзор с ретроспекцией) / О. О. Новиков [и др.] // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. — 2013. — Вып. 24/1, № 25 (168). — С. 5-9.
7. Государственная фармакопея СССР : XI изд. Вып. 1 «Общие методы анализа». — М. : Медицина, 1987. — 334 с.
8. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Список общих фармакопейных статей и фармакопейных статей. — Режим доступа : (<http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/spisok-obschih-farmakopeynyh-statey>). — Дата обращения : 10.08.2015.
9. Сорокина А. А. Теоретическое и экспериментальное обоснование стандартизации настоев, отваров и сухих экстрактов из лекарственного растительного сырья : автореф. дис. ...д-ра фарм. наук / А. А. Сорокина. — М., 2002. — 44 с.
10. Государственная фармакопея СССР : XI изд. Вып. 2 «Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье». — М. : Медицина, 190. — 398 с.
11. Ткачев А. В. Исследование летучих веществ растений / А. В. Ткачев. — Новосибирск : Издательско-полиграфическое предприятие «Офсет», 2008. — 969 с.

OPTIMIZATION OF APPROACHES TO STANDARDIZATION AND USAGE OF RAW MATERIALS OF «JUNIPERUS FRUCTUS»

[*D. L. Makarova, V. V. Velichko*](#)

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

The analysis of industrial samples of raw materials of «Juniperus fructus» is carried out. It is established that performing of standardization of raw materials on several indicators of the content of active ingredients is required: the raw materials used for receiving an essential oil should be standardized according to the content of the oil, and the raw materials intended for receiving water extraction — according to the content of water-soluble polysaccharides, the sum of flavonoids and hydroxy-cinnamic acids. The carried-out analysis also showed that for an emission of all groups of compounds the raw materials should be previously chapped, and this information should be pointed out on a consumer packing of the packed-up raw materials.

Keywords: fruit of juniper ordinary, standardization of raw materials, essential oil, polysaccharides, flavonoids, biologically active compounds.

About authors:

Makarova Daria Leonidovna — candidate of pharmaceutical science, assistant professor of pharmacognosy and botany chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 225-07-13, e-mail: mak_dl@mail.ru

Velichko Victoria Vladimirovna — candidate of pharmaceutical science, head of pharmacognosy and botany chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 225-07-13, e-mail: velichkvik@rambler.ru

List of the Literature:

1. Robinson M. M. The world medicines situation 2011. Traditional medicines : global situation, issues and challenges / M. M. Robinson, X. R. Zhang. — 3rd ed. — Geneva : World Health Organization, 2011. — 14 p.
2. Chemical composition of berry essential oils from *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) of growing wild in Republic of Macedonia and assessment of the chemical composition in accordance to European Pharmacopoeia / F. Sela [et al.] // Macedonian pharmaceutical bulletin. — 2011. — N 57 (1, 2). — P. 43-51.
3. Chemical composition and antioxidant properties of Juniper Berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism / M. Höferl [et al.] // Antioxidants. — 2014. — N 3. — P. 81-98.
4. Kiseleva T. L. Herbs in world medical practice : state regulation of the nomenclature and quality / T. L. Kiseleva, Y. A. Smirnov. — M. : Publishing house of Professional association

- of nature therapist, 2009. — 295 p.
5. State register of medicines [electron resource]. — Access mode : (<http://grls.rosminzdrav.ru>). — Access date : 10.08.2015.
 6. The general knowledge and condition of researches in the field of pharmacology of plants of the sort *Juniperus L.* (the review with a flashback) / O. O. Novikov [et al.] // Scientific bulletin. Medicine series. Pharmaceutics. — 2013. — Iss. 24/1, N 25 (168). — P. 5-9.
 7. State pharmacopeia of the USSR : XI ed. Iss. 1 «The general methods of the analysis». — M. : Medicine, 1987. — 334 p.
 8. Ministry of Health of the Russian Federation. List of the general officinal articles and officinal articles [electron resource]. — Access mode : <http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/spisok-obschih-farmakopeynyh-statey>). — Access date : 10.08.2015.
 9. Sorokina A. A. Theoretical and experimental justification of standardization of infusions, broths and dry extracts from medicinal vegetable raw materials : theses ... doctor of pharm. science / A. A. Sorokina. — M., 2002. — 44 p.
 10. State pharmacopeia of the USSR : XI ed. Iss. 2 «General methods of the analysis. Medicinal vegetable raw materials». — M. : Medicine, 190. — 398 p.
 11. Tkachev A. V. Research of volatile substance of plants / A. V. Tkachev. — Novosibirsk: Publishing and printing enterprise «Ofset», 2008. — 969 p.