

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**

На правах рукописи

УДК 615.074

ЮНУСОВ УКТАМЖОН ЖАББАРАЛИЕВИЧ

ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕТРУШКИ ПОСЕВНОЙ

5A510501 - фармацевтическая химия и фармакогнозия

Диссертация на соискание академической степени магистра

**Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук,
профессор Урманова Ф.Ф.**

Ташкент-2018

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

Факультет фармация

Магистрант Юнусов У.Ж.

Кафедра фармакогнозии

Научный руководитель

Урманова.Ф.Ф

2016-2018 гг.

Специальность: фармацевтическая химия
и фармакогнозия

АННОТАЦИЯ МАГИСТЕРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы. Поиск новых источников биологически активных веществ с целью дальнейшего расширения производства фито препаратов различного спектра действия является одним из важнейших направлений современной фармацевтической науки

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования является изучение химического состава местного сырья петрушки посевной.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- обоснование целесообразности изучения местного сырья петрушки посевной на основании критического анализа литературы по современному состоянию представителей рода *Petroselinum* L.;
- выявление основных групп биологически активных веществ листьев петрушки посевной;
- идентификация и количественное определение обнаруженных веществ;
- определение экологической чистоты и безопасности применения местного сырья петрушки посевной.
-

Объект и предмет исследования. Объектом исследования служили листья петрушки посевной, культивируемой в Ташкентской области Узбекистана.

Предметом исследования было решение вопросов, связанных с изучением химического состава предлагаемого сырья.

Методы и методология исследования. При выполнении работы использованы современные методы анализа (БХ, ТСХ, УФ- спектроскопия, масс- спектроскопия с индуктивно связанной плазмой, ВЭЖХ, атомно-абсорбционная спектроскопия и др.).

Степень научной новизны результатов исследования. Впервые изучен химический состав местного сырья петрушки посевной. Выявлены и идентифицированы основные группы биологически активных веществ сырья; определено их количественное содержание. Определены экологическая чистота и безопасность применения петрушки посевной с точки зрения ее микробиологической чистоты, содержания токсичных тяжелых металлов, хлорорганических пестицидов и радионуклидов.

Практическая значимость и внедрение результатов исследования. В результате проведенного исследования получены данные, необходимые для химической характеристики и стандартизации сырья петрушки посевной, выращиваемой на территории нашей страны.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре фармакогнозии Ташкентского фармацевтического института.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 70 страницах компьютерного текста и состоит из введения, одной главы обзора литературы, двух глав собственных исследований, заключения и списка использованной литературы. Она иллюстрирована 13 таблицами и 6 рисунками. Библиографический указатель включает 61 источник.

Научный руководитель

д.фарм.н., проф. Урманова Ф.Ф.

Магистрант

Юнусов У.Ж.

MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN
TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE

Faculty pharmacy
Pharmacognosy department
2016-2018 academic years

Master: Yunusov U.Zh.
Supervisor: Urmanova F.F
Specialty: pharmaceutical chemistry
and pharmacognosy

ABSTRACT OF THE MASTER'S DISSERTATION

Relevance of the topic. The search for new sources of biologically active substances with a view to further expanding the production of phytopreparations of various spectrums of action is one of the most important trends in modern pharmaceutical science.

Purpose and objectives of the research. The purpose of this research is to study the chemical composition of local parsley seed (*Petroselinum Hoffm.*).

To achieve this goal, it was necessary to solve the following tasks:

- substantiation of the reasonability of studying local parsley raw materials on the basis of the critical analysis of literature on the current status of representatives of the genus *Petroselinum Hoffm.*;
- identification of the main groups of biologically active substances of parsley seed leaves;
- identification and quantification of detected substances;
- determination of ecological purity and safety use of local raw material of parsley seed.

Object and subject of research. The object of the study was the leaves of parsley seed, cultivated in the Tashkent region of Uzbekistan.

The subject of the study was the solution of problems connected with the study of the chemical composition of the proposed raw materials.

Methods and methodology of the research. Modern methods of analysis (BX, TLC, UV - spectroscopy, inductively coupled plasma mass spectroscopy, HPLC, atomic absorption spectroscopy, etc.) were applied in the work.

The degree of scientific novelty of the research results. The chemical composition of local parsley seed was studied for the first time. The main groups of biologically active substances of raw materials have been detected and identified; their quantitative content was determined. The ecological purity and safety use of parsley seed were determined from the point of view of its microbiological purity, the content of toxic heavy metals, organochlorine pesticides and radionuclides.

Practical significance and introduction of research results. As a result of the study, the data necessary for the chemical characterization and standardization of parsley seed, grown on the territory of our country have been obtained.

The results of the research were introduced into the educational process at the Pharmacognosy Department of the Tashkent Pharmaceutical Institute.

The structure and scope of the thesis. The thesis is outlined on 70 pages of computer text and consists of an introduction, one chapter of the literature review, two chapters of own research, conclusion and list of used literature. It is illustrated by 13 tables and 6 figures. The bibliographic index includes 61 sources.

The scientific adviser

d. of pharm.s., prof. Urmanova F.F

Master

Yunusov U.J.

ОГЛАВЛЕНИЕ

АННОТАЦИЯ МАГИСТЕРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ.....	2
ОГЛАВЛЕНИЕ.....	7
ВВЕДЕНИЕ.....	9
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	14
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Лечебные свойства пищевых растений.....	16
1.2. Общее сведение о петрушке посевной.....	16
1.2.1. Систематическое положение, ботаническая характеристика и основные районы возделывания.....	16
1.2.2. Сведение о химическом составе и применении.....	21
Выводы к главе 1.....	26
ГЛАВА 2. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЕТРУШКИ ПОСЕВНОЙ.....	27
2.1. Исследование сырья на содержание основных групп биологически активных веществ.....	27
2.2. Идентификация и количественное определение обнаруженных веществ	
2.2.1. Изучение веществ первичного обмена.....	27
2.2.2. Изучение веществ вторичного обмена.....	41
2.2.3. Изучение минеральных веществ.....	49
Выводы к главе 2.....	52
ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ И БЕЗОПАСНОСТИ МЕСТНОГО СЫРЬЯ ПЕТРУШКИ ПОСЕВНОЙ	
3.1 Определение токсичных тяжелых металлов	53
3.2. Определение радионуклидов.....	56

3.3.Определение остаточных количеств пестицидов.....	57
3.4. Определение микробиологической чистоты.....	60
Выводы к главе 3.....	62
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	63
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	64

ВВЕДЕНИЕ

Обоснование и актуальность темы диссертации. Несмотря на большие успехи в создании синтетических лекарственных средств применение растительных препаратов в мировой медицинской практике не только остается стабильным, но и имеет тенденцию к увеличению. По данным ВОЗ, в настоящее время порядка 64% населения земли использует растение в качестве лекарственных средств. Около половины всех лекарственных препаратов, производимых в индустриально развитых странах, получают из природного сырья.

В этих условиях научно обоснованное ресурсоведение и ресурсосбережение становятся одним из основных и решающих факторов в удовлетворении возрастающих потребностей в растительном сырье. Поиск и изучение новых растительных источников ценных биологически активных веществ, представляется актуальной проблемой фармацевтической науки.

В последние годы исследован ряд новых лекарственных растений и некоторые из них введены в научную медицину. Определенная часть их обнаружена по принципу филогенетического родства, а большая – взята из народной медицины. Естественно, не все растения, используемые в народной медицине, оправдывают свое применение как лечебные. Поэтому необходим тщательный научный отбор нужных, перспективных среди огромного количества народных лекарственных растений.

Особый интерес в этом плане представляет изучение опыта традиционной медицины Востока, в частности, богатого наследия нашего великого соотечественника, выдающегося ученого –энциклопедиста Абу Али Ибн Сино. Перечень трудов Ибн Сино, дошедших до нас, включает 274 наименования. Особое места в наследии Ибн Сино занимают труды по медицине. На основе глубокого изучения и осмысления знаний,

изложенных в трудах выдающихся врачей древности и средневековья, а также на основе своих наблюдений Ибн Сино создал большое число медицинских трактатов.

Венцом этого титанического труда, несомненно, является «Канон врачебной науки». Это обширная медицинская энциклопедия, рассматривающая с исчерпывающей полнотой в пределах знаний своего времени все, что относится к здоровью и болезни человека, будучи переведенной на латинский и др. языки, издавалась более тридцати раз и служила настольной книгой и главным медицинским руководством в университетах Европы почти до XVIII века.

За прошедшую тысячу лет, отделяющую нас от эпохи Средневековья, в которую жил Ибн Сино, наука шагнула далеко вперед, однако многие теоретические и практические положения, выдвинутые им в «Каноне» сохранили свою актуальность до наших дней. «Канон» Ибн Сино-это программа действий для последующих поколений.

В «Каноне врачебной науки» Ибн Сино в качестве лекарственных описаны 520 растений, из которых 178 произрастают на территории Узбекистана. Из указанных 178 растений в научной медицине в настоящее время используются лишь 70 видов. Необходимо провести научную «ревизию» остальных видов с целью выявления наиболее перспективных для лечения краевой патологии. В числе растений, ждущих своих исследователей, целый ряд пищевых растений: портулак, латук, шпинат, чечевица, редька, артишок, лавровое дерево, гранат, сафлор, спаржа, вишня, абрикос, айва, яблоня, персик, слива, виноград, петрушка, капуста, лук-порей, кресс-салат, фасоль, дыня, баклажан, свекла обыкновенная.

Объект нашего исследования - петрушка посевная (*Petroselinum sativum* Hoffm.) семейства зонтичные (*Apiaceae*) культивируется в больших объемах на территории нашей страны. Однако, несмотря на широкое

распространение в культуре, в фитохимическом отношении местное сырье петрушки посевной остается недостаточно изученным. Отсутствуют нормативные документы, регламентирующие подлинность и качество сырья. В частности, остается открытой проблема морфолого-анатомической диагностики растительного сырья для объективной оценки его подлинности. Нет утвержденных методик качественного и количественного определения основных действующих веществ петрушки посевной. Поэтому, проведение фитохимического изучения петрушки посевной в качестве нового источника природных биологически активных соединений является актуальной задачей.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования служили листья петрушки посевной, культивируемой в Ташкентской области Узбекистана. Предметом исследования было решение вопросов, связанных с изучением химического состава предлагаемого сырья.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования является изучение химического состава местного сырья петрушки посевной.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- обоснование целесообразности изучения местного сырья петрушки посевной на основании критического анализа литературы по современному состоянию представителей рода *Petroselinum* Hoffm.;

- выявление основных групп биологически активных веществ листьев петрушки посевной;

- идентификация и количественное определение обнаруженных веществ;

- определение экологической чистоты и безопасности применения местного сырья петрушки посевной.

Научная новизна. Впервые проведено углубленное фитохимическое исследование листьев петрушки посевной, выращиваемой на территории Узбекистана. Определены химическая природа и количественное содержание основных групп биологически активных веществ петрушки посевной, показано, что местное сырье петрушки посевной является экологически чистым и безопасно для применения.

Основные вопросы и гипотеза исследований. Настоящее исследования направлено на изучение комплекса биологически активных соединений местного сырья петрушки посевной, а также на решение вопросов, связанных с определением его экологической чистоты и безопасности.

Значительные сырьевые запасы, дешевизна сырья петрушки посевной в сочетании с богатым содержанием биологически активных веществ позволяют рассматривать возможность создания на его основе эффективных лекарственных средств и биологически активных добавок.

Анализ литературы по теме исследования показал, что сырье петрушки посевной, выращиваемой в Узбекистане, практически не изучено, что указывает на актуальность и целесообразность выбранной темы.

Характеристика методов исследования. При выполнении работы использованы современные методы физико-химического анализа (БХ, ТСХ, УФ- и ИК- спектроскопия, масс- спектроскопия с индуктивно связанной плазмой, ВЭЖХ, атомно-абсорбционная спектроскопия и др.).

Теоретическое и практическое значение результатов исследования.

Теоретическая значимость исследования заключается в расширении знаний о химическом составе петрушки посевной. Полученные данные могут служить экспериментальным обоснованием перспективности использования сырья петрушки посевной в качестве источника ценных биологически активных веществ.

Практическая значимость исследования заключается в том, что в результате проведенного исследования полученные данные, необходимые для химической характеристики и стандартизации местного сырья петрушки посевной с целью продвижения его в медицинскую практику в качестве эффективного лечебно- профилактического средства.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 75 страницах компьютерного текста и состоит из введения, одной главы обзора литературы, двух глав собственных исследований, заключения и списка использованной литературы. Она иллюстрирована 17 таблицами и 9 рисунками. Библиографический указатель включает 56 источников.

Во введении приведены обоснование и актуальность темы диссертации, объект и предмет исследования, цель и задачи исследования, научная новизна, основные вопросы и гипотеза исследований, анализ литературы по теме исследования, характеристика методов исследования, а также теоретическое и практическое значение результатов исследования.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Лечебные свойства пищевых растений

Одним из основных факторов активной и здоровой жизнедеятельности человека является нормальное и полноценное питание, без которого немислимо хорошее здоровье людей.

Поэтому повсеместно по возможности большое внимание уделяется вопросам удовлетворения потребности организма человека в таком питании, которое способствовало бы обеспечению здоровья, повышению трудоспособности и долголетию.

Не все правильно понимают, что такое правильное и рациональное питание, стремясь составить блюда только из белков (мясных продуктов), углеводов (мучных изделий) и жиров, в то время недооценивая значение овощей и фруктов, их не включают в свой рацион, забывая, что естественные пищевые продукты растительного происхождения, которые мы употребляем ежедневно являются одним из основных элементов здорового питания. Трудно представить нормальное питание человека, тем более полноценную пищу, без использования овощей, фруктов и пряных растений.

Овощи и фрукты- они прежде всего являются продуктами питания. Человечество их употребляет, чтобы в первую очередь удовлетворить свою потребность в пище. В то время еще не было понятия о витаминах, ферментах, органических кислотах, минеральных элементах и других биологически активных веществах растений и, вероятно, люди не думали, что они едят, полезные или вредные для организма вещества.

Люди питались естественными, полноценными продуктами растительного происхождения: свежими и высушенными овощами, фруктами и животными продуктами, также изделиями, приготовленными

из них. Все продукты были природными и свежими (или высушенными только естественным путем на солнце) без обработки химикатами, другими консервантами и воздействием особо высокой или низкой температуры. Тем более не было необходимости в биологически активных добавках к пище.

Пряные растения, в отличие от овощей и фруктов, не являются продуктами питания, но способствуют лучшему усвоению пищи организмом и возбуждают аппетит. Поэтому их употребляют, как правило, с пищей. На эти свойства пряных растений в свое время обратили внимание известные лекари древности и стали использовать их с лечебной целью. И, вероятно, стало известно, что овощи и фрукты также не всегда полезны людям, особенно больным.

На разных этапах развития медицины еще Гиппократ, Гален, Диоскорид, Теофраст, Абу Али ибн Сина (Авиценна) и многие другие ученые-медики прошлого применяли овощи, фрукты и пряности, их соки и приготовленные из них продукты для лечения и профилактики различных заболеваний человека, также в качестве лечебно-диетического питания.

Овощи, фрукты и пряные растения содержат различные, весьма полезные, часто незаменимые и жизненно необходимые биологически активные вещества, как, например, витамины, ферменты, минеральные соединения, органические кислоты и много других, которое в организм человека поступают только с пищей. Отсутствие же их в продуктах питания человека приводит к частным заболеваниям (вялость, быстрая утомляемость, пониженный иммунитет, повышенная чувствительность к холоду и разным инфекциям, ослабление зрения и другие), порой весьма серьезным.

Биологически активные вещества овощей и фруктов обладают определенной фармакологической активностью и оказывают

разнообразное действие на организм. Поэтому небезразлично, какие овощи, фрукты или пряности включаются в питание. Следовательно большое значение имеет правильный и оптимальный подбор растительных продуктов для пищи с учетом с одной стороны химического состава, следовательно, физиологического действия их на организм, с другой – индивидуального характера и состояния здоровья человека.

Общеизвестно, что нормальное развитие и рост детей во многом зависит от своевременного обеспечения их организма необходимым количеством и набором веществ, содержащихся только в овощах и фруктах. Кроме того, в связи с понижением интенсивности обмена веществ в организме в старческом возрасте, у пожилых людей также возникает необходимость в систематическом употреблении овощей и фруктов в питании, так как они, благодаря содержанию в них различных биологически активных веществ, выполняет роль стимуляторов обмена веществ в организме.

Овощи, фрукты и пряные растения ежедневно употребляются в пищу в относительно небольших, необходимых для организма количествах. Поэтому они в данном случае не являются лечебным средством, но играют большую роль в профилактике различных заболеваний, предупреждая возникновение тех или иных недугов, вследствие отсутствия в пище определенных биологически активных веществ [1-6].

1.2 Общие сведения о петрушки посевной

1.2.1 Систематическое положение, ботаническая характеристика и основные районы возделывания

Объект нашего исследования- петрушка посевная, или п. обыкновенная, п. кудрявая (*Petroselinum sativum* Hoffm.) является представителем рода *Petroselinum* Hoffm. семейства сельдерейных (*Apiaceae*) [7].

Согласно классификации А.Л. Тахтаджяна [8] род *Petroselinum Hoffm.* занимает следующее систематическое положение:

Царство: растения

Отдел: покрытосеменные

Класс: двудольные

Порядок: зонтичные

Семейство: сельдерейные

Петрушка посевная (обыкновенная) – двулетнее травянистое растение из семейства сельдерейных. Корень стержневой, цилиндрический. Стебель, как листья, желтовато-зеленый, гладкий, округлый, едва бороздчатый, слегка искривленный выше основания ветвящийся, около 80 см выс. Листья голые, сверху лоснящиеся, прикорневые трижды перисто рассеченные; пластинка в очертании яйцевидно треугольная, сегменты первого и второго порядков расположены на черешочках, конечные участки овально-ромбические, пересто лопастные, 15 мм дл., лопасти их б. м. закругленные; стеблевые дважды тройчато рассеченные, сидящие на коротких и узких влагалищах, конечные участки их продолговато ланцетные, у верхних листьев они почти линейные. Зонтики 20-(30) лучевые, с обертками из нескольких травянистых, линейных, заостренных листочков, лучи утолщенные, одинаковые, около 2,5 см дл. Зонтики 20 цветковые с оберточками, похожими на обертку. Цветы на ножках, обоеполые. Чашечка без зубцов. Лепестки желтые, 0,5 мм дл., с короткими ноготками, с широкой, слегка выемчатой, внутрь свернутой вершиной. Плоды (незрелые) яйцевидные, 2 мм дл., сжатые с боков, овальные, с узкой спайкой; ребра нитевидные, выпуклые. Смоляные каналцы между ребер широкие, одиночные, на стороне спайка их по два. Подстолбия

широко конические, столбики короткие, отогнутые наружу, рыльца утолщенные. Плодоносец свободный, разделенный до основания. Околоплодник кожистый, однородный; стереомы почти не выражены (рис. 1.1).

Цветет в июле; плодоносит в августе.

Родиной петрушки считается район Средиземноморья – Греция. В настоящее время растение культивируется практически во всех регионах с умеренным климатом, в основном, в странах Европы (Германия, Франция, Бельгия, Венгрия), Азии, США, Канаде и России. Эфирное масло производится во Франции, в Германии, Голландии и Венгрии (рис.1.2.).

В настоящее время петрушка посевная возделывается как двулетнее растение в огородах по всему свету, за исключением крайних северных районов и пустынь. Как культурное пищевое растение распространена во всех странах с умеренным климатом, в том числе в Узбекистане [7, 9-13].

Слово «*sativum*» указывает на то, что петрушку с давних времен использовали в кулинарии. Растение входит в семейство сельдереевых, поэтому неудивительно, что с греческого языка ее переводят как «рок сельдеря».

Древние греки делали из листьев петрушки гирлянду для победителей в спортивных играх. Также в Древней Греции растение использовалось в похоронных обрядах, поскольку считалось священным растением. Ею украшали гробницы и похоронные венки. Также растение было популярно в Риме и некоторых деревнях Галлии во времена правления Юлия Цезаря.

Диоскорид и Плиний использовали семена петрушки для лечения заболеваний почек, а также для стимуляции месячных и при бесплодии. Китайцы употребляли петрушку в качестве чая, чтобы контролировать



Рис. 1.1. Петрушка посевная - *Petroselinum Sativum* Hoffm.

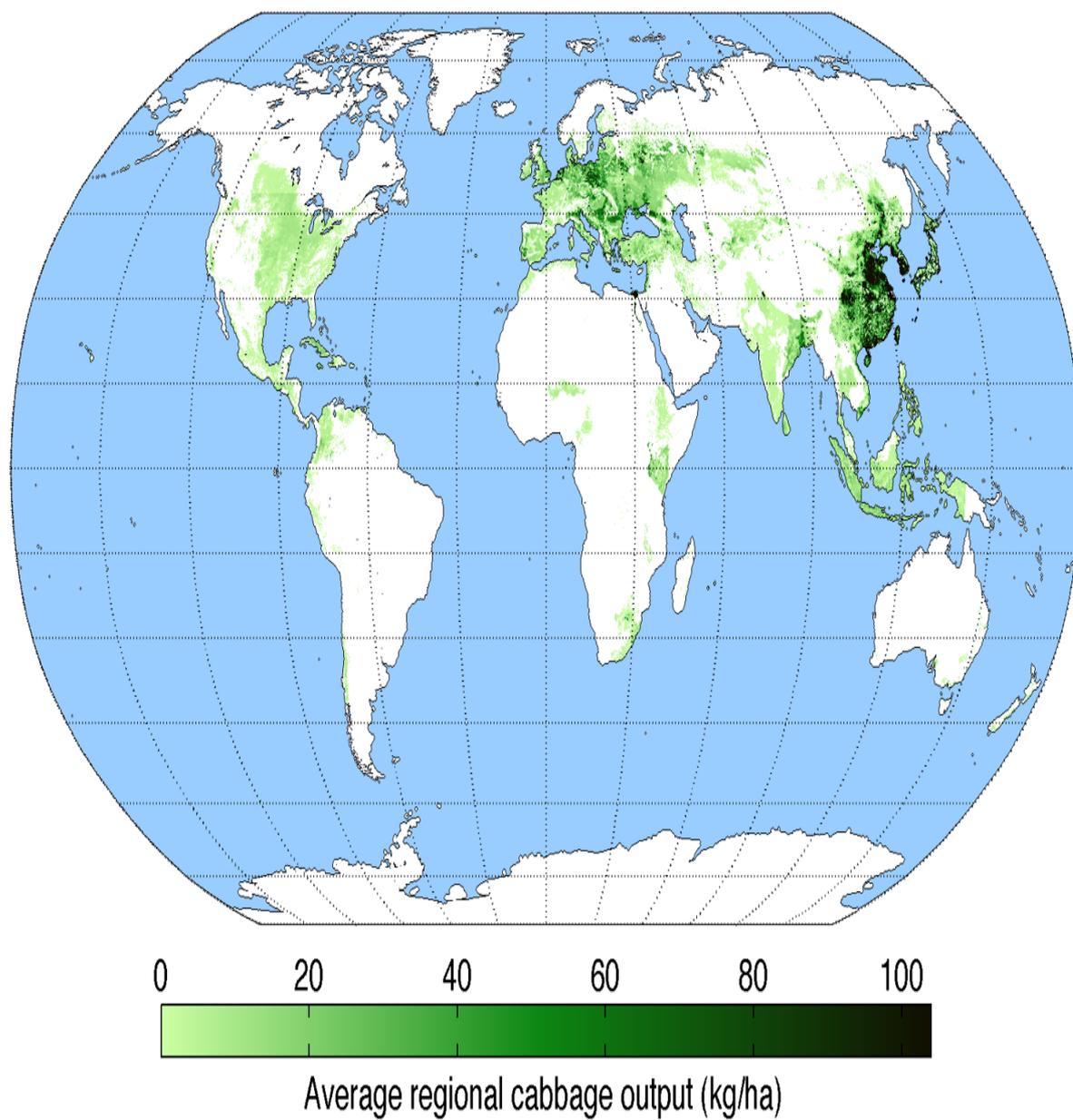


Рис.1.2. Основные районы возделывания петрушки посевной

высокое кровяное давление. Индейцы чероки использовали его как тонизирующее средство для укрепления мочевого пузыря.

В Индии эфирное масло и сушеный корень петрушки применяли в традиционной медицине. Петрушка удаляла лишнюю воду и слизь из организма, а также стимулировала приток крови к матке.

Петрушка была популярная в среднее века в монастырях императорских садах. Ее использовали для религиозных целей [14].

1.2.2. Сведения о химическом составе и применении

Петрушка посевная - ценный продукт питания, богатый различными биологически активными веществами. Во всех частях петрушки найдены эфирное масло (в плодах до 7%) и флавоноиды. Плоды также содержат фурукумарин, ароматическое вещество бергаптен и жирное масло (17-22%). В листьях найдены аскорбиновая кислота (58-290 мг%), β -каротин (1,7 мг %), токоферол (витамин E)(1,8 мг%) и другие витамины, а также белки, сахара (глюкоза, фруктоза). Корни содержат никотиновую кислоту (витамин PP) (1,0 мг%) пиридоксин (витамин B₆) (0,6 мг%), аскорбиновую кислоту (витамин C) (20,35 мг%), другие витамины и сахара (главным образом сахарозу) [15,16].

Петрушка посевная издавна используется в народной медицине. Наш великий соотечественник Абу Али Ибн Сино использовал петрушку против образования тромбов в венах, а также как потогонное, болеутоляющее, отхаркивающее, жаропонижающее и мочегонное средство [17].

Препараты петрушки усиливает мочеотделение, повышают тонус мышц гладкой мускулатуры матки, кишечника и мочевого пузыря, возбуждают аппетит, улучшают пищеварение.

Настои петрушки устраняют процессы кишечного брожения, растворяют камни в мочевом пузыре и мочевыводящих путях, регулируют менструации, способствуют отделению молока у женщин в период лактации. Кроме того, они обладают желчегонным, спазмолитическим и потогонным действием [16].

Круг терапевтического действия препаратов петрушки огромен. Они помогают при отеках сердечного происхождения, водянке, почечнокаменной болезни, воспалительных процессах в мочевом пузыре и мочевыводящих путях, функциональном нарушении пищеварения, кишечных коликах, гипотонических маточных кровотечениях в послеродовом периоде, горячке и декомпенсированных пороках сердца.

Препараты петрушки не рекомендуются принимать во внутрь при нефрите, остром цистите и подагре. Чрезмерная передозировка препаратов петрушки способна вызвать аборт [16, 18-21].

Свежий сок растения (наружно назначают при дермитах, укусах насекомых (действует обезболивающе). Отваром корневищ промывают лицо (средство от загара). Кашку из листьев или корнеплодов из настоя (после процеживания) применяют как местные аппликации на фурункулы. Мазь измельченных плодов на свином сале используют при педикулезе. Свежие листья петрушки при разжевывании уничтожают запах чеснока [22-24].

Эфирное масло петрушки:

- активирует пищеварительные процессы;
- помогает при желудочных коликах, метеоризме, диарее;
- усиливает секрецию пищеварительных ферментов в желудке;
- является сильным мочегонным средством;
- улучшает работу почек и мочевого пузыря;

- помогает при цистите и других болезнях мочевыводящих путей;
- удаляет вредные токсины из организма;
- нормализирует артериальное давление;
- снижает высокое кровяное давление;
- улучшает кровообращение;
- сужает сосуды;
- используется против вирусных инфекций;
- является жаропонижающим средством;
- освежает дыхание;
- укрепляет десны;
- заживляет раны, порезы и ушибы;
- уменьшает зуд от комариных укусов;
- снимает ревматические боли и артрит;
- применяется для лечения геморроя;
- используется при родах;
- усиливает лактацию;
- помогает при скудных или нерегулярных менструациях;
- регулирует менструальный цикл;
- повышает потенцию;
- улучшает иммунную систему;
- тонизирует;
- повышает память и умственную активность.

Косметическое воздействие

- снимает отечность век;
- избавляет от угрей, себореи, пигментных пятен;
- выравнивает тон лица;
- помогает при целлюлите;
- используется для профилактики загара;

- стимулирует рост волос;
- предотвращает выпадение волос;
- способствует устранению головных вшей.

Масло петрушки извлекают из семян, корней и листьев растения. Семена содержат больше эфирных масел, хотя все растение можно использовать для приготовления масла.

Масло петрушки либо бесцветное, либо бледно-желтого цвета и имеет более горький запах по сравнению со свежим растением.

В промышленном применении масло петрушки используется в качестве ингредиента для мыла, в косметике, изготовлении моющих средств, в парфюмерии, особенно для мужских ароматов. Оно также имеет ароматерапевтическое применение и использовалось для лечения различных заболеваний, включая желтуху и малярию. Это масло также обладает антибактериальными и противогрибковыми свойствами, которые помогают лечить прыщи, угри, кожные инфекции, а также дезинфицировать поры.

Польза для здоровья масла петрушки в основном обусловлена его уникальными растительными соединениями. Например, было обнаружено, что апигенин является мощным антиоксидантом, который обладает антиканцерогенными и противовоспалительными свойствами. А апиол обладает спазмолитическим и сосудорасширяющим эффектом.

В то время, как свежие листья петрушки можно потреблять или добавлять к маскам для лица и другим самодельным натуральным средствам, то же самое нельзя сказать о эфирном масле петрушки. Большинство брендов с петрушкой имеют высокую концентрацию и, если они используются неправильно или в чрезмерных количествах, могут

принести больше вреда, чем пользы. При использовании эфирного масла, вы всегда должны разбавлять масло петрушки маслом-носителем.

Не рекомендуется ароматерапевтическое использование масла петрушки без контроля квалифицированного врача. Не глотайте это масло, особенно в больших количествах, поскольку оно может быть гепатотоксичным, что может привести к серьезному повреждению печени. Не используйте его, если вы страдаете от любых заболеваний, связанных с печенью.

Также советуют беременным женщинам и кормящим матерям избегать использования этого масла, потому что оно является abortивным, т.е. оно может вызвать самопроизвольный аборт. Не давайте это масло и маленьким детям. При местном применении разбавляйте масло петрушки в безопасном масле, таком как масло оливковое, миндальное или кокосовое. Также лучше сделать тест на участке кожи перед его использованием, чтобы убедиться, что у вас нет аллергических реакций на него.

Настой листьев. 1 столовая ложка сырья на 400мл кипятка. Настаивают 2 ч, процеживают. Принимают по ½ стакана 4 раза в день до еды.

Настой корней (корнеплодов). 1 столовая ложка измельченного сырья на 400мл кипятка. Настаивают 2 ч, процеживают. Пьют по ½ стакана 4 раза в день до еды.

Настой плодов. 1 столовая ложка сухих плодов на 400мл кипятка. Настаивают 2 ч, процеживают. Пьют по ½ стакана 4 раза в день до еды.

Свежий сок растения. 1 столовой ложке трижды в день. Порошок из плодов (семян). По 0,5г 2-3 раза в день за пол часа до еды.

Отвар плодов. 3 чайных ложки сырья на 200мл кипятка, нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин., процеживают, отжимают, доводят теплой кипяченой водой до первоначального объема. По 1 столовой ложке 5 раз в день. При гипоменорее (скудных месячных).

Мазь на основе плодов. Измельченные плоды смешивают со свиным перетопленным салом в соотношении 1:4. Антипаразитарное средство [16].

Выводы

1. Проведенный выше обзор литературы позволяет заключить, что объект нашего исследования – петрушка посевная не только широко возделывается на территории нашей республики, но и является также источником ценных биологически активных веществ.

2. Принимая во внимание сырьевую базу петрушку посевной и практическую не изученность местного сырья этого растения, изучение его химического состава с целью внедрения в медицинскую практику представляется важной задачей.

ГЛАВА 2. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЕТРУШКИ ПОСЕВНОЙ

Для определения химического состава местного сырья петрушки посевной проведено предварительное исследование его на содержание основных групп биологически активных веществ с использованием общеизвестных качественных реакций и хроматографических методов анализа [25-42].

Результаты исследования приведены в таблице 2.1.

2.2. Идентификация и количественное определение обнаруженных веществ

2.2.1. Изучение веществ первичного обмена

И с с л е д о в а н и е о р г а н и ч е с к и х к и с л о т. Из числа водорастворимых веществ первичного синтеза хроматографией на бумаге (немецкая, марки FN-3 Mittelschnelllaufend) в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) идентифицированы винная (R_f 0,14) лимонная (R_f 0,23) и яблочная (R_f 0,31) кислоты (проявитель – 0,04 % раствор бромфенолблау) [36, 40].

Количественное определение свободных органических кислот проводили по методике ГФХІ [26]. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. 25 г измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл, заливали 200 мл воды и выдерживали в течение 2 ч на кипящей водяной бане, затем охлаждали, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводили объём извлечения водой до метки и перемешивали. Отбирали 10 мл извлечения, помещали в колбу

Результаты определения основных групп биологически активных веществ петрушки посевной

Группа БАВ	Методика	Наблюдение	Вывод
1	2	3	4
<i>1. Вещества первичного биосинтеза</i>			
Аминокислоты	Хроматография на бумаге	Красные, красно-фиолетовые пятна после обработки 0,2% раствором нингидрина	+
Витамины: Аскорбиновая кислота	Хроматография на бумаге	Бесцветное пятно на розовом фоне после обработки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия	+
Витамин К ₁	УФ- спектроскопия	В УФ-свете при длине волны 3665° А (366 нм) красная флюоресценция	+
Каротиноиды	Хроматография в тонких слоях сорбента	Синие пятна на желто-зеленом фоне после обработки раствором 10% фосфомолибденовой кислоты в этиловом спирте и последующем нагревании хроматографической пластинки при температуре 60-80°С	+
Органические	Хроматография на бумаге	Бесцветные пятна на синем	

кислоты		фоне после обработки раствором 0,04% бромфенола	+
<i>2. Вещества вторичного биосинтеза</i>			
Алкалоиды	Общеосадочные реакции	Отсутствие помутнения от действия общеосадочных реактивов	-
Азотистое основание	Хроматография на бумаге	Оранжевое пятно после обработки парами йода или реактивом Драгендорфа не появлялось	-
Эфирное масло	Перегонка с водяным паром	На границе раздела слоев наблюдается накопление следовых количеств эфирного масла светло-желтого цвета	+
Флавоноиды	Цианидиновая реакция	Оранжево-красное окрашивание раствора	+
	Реакция с 10% раствором натрия гидроксида в этиловом спирте	Интенсивность окраски раствора усиливается	+
	Реакция с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида	Желтое окрашивание раствора. В УФ-свете при длине волны 366 нм зеленовато-желтая флюоресценция	+
Кумарины	Лактонная проба	Отсутствие желтого окрашивания раствора под действием горячей разбавленной щелочи	-
	Реакция с диазотированной сульфаниловой	Отсутствие коричнево-красного	-

	кислотой	окрашивания раствора	
Дубильные вещества	Реакция с 1% раствором желатины	Помутнение раствора не наблюдалось	-
	Реакция с раствором железа хлорида	Реакция отрицательная	-
Сапонины	Реакция на пенообразование	Образования обильной пены при встряхивании извлечения 0,9 % раствором натрия хлорида не наблюдалось	-
	Гемолиз эритроцитов	Реакция отрицательная	-
Стероидные соединения	Хроматография в тонких слоях сорбента	Красно-фиолетовое пятно после проявления насыщенным хлороформным раствором сурьмы хлорида	-
Сердечные гликозиды	Реакция Либермана-Бурхарда	На границе раздела слоев не наблюдалось розового окрашивания, переходящего в зеленое	-
	Реакция Балье Неймана	Темно-желтая или оранжевая окраска не появляется	-
	Реакция Легалья	Красная окраска раствора не появляется	-
Антроцепроизводные	Реакция со щелочью	Красная окраска раствора не появляется	-
	Реакция по Международной Фармакопее	Розово-красная окраска раствора аммиачного слоя не наблюдается	-

	Реакция по ГФХ1	Вишнево красное окрашивание аммиачного слоя не наблюдается	-
--	-----------------	--	---

вместимостью 500 мл, прибавляют 200-300 мл свежей кипяченной воды, 1 мл 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина, 2 мл 0,1%-ного раствора метиленового синего и титровали раствором натра едкого (0,1 моль/л) до появления в пене лилово–красной окраски. Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах(X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)},$$

где 0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натра едкого (0,1 моль/л), г; V–объем раствора натра едкого (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, мл; m–масса сырья, г; W–потеря в массе при высушивании сырья, %.

Из приведенных данных следует, что содержание свободных органических кислот в петрушке посевной составило $3,90 \pm 0,021$ %

И с с л е д о в а н и е а м и н о к и с л о т. Пищевые растения содержат различные, весьма полезные, часто незаменимые и жизненно необходимые биологически активные вещества. К их числу относятся аминокислоты, которые благодаря реакционной способности играют исключительно важную роль в обмене веществ. Обладая широким спектром фармакологического действия, они способны придавать растительным веществам безвредность и легкоусвояемую форму, одновременно потенцируя их эффект. Имеются сведения об участии аминокислот в процессе нервной регуляции различных функций организма и выраженном влиянии их на сосудистый тонус [41, 43].

Содержание свободных аминокислот в исследуемом сырье определяли в аминокислотном анализаторе марки Т339 (Mikroetchna-Prague) с программным управлением. Аналитическая колонка «OstionLGANB» (3,7x45см), набитая катионитом. Для разделения

использовали ступенчатую элюацию буферными растворами: 0,2М (по Na^+) цитратносолянокислый рН 3,25 при 48⁰С (буферный раствор А); 0,2моль/л (по Na^+) цитратносолянокислый рН 4,25 при 48⁰С (буферный раствор В); 0,7 моль/л (по Na^+) цитратносолянокислый рН 6,25 при 63⁰С (буферный раствор С). Время прокачки последовательно буферными растворами А-15 мин, В-22 мин, С-20 мин, скорость прокачки -14 мл/ч. Реагент – нингидрин, скорость прокачки – 12 мл/ч.

Около 1г (точная навеска) измельченного сырья помещали в круглодонную колбу со шлифом, прибавляли 20 мл воды очищенной и нагревали на водяной бане в течение 1 ч с обратным холодильником. Затем охлаждали до комнатной температуры. Полученные извлечения фильтровали через ватный тампон. Первые 10 мл фильтрата отбрасывали, последующие порции фильтрата упаривали досуха в вакууме. Сухой остаток (точная навеска) растворяли в 5 мл натриево-цитратного буфера (рН 2,2), после чего 0,1 мг полученного раствора использовали для анализа.

После обсчета и интерпретации полученных хроматограмм с помощью интегратора, которым снабжен аминокислотный анализатор, установлено, что специфический набор свободных аминокислот в листьях петрушки посевной тождественен и включает 18 компонентов, из которых 7 являются незаменимыми аминокислотами (табл. 2.2).

Как видно из данных, приведенных в таблице 2.2, в сумме свободных аминокислот петрушки посевной количественно преобладают аспарагиновая, глутаминовая кислоты, пролин. Следует также отметить достаточно высокое содержание лейцина, аланина, лизина и валина.

Большинство из перечисленных мажорных аминокислот обладает широким спектром биологической активности. Так, пролин способствует

усилению регенеративных процессов в организме, снижению уровня холестерина в крови, аспарагиновая кислота связывает избыточные количества аммиака, который является токсичным для организма соединением [44].

Таблица 2.2

Аминокислотный состав в листьях петрушки посевной

Аминокислоты	Содержание, %
Аспарагиновая кислота	0,29
Глутаминовая кислота	0,24
Серин	0,14
Пролин	0,21
Глицин	0,15
Аланин	0,19
Валин*	0,17
Метионин*	0,04
Изолейцин*	0,12
Лейцин*	0,20
Тирозин	0,08
Фенилаланин*	0,15
Гистидин	0,06
Лизин*	0,18
Аргинин	0,12
Цистин	0,01
Триптофан*	0,05
Треонин	0,12
Содержание незаменимых аминокислот (от общей суммы аминокислот)	36%

Таким образом, в результате проведенного исследования впервые установлен аминокислотный состав петрушки посевной, культивируемой в Ташкентской области. Обнаружены индивидуальные особенности в накоплении аминокислот в петрушке посевной.

Исследование витаминов. Витамины, будучи различными по своей химической природе и физиологическому действию биологически

активными веществами, необходимы для процессов усвоения организмом всех пищевых веществ, для роста и восстановления клеток и тканей и для других жизненно важных процессов.

Как известно, в организм человека все витамины поступают только с пищей. Поэтому отсутствие или недостаток витаминов в питании человека является причиной возникновения глубоких нарушений обмена веществ в организме и в функциях определенных органов, которые в конечном итоге приводят к возникновению тяжелых заболеваний.

Однако, использование витаминов в клинической практике давно вышло за рамки их применения только как средств, ликвидирующих состояние гипо- или авитаминоза. Их широкое участие в самых интимных процессах метаболизма позволяет применить их для профилактики и лечения различных заболеваний, дополняя, усиливая а в некоторых случаях улучшая действие других лечебных средств.

В первую очередь они используются для нормализации обмена веществ, в котором их роль исключительно велика [1,2,16,45].

Поскольку одним из важнейших источников поступления в организм человека витаминов являются пищевые растения, представляло интерес изучить витаминный комплекс петрушки посевной.

Для определения и количественного определения водорастворимых витаминов в сырье использовали метод ВЭЖХ, принимая во внимание его высокую чувствительность, быстроту и возможность одновременного определения нескольких компонентов.

100 г сырья растирали в фарфоровой ступке, после чего полученную кашицеобразную массу отфильтровывали через трехслойную марлю и центрифугировали фильтрат со скоростью 5000 об/мин в течение 20 мин.

Перед введением в колонку хроматографа испытуемую пробу пропускали через миллипор. Параллельно готовили стандартные растворы витаминов в концентрации 0,01г/100мл. Для растворения стандартов использовали смесь 94 мл воды, 5 мл ацетонитрила и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Исследование проводили на жидкостном хроматографе фирмы Agilent Technologies 1200 Series с колонкой C-18, 150x4,6мм, заполненной сорбентом EclipseXDBc размером частиц 3,5 микрон. Анализ проводили в градиентном режиме элюирования. В качестве подвижной фазы использовали двухкомпонентную элюентную систему: метанол для ВЭЖХ (раствор В)- 4ммоль/л натрия гексан сульфат с рН, доведенным до 3,0 фосфорной кислотой (раствор А)(табл.2.3).

Температура комнатная, скорость подачи элюента - 0,8 мл/мин; объем вводимой пробы (смесь стандартных растворов витаминов) 20 мкл, продолжительность хроматографирования- 18 мин. Детектирование вели при 220 нм.

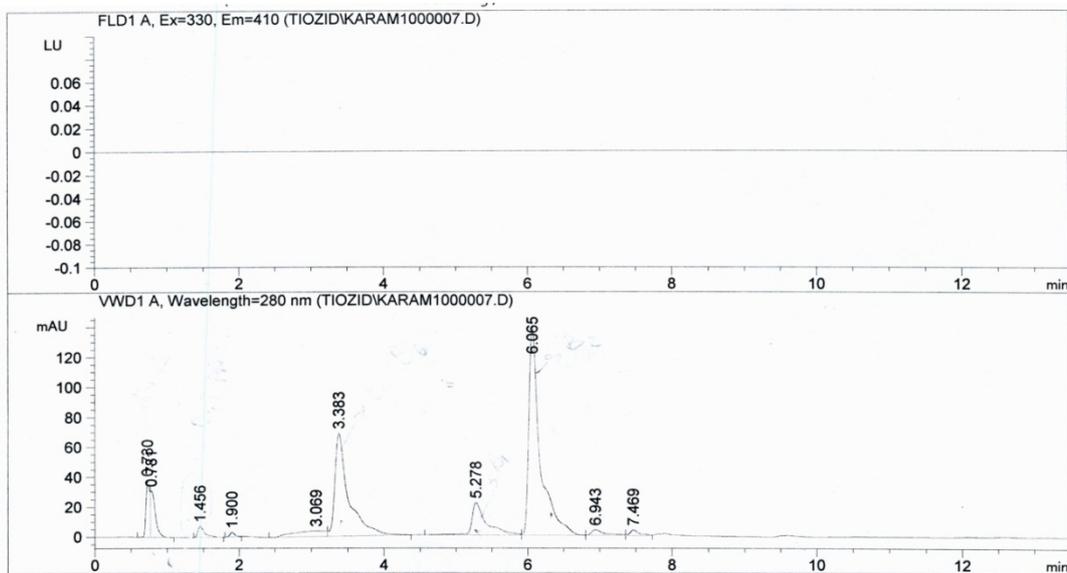
Таблица 2.3

Форма градиента

Время, мин	Б, %	А, %
0	5	95
3	15	85
5	30	70
10	50	50
12	70	30
14	5	95
16	5	95

Идентификацию веществ на хроматограммах испытуемого извлечения проводили путем сопоставления времен удерживания их пиков с временами удерживания пиков стандартных образцов. Количественное содержание отдельных витаминов в процентах (X), в пересчете на абсолютное сухое сырье вычисляли по формуле:

$$X =$$



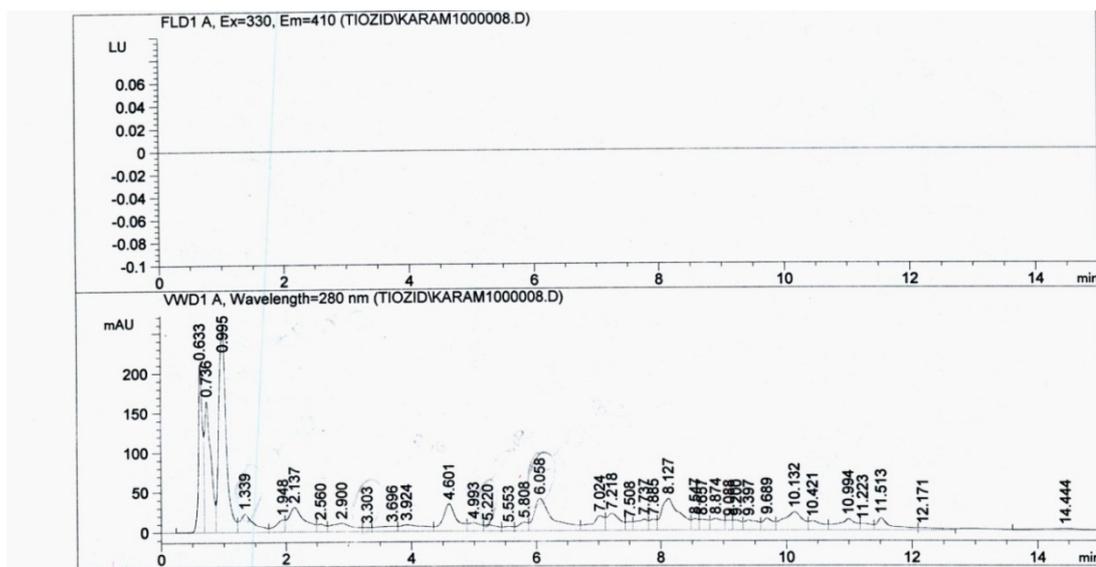


Рис.2.2. Хроматограмма водорастворимых витаминов петрушки посевной

Таблица 2.4

Состав и количественное содержание водорастворимых витаминов
петрушки посевной

Идентифицированные витамины	Время удерживания, мин	Содержание, мг %
Аскорбиновая кислота (С)	0,736	19,63-22,12
Никотинамид (РР)	1,339	1,41-1,53
Пиридоксин (В ₆)	3,303	0,11-0,12
Тиамин гидрохлорид (В ₁)	5,220	0,62-0,64
Рибофлавин (В ₂)	6,058	1,13-1,21

Установлено, что по содержанию указанных выше витаминов отечественное сырье петрушки посевной не уступает зарубежным аналогам, что в сочетании с содержанием других ценных биологически

активных веществ открывает перспективу создания лекарственных средств широкого спектра действия на его основе.

Для определения жирорастворимых витаминов из исследуемого сырья готовили гексановые извлечения. Методом нисходящей хроматографии на бумаге, пропитанной 5% раствором силикона (DowCorningSiliconeN1107) в циклогексане, в системе растворителей этанол-уксусная кислота-вода (75:2,5:22,5) в гексановом извлечении обнаружено вещество с R_f 0,11, которое при облучении ультрафиолетовым светом флюоресцирует красным цветом, переходящим в зеленый, а при проявлении щелочью – оранжевым цветом [36].

При хроматографировании указанного извлечения на пластинках «SilufolUV-254» в петролейном эфире также было обнаружено одно вещество с R_f 0,36 со схожим описанному выше хроматографическим поведением.

Значение R_f и особенности хроматографического поведения обнаруженного вещества позволили отождествить его с витамином K_1 (филохиноном).

Для подтверждения полученных данных спиртовые извлечения сырья подвергали препаративной хроматографии на пластинках «Silufol UV-254» в петролейном эфире. Зону соответствующую при облучении ультрафиолетовым светом витамину K_1 , элюировали петролейным эфиром и определяли светопоглощение выделенного вещества на спектрофотометре «Agilent Technologies» (США). Выделенное вещество в петролейном эфире имело максимумы поглощения при 243, 249, 261, 270, 325 нм и минимумы при 228, 246, 254, 285, 287 нм, что, по литературным данным, соответствует витамину K_1 .

В гексановом извлечении методом тонкослойной хроматографии на «Silufol UV-254» в системе гексан – диэтиловый эфир (17:3) обнаружили так же несколько веществ каротиноидной природы, проявляющихся в виде

пятен синего цвета на желто-зеленом фоне после обработки 10% спиртовым раствором фосфорномолибденовой кислоты и прогрева при температуре 60-80 °С, одно из которых по значению Rf (0,48) идентифицировали с β -каротином [40].

Количественное определение каротиноидов. Около 2,0 г (точная навеска) измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой, прибавляли 25 мл гексана, оставляли на 10 мин, обернув колбу темной бумагой. Затем проводили экстракцию на встряхивателе в течение 15 мин. После этого извлечение фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 50 мл так, чтобы частицы не попадали на фильтр. Вату помещали в колбу для экстрагирования и прибавляли еще 25 мл гексана. Экстракцию повторяли в описанных выше условиях. Извлечения объединяли и доводили до метки гексаном. В ходе эксперимента определено, что спектры поглощения полученного извлечения имели максимумы поглощения в области, близкой к максимуму поглощения β -каротина, а именно около 445 ± 5 нм.

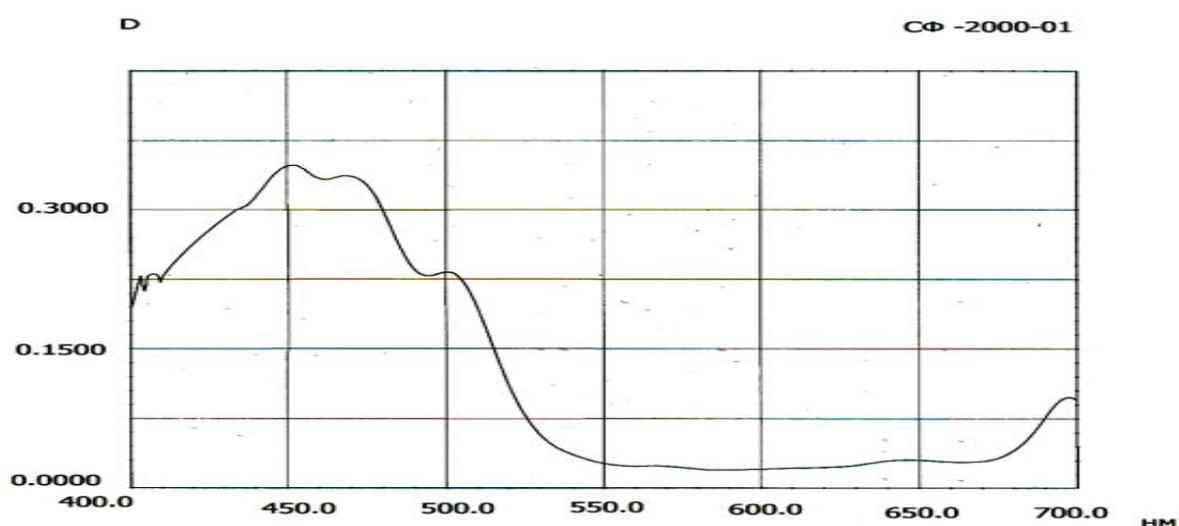


Рис.2.3. Спектр поглощения гексанового извлечения листьев петрушки посевной

Поэтому оптическую плотность раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 440 ± 5 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали гексан.

Содержание суммы каротиноидов в мг% (X) в пересчете на β -каротин вычисляли по формуле :

$$X =$$

Полученные хроматографические пики анализировали путем сопоставления их масс-спектров, выведенных из ключевых точек точек базы данных, с библиотечными данными спектров.

Таким образом, в составе эфирного масла идентифицированы 45 соединений (табл. 2.5).

Таблица 2.5.

Компонентный состав эфирного масла листьев *Petroselinum crispum*

№	Соединение	Время удерживания, мин	Содержание, %
1.	2	3	4
2.	Гексанол-3	3,02	0,15
3.	Гексанол-2	3,10	0,12
4.	Гексанон-3	3,24	0,11
5.	Гексанон-2	3,36	0,13
6.	3-метилпентанон	5,90	0,18
7.	В-пинен	6,19	0,27
8.	мирцен	6,40	0,31
9.	лимонен	7,63	0,21
10.	В-фелландрен	7,94	2,35
11.	Терпинолен	9,92	0,15
12.	Линалоол	10,64	0,11
13.	Нонаналь	11,08	0,06
14.	Пара-, α -диметилстирен	11,41	0,79
15.	1,3,8-пара-ментатриен	11,63	0,15

16.	Пара-цимен-8-ол	15,99	0,21
17.	Криптон	16,50	0,52
18.	Пара-метилацетофенон	16,96	0,36
19.	2-(4'-метилфенил)-пропаналь	17,16	0,16
20.	Тимол	17,84	0,18
21.	А-копаен	18,34	0,34
22.	Фелландраль	18,77	0,21
23.	β -элемен	19,37	7,05
24.	Пентадекан	19,93	0,22
25.	β -кариофиллен	20,48	0,46
26.	γ -элемен	20,92	0,75
27.	β -фарнезен	21,35	0,24
28.	β -дамаскенон	21,98	0,24
29.	Гермакрен D	22,93	1,43
30.	В-селинен	23,07	0,21
31.	В-сесквифелландрен	23,99	0,34
32.	δ -кадинен	24,35	0,31
33.	Фарнезол	25,72	0,18
34.	Гермакрен B	25,84	2,99
35.	Каротол	27,02	5,48
36.	Миристицин	28,23	50,55
37.	Неофитадиен	29,14	4,64
38.	Бензилкаприлат	30,25	0,27
39.	Бутилфталид	30,84	0,50

40.	Бутилиденфталид	30,94	0,17
41.	Апиол	31,08	1,78
42.	Бутилидендигидрофталид	32,09	0,21
43.	Пальмитиновая кислота	32,44	0,28
44.	Бензилбензоат	32,72	0,29
45.	фитол	34,04	1,11
Не идентифицировано компонентов		16	13,23

И с с л е д о в а н и е ф л а в о н о и д о в. Для определения флавоноидов спиртовые извлечения из сырья подвергали хроматографическому исследованию на бумаге (немецкая, марки FN-3 Mittelschnell laufend) в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5). В аналогичных условиях проводили разделение аутентичных образцов («свидетелей»). Флавоноиды определяли по характеру флюорисценции в УФ- свете до и после обработки хромогенными реактивами (парами аммиака, спиртовым раствором натрия гидроксида, 1 % спиртовым раствором алюминия хлорида) и сопоставлением значений R_f обнаруженных веществ и аутентичных образцов. Идентификацию флавоноидов на хроматограммах проводили также путем внесения заведомо известных соединений в экстракт. При этом наблюдали усиление соответствующего пятна [46,47].

Результаты хроматографического анализа представлены в таблице 2.6.

Количественное определение флавоноидов. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г (точная навеска) сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляли 30 мл 90% спирта,

Цветные реакции и данные хроматографического анализа флавоноидных соединений петрушки посевной

№ пятна	Значение Rf в системе БУВ (4:1:5)	1% раствор AlCl ₃ в этаноле	5% раствор натрия гидроксида	Характер флюоресценции в УФ-свете		Идентифицированный флавоноид
				До обработки парами аммиака	После обработки	
1	0,45	Бледно-желтая	желтая	желтая	желтая	Рутин
2	0,78	Бледно-желтая	желтая	Ярко-желтая	Ярко-желтая	Кверцетин

содержащего 1% концентрированной хлористоводородной кислоты, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем колбу охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию повторяли еще раз указанным выше способом, затем еще 1 раз 90% спиртом в течение 30 мин. Извлечения фильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу, промывали фильтр 90% спиртом и доводили объем фильтрата 90% спиртом до метки (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 2 мл раствора А, прибавляли 1 мл 1% раствора алюминия хлорида в 95% спирте и доводили объем раствора 95% спиртом до метки. Через 20 мин измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 430 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 2 мл раствора А, доведенного 95% спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25мл.

С целью пересчета содержания суммы флавоноидов на кверцетин использован удельный показатель поглощения заимствованный из литературных источников [48,49].

Согласно найденным данным, удельный показатель поглощения комплекса раствора ГСО кверцетина с алюминия хлоридом при аналитической длине волны 430 нм составляет 764,6.

На этом основании в формулу расчета включено теоретическое значение.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на кверцетин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$x =$

мерную колбу вместимостью 100мл и, через мембранный фильтр с размером пор 0,2 мм.

Подготовка образцов стандартов. Около 0,01 г (точная навеска) рабочих стандартных образцов рутина и кверцетина помещали в мерные колбы вместимостью 100 мл, доводили объем растворов до метки тем же растворителем и перемешивали.

По 20 мкл исследуемого раствора и рабочих стандартных образцов вводили в хроматограф и хроматографировали в вышеприведенных условиях.

Оптимальное разделение веществ наблюдалось при градиентном элюировании указанной подвижной фазой, поступающей при следующем соотношении ее компонентов.

Идентификацию отдельных флавоноидов на хроматограммах испытуемых растворов проводили путем соотношения времен удерживания их пиков с временами удерживания пиков стандартных образцов. Количественное содержание отдельных флавоноидов определяли методом внешнего стандарта.

Время, мин	A, %	B, %
1	80	20
5	70	30
7	30	70
10	30	70
12	80	20
14	80	20

Результаты исследования приведены на рисунке 2.4 и в таблице 2.7.

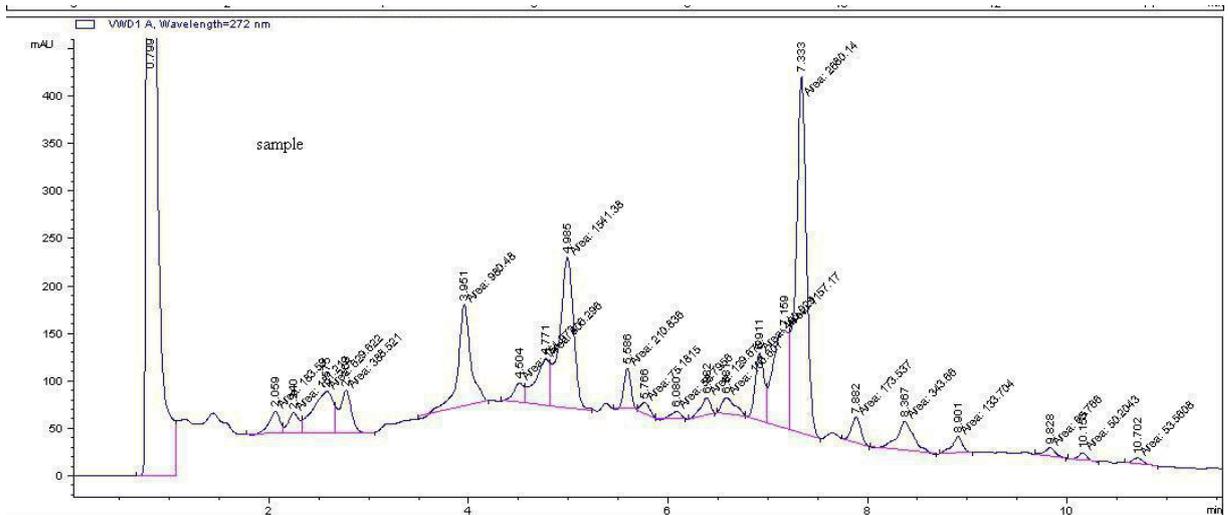


Рис. 2.4 Хроматограмма флавоноидов петрушки посевной

Таблица 2.7.

Состав и количественное содержание флавоноидов петрушки посевной

Время удерживания, мин	Идентифицированные флавоноиды	Содержание, мг %
7,090	Рутин	0,18
8,898	Кверцетин	0,39

2.2.3. Изучение минеральных веществ

Как известно, растения являются естественными источниками жизненно необходимых минеральных комплексов. Все процессы обмена веществ в организме, включая внутриклеточный, совершаются при обязательном участии определенных химических элементов. Находясь в растениях в минорных количествах в органически связанной, то есть наиболее доступной и легко усвояемой форме, минеральные элементы

обеспечивают постоянство осмотического давления, кислотно-основного равновесия, включаются в различные реакции обмена веществ, процессы всасывания, секреции, кроветворения, свертывания крови, выделения из организма метаболитов. Многие ферментативные процессы не возможны без участия минеральных веществ[16].

Определение элементного состава капусты огородной проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой [50]. Образцы сырья разлагали в смеси азотной перхлорной кислот (8:2) в микроволновой печи « Milestone» при программировании мощности от 250 до 500 Вт и температуры от 180 до 220° С. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и использовали в дальнейшем для прямого ввода в спрей-камеру прибора масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой (ISP-MS) AT7500 а фирмы Agilent Technologies.

Параметры прибора: мощность плазмы-1200 Вт, время интегрирования- 0,1 сек, скорость вращения перистальтического насоса- 0,1 об/сек. Остальные параметры прибора установлены в процессе настройки и оставались неизменными между периодами проведения технического обслуживания. В качестве стандарта использовался мультиэлементный стандартный раствор с содержанием целевых компонентов 1,0 мг/л. В результате анализа в листьях капусты огородной установлено наличие 46 минеральных элементов (табл.2.8).

В результате сопоставления концентрации тяжелых металлов в анализируемом сырье с их кларками установлено, что их содержание практически соответствует незагрязненным территориям [51]. Токсичные минеральные элементы определены в образцах в пределах, допустимых СанПиН 0138-03 [52] для биологически активных добавок на растительной основе, что указывает на экологическую безопасность сырья.

Элементный состав листьев петрушки посевной

Элементы	Содержание, мг/кг	Элементы	Содержание, мг/кг
Li	8,6	As	1,81
B	124,2	Se	17,1
Na	452	Y	0,597
Mg	400	Sr	17,3
P	436	Zr	0,29
K	2683	Nb	0,04
Ca	1140	Mo	4,30
Sc	0,231	Ag	0,068
Ti	7,5	Cd	0,028
V	0,750	In	0,003
Cr	3,96	Sn	0,464
Mn	9,81	Cs	0,496
Fe	22,04	Ba	10,5
Co	0,313	La	1,19
Ni	11,2	Ce	1,34
Cu	780	Nd	0,712
Zn	5,44	Rb	23,6

Уровень тяжелых металлов, установленный для петрушки посевной, может быть использован как ориентировочный критерий чистоты сырья в последующих экологических исследованиях.

Из полученных данных следует, что в концентрациях от 100 до 1000 мг/кг содержатся 7 элементов (B, Na, Mg, P, K, Ca, Cu), в пределах от 10 до 100 мг/кг 6 элементов (Ni, Fe, Se, Sr, Ba, Rb), от 1 до 10 мг/кг 8 элементов (Li, Cr, Mn, Zn, As, Mo, La, Ce) и ниже 1 мг/кг 12 элементов (Sc, V, Co, Y, Zr, Nb, Ag, Cd, In, Sn, Cs, Nd).

В листьях петрушки посевной отмечено наличие таких важнейших элементов, как железо, кальций, магний, марганец, хром, цинк, молибден, медь, оказывающих положительное влияние на жизнедеятельность организма.

Указанные элементы в определенной степени способствуют повышению фармакологической ценности данного сырья благодаря благоприятному сочетанию с его основными биологически активными веществами.

Выводы

1. В результате проведенного исследования установлен комплекс биологически активных соединений петрушки посевной, включающий органические кислоты, витамины, аминокислоты, эфирное масло, флавоноиды, микро- и макроэлементы.

2. Определены химическая природа и количественное содержание обнаруженных биологически активных веществ.

ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ И БЕЗОПАСНОСТИ МЕСТНОГО СЫРЬЯ ПЕТРУШКИ ПОСЕВНОЙ

3.1 Определение токсичных тяжелых металлов

В соответствии с рекомендациями ВОЗ в листьях петрушки посевной, выращиваемой в Узбекистане, определено содержание потенциально опасных контаминантов - токсичных тяжелых металлов, радионуклидов, хлорорганических пестицидов, исследована также их микробиологическая чистота.

Загрязнение окружающей среды в последние годы повлекло за собой изменение экологических условий во многих районах заготовок лекарственного растительного сырья. Это диктует необходимость проведения на современном уровне оценки качества сырья лекарственных растений с учетом не только традиционных фармакопейных показателей, но и требований экологической чистоты и безопасности [53].

При оценке безопасности лекарственного растительного сырья необходимо учитывать все потенциальные факторы риска, специфичные для данной группы лекарственных средств.

Среди причин риска медицинского применения лекарственного растительного сырья ВОЗ указывает возможность загрязнения его потенциально токсичными чужеродными веществами (токсичные тяжелые металлы, радионуклиды, пестициды, микробная загрязненность и др.). В соответствии с европейским подходом определение указанных контаминантов и остаточных загрязнений относят к обязательным испытаниям лекарственного растительного сырья с точки зрения его безопасности и экологической чистоты [54].

Определение содержания в сырье токсичных тяжелых металлов – свинца и кадмия, которые объединенная комиссия ФАО и ВОЗ по

пищевому кодексу (Codex Alimentaries) относит к числу компонентов, подлежащих обязательному контролю при международной торговле продуктами питания [51], проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии (прибор Shimadzu 6501 S) с пламенной и беспламенной атомизацией [55,56] .

Около 2 г воздушно-сухого сырья (точная навеска) помещали в термостойкий стакан вместимостью 250 мл и заливали 20 мл смеси концентрированной азотной и хлористоводородной кислот. Вращательным движением стакана осторожно перемешивали содержимое и оставляли на 3 ч. Затем добавляли еще 10 мл концентрированной азотной кислоты, помещали на закрытую электроплиту и осторожно нагревали до уменьшения объема 10 мл. Немного охладив, добавляли 50 мл очищенной воды при перемешивании, вновь помещали на электроплиту и упаривали до небольшого объема. После охлаждения приливали 20 мл хлористоводородной кислоты (1:10) и отфильтровывали через складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Остаток на фильтре промывали и доводили объем фильтрата в мерной колбе до метки очищенной водой.

Определение свинца выполнялось в беспламенном режиме при атомизации в графитовой печи атомно-абсорбционного спектрофотометра в потоке аргона. Диапазон измеряемых концентраций свинца без разбавления- 0,1 ppm – 20 ppm; предел обнаружения свинца- 0,05 ppm . Диапазон измеряемых концентраций кадмия без разбавления- 0,003-1,0 ppm ; предел обнаружения кадмия - 0,003 ppm.

Атомно-абсорбционный спектрофотометр подготавливали к работе в соответствии с техническим описанием и инструкцией по его эксплуатации. Условия измерения свинца и кадмия приведены в таблице 3.1. Для учета неселективного поглощения спектрофотометр снабжен

**Аналитические параметры атомно-абсорбционного определения
элементов**

Определяе мый элемент	Ток лампы с полым катодо м, μA	Длина волны с резонанс ной линии, нм	Ширина щели, нм	Объемный расход аргона, л/мин	Температу ра атомизаци и, $^{\circ}\text{C}$	Время атомиза ции, ч
Свинец	10	278,2	0,3	1,0	1800	46
Кадмий	8	225,4	0.1	1,0	1500	46

оптическим корректором, дейтериевой лампой. Градуировку прибора проводят по серии растворов сравнения, приготовленных разбавлением ГСО.

После построения градуировочного графика в графитовую печь последовательно вводили приготовленные экстракты из листьев капусты огородной. По градуировочному графику определяли массовую долю металла в вытяжках.

Массовую долю элемента в анализируемой пробе растения (ppm) рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{a \cdot V \cdot r}{P},$$

где: a – массовая доля металла в вытяжке, найденная по градуировочному графику, мкг/мл; V – объем вытяжки, мл; r – кратность разбавления вытяжки; P – навеска пробы, г.

Результаты определения токсичных тяжелых металлов в исследуемом сырье приведены в таблице 3.2..

Таблица 3.2.

**Результаты определения токсичных тяжелых металлов в листьях
петрушки посевной**

№	Определяемый элемент	Предельно допустимые концентрации в продуктах питания, ppm	Фактическое содержание в исследуемом сырье, ppm
1	Pb	1.0	0.225
2	Cd	0.1	0,042

Полученные данные свидетельствуют о том, что содержание токсичных тяжелых металлов, подлежащих первоочередному контролю, в листьях петрушки посевной не превышает допустимых значений.

3.2. Определение радионуклидов

Определение радионуклидов проводили методом гамма-спектрометрического анализа [57] на сцинтиллярном гамма-бета-спектрофотометре МКС-АТ 1315, принцип действия которого основан на накоплении и обработке амплитудного спектра импульсов, поступающих от автономных блоков детектирования гамма- и бета-излучения. Амплитуда импульсов, пропорциональная энергии гамма- и бета-излучения, преобразуется в цифровой код, который хранится в запоминающем устройстве блока обработки информации. Информация из запоминающего устройства в реальном масштабе времени считывается персональным компьютером и по обработке выводится на монитор. Для

обработки спектра поставляется программное обеспечение на гибком магнитном диске 3D дюйма.

В эксперименте относительное энергетическое разрешение по гамма-линии 662 кэВ составляет не менее 7,5 %. Испытания проводили при температуре воздуха 23 ° С и относительной влажности 56 %.

Из данных, приведенных ниже в таблице 3.3, можно заключить, что исследуемое сырье в полной мере отвечает требованиям радиационной безопасности.

Таблица 3.3.

Результаты определения радионуклидов в петрушке посевной

Показатели	Норма согласно требований Сан Пин №0193-06 п.п.1,107	Результаты исследования	Соответствие сырья требованиям Сан Пин
Содержание ^{137}Cs , Бк/кг	400	<25,4	Соответствует
Содержание ^{90}Sr , Бк/кг	200	<41,2	Соответствует

3.3. Определение остаточных количеств хлорорганических пестицидов

Определение остаточных количеств хлорорганических пестицидов проводится методом газо-жидкостной хроматографии [58,59].

Хроматографический метод основан на извлечении остаточных количеств пестицидов органическим растворителем с последующим определением на хроматографе (модель – 3700) с детектором электронного захвата (ДЭЗ), колонка 1,0м x 3, заполненная хроматоном N-AW-DMCS

(или N-AW-НМСС, или N-super) размером 0,120-0,20 mm с массовой долей 5 % неподвижной фазы OV-17 или SE-30. Температура термостата колонки- 210⁰С, температура испарителя- 240⁰С, температура детектора- 270⁰С. Расход газа носителя- 40 мл/мин.

Около 5 г высушенного и измельченного сырья (точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, приливали 15 мл смеси ацетона с водой (1:1) и оставляли закрытую колбу на 15 ч. Затем к увлажненной пробе приливали 15 мл гексана. Содержимое колбы перемешивали на аппарате для встряхивания в течение 1 ч. Экстракт осторожно декантировали в стакан, оставляя сырье в колбе. После в колбу вновь приливали 20 мл гексана и экстракцию повторяли в течение 30 мин.

Полученный второй экстракт также осторожно декантировали в стакан. Экстракты объединяли, отфильтровывали небольшими порциями через воронку, заполненную безводным сернокислым натрием и оксидом алюминия, в круглодонную колбу ротационного вакуумного испарителя вместимостью 50 мл. Порциями отгоняли растворитель до объема 1 мл.

Остаток переносили в пробирку вместимостью 10 мл, колбу омывали 2 мл гексана. В хроматограф вводили 4 мл полученного раствора. α -гексахлорциклогексан (α -ГХЦГ), γ -гексахлорциклогексан (γ -ГХЦГ), 4,4-дихлордифенилдихлорэтилен (n,n' -ДДЭ), 4,4-дихлордифенилдихлорэтан (n,n' -ДДД), 4,4 дихлорфенилтрихлорэтан (n,n' -ДДТ) и альдрин идентифицировали среди других компонентов (появляющихся на хроматограмме в виде пиков) по времени удерживания. В качестве параметра при расчетах использовали высоту пика.

Содержание каждого ингредиента в анализируемой пробе определяли методом соотношения с аналогичным компонентом градуировочного раствора смеси хлорорганических пестицидов (ХОП). Объемы вводимых в хроматограф аликвот градуировочного раствора и экстракта были одинаковы. Из подготовленных экстрактов отбирали микрошприцем по 4

мл и последовательно вводили в испаритель хроматографа. Затем вводили такое же количество раствора смеси ХОП. После идентификации α -ГХЦГ, γ -ГХЦГ, n,n' -ДДЭ, n,n' -ДДД, n,n' -ДДТ и альдринана хроматограммах анализируемых проб измеряли высоты соответствующих пиков. Одновременно измеряли высоты пиков этих компонентов, полученных для раствора сравнения. Идентификацию пестицидов осуществляли, используя базу данных программного обеспечения, а их содержание рассчитывали, исходя из площадей пиков.

Массовую долю α -ГХЦГ, γ -ГХЦГ, n,n' -ДДЭ, n,n' -ДДД, n,n' -ДДТ, альдринана в пробе сырья (мкг/кг) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{C \cdot h_x \cdot V \cdot R}{h_{cm} \cdot m},$$

где: C – концентрация пестицида в градуировочном растворе смеси, мг/мл; h_{cm} – высота пика пестицида на хроматограмме градуировочного раствора смеси, мм; h_x – высота пика пестицида на хроматограмме анализируемой пробы, мм; V – объем экстракта, подготовленного для хроматографического анализа, мл; R – кратность разбавления экстракта для пестицида; m – навеска пробы, г.

Результаты обобщены в таблице 3.4.

Из представленных данных следует, что остаточное содержание хлорорганических пестицидов в изучаемом сырье не превышает установленных норм.

Остаточное содержание пестицидов в листьях петрушки посевной

№	Хлорорганические пестициды, мг/кг	Предельное содержание, мг/кг	Содержание пестицидов в исследуемом сырье, мг/кг
1	α -ГХЦГ	0,05	0,039
2	γ - ГХЦГ	0,05	0,035
3	ДДЭ	1,0	н/о
4	ДДД	1,0	н/о
5	ДДТ	1,0	н/о
6	Альдрин	0,05	н/о

Примечание: предельное содержание пестицидов в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи 6 изд., 2008 и директивами Европейского сообщества 76/895 и 90/642.

3.4. Определение микробиологической чистоты

Принимая во внимание, что лекарственные средства могут быть контаминированы микроорганизмами, проведено также испытание сырья на микробиологическую чистоту согласно указаниям статьи ГФ Х1 «Методы микробиологического контроля лекарственных средств» и Изменения № 2 от 12.10.2005 г., категория 4 А [26,60,61].

Испытание на микробиологическую чистоту проводили официальным двухслойным агаровым методом в чашках Петри диаметром 90-100 мм. Образец сырья в количестве 10 г суспендировали в фосфатно-буферном растворе (рН 7,0) так, чтобы конечный объем суспензии был 100 мл. Приготовленную суспензию образца вносили в каждую из двух пробирок с 4 мл расплавленной и охлажденной до температуры от 45° С до 50° С среды №1 (соево-казеиновый агар). Быстро перемешивали содержимое пробирок и переносили в чашки Петри, содержащие 15-20 мл соответствующей питательной среды. Быстрым покачиванием чашек

Петри равномерно распределяли верхний слой агара. После застывания среды чашки переворачивали и инкубировали в течение 5 суток при температуре 35° С. Посевы просматривали ежедневно. Через 48 ч и окончательно через 5 суток подсчитывали число бактериальных колоний на двух чашках, находили среднее значение и, умножая на показатель разведения, вычисляли число микроорганизмов на 1 г образца. Определение общего числа грибов проводили описанным выше агаровым методом, используя среду Сабуро .

Выявление и идентификацию бактерий семейства *Enterobacteriaceae* , *Pseudomonasaeruginosa* , *Staphylococcus aureus* проводили в соответствии с требованиями ГФ Х1.

Результаты определения приведены в таблице 3.5.

Таблица 3.5.

Показатели микробиологической чистоты листьев петрушки посевной

Показатели	Требование нормативных документов	Результаты анализа	Соответствие требованиям НД
Общечисло аэробных бактерий (в 1 г образца)	Не более 10^5	Менее 10^3	Соответствует
Общее число дрожжевых и плесневых грибов (в 1 г образца)	Не более 10^4	Менее 10^4	Соответствует
Группа <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i>), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Должны отсутствовать	Отсутствуют	Соответствует

В результате показано, что исследуемое сырье является экологически чистым и безопасным для применения, поскольку указанные показатели не превышают допустимых значений.

Как видно из приведенных данных, листья капусты огородной в полной мере соответствуют требованиям, предъявляемым к лекарственному растительному сырию в отношении микробиологической чистоты.

В листьях петрушки посевной, определено содержание потенциально опасных контаминантов – токсичных тяжелых металлов, радионуклидов, пестицидов и микробное загрязнение. Показано, что исследуемое сырье является экологически чистым и безопасным для применения, поскольку содержание указанных выше экотоксикантов не превышает установленных норм.

Выводы

1. В листьях петрушки посевной, выращиваемой в Узбекистане, определено содержание потенциально опасных контаминантов - токсичных тяжелых металлов, радионуклидов, хлорорганических пестицидов, исследована также их микробиологическая чистота.

2. В результате проведенного исследования установлено, что местное сырье петрушки посевной является экологически чистым и безопасным для применения, поскольку содержание указанных выше экотоксикантов не превышает установленных норм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые приведены исследования по изучению химического состава местного сырья петрушки посевной.

2. Установлено, что комплекс биологически активных соединений листьев петрушки посевной, обуславливающий ее специфическую активность, представлен органическими кислотами, аминокислотами, витаминами (С, В₁, В₂, В₆, В₁₂, РР, К₁, каротиноиды), эфирным маслом, флавоноидами и минеральными элементами.

3. Определены состав и количественное содержание основных групп биологически активных веществ.

4. Изучены микробиологическая чистота сырья и содержание в нем токсичных тяжелых металлов, остаточных количеств хлорорганических пестицидов, а также радионуклидов. Полученные данные позволили отнести его к числу экологически чистых и безопасных для применения растительных средств.

5. Широкое распространение в культуре петрушки посевной, содержание в ней богатого комплекса биологически активных веществ и доказанные экологическая чистота и безопасность ее сырья открывают перспективу создания эффективных лекарственных средств и биологически активных добавок на его основе.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям.- М.: Медицина, 1990.-464 с.
2. Халматов Х.Х., Ахмедов У.А., Халматова Р.Х., Овощи, фрукты и пряности- пища или лекарства.-Ташкент,ООО «YUNAKS-PRINT»,2006.-202с.
- 3.Виноградова Т. А., Гажев Б.Н. и др. Практическая фитотерапия / М.: « ЭКСМО-П ресс» ; СПб. : «Валери СПД», 2001.-640 с.
4. Лавренов В.К., Лавренова Г.В. Современная энциклопедия лекарственных растений.- СПб.: Издательский дом « Нева» , 2006.-272 с
5. Лавренов В.К., Лавренова Г.В. Травник : Целительные рецепты народной медицины .М.: ЗАО « ОЛМА Медиа Групп», 2007.-800 с.
6. Предрий В.А. Рецептурный справочник фитотерапевта. Киев, 1995.-531с.
- 7.Флора Узбекистана/ Под ред. А.И. Введенского.- Т.: АН Уз ССР. – Том 4.-С.337.
8. Жизнь растений .В6-ти т. Цветковые растения / Под ред. Акад.АН СССР А.Л. Тахтаджяна. –М.: Просвещение . 1981.т.5.ч.2.-с.272-280.
- 9.Жуковский, П.М. Культурные растения и их сородичи / П.М. Жуковский. – Л.: Колос, 1971.– 751 с.
- 10.WHO monographs on selected medical plants. –Vol.1.-Geneva: World Health Organization 1999.295 p.

11. WHO monographs on selected medical plants. –Vol. 2.-Geneva: World Health Organization 2003.357 p.
12. WHO monographs on selected medical plants. –Vol. 1.-Geneva: World Health Organization 2007.390 p.
13. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants/- Geneva: WHO, 2003.
14. <http://allori.su/stati/302-poleznye-svoystva-masla-petrushki.html>
15. Холматов Х.Х., Дусчанов Б.О., Собиров Р.С. Абу Али ибн Сино ишлатган доривор усимликлар.- Урганч , «Хоразм» , - 2003, -174 б.
16. Мазнев Н.И. Новейшая энциклопедия лекарственных растений.- М.: РИПОЛ классик: Дом, XXI век,2009-621с.
17. Канон врачебной науки. Абу Али Ибн Сино. – Ташкент: Издательство медицинской литературы им. Абу Али Сино, 1996.-363 с.
18. Chemistry of Species / Eds. V.A.Parthasarathy, B.Chempakam, T.John Zachariah.-Calicut, India:Indian Institute of Spices Research, 2008. – 445 p.
19. Handbook of Herbs and Spices: Volume 2 /Ed. K.V. Peter. – Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd, 2004/-365 p.
20. British herbal Pharmacopoeia. – Exeter, U.K.: British Herbal Medicine Assortiation. – 1996.-212 p.
21. PDR for Herbal Medicines /Eds.J. Gruenwald, T. Brendler, C.Jaenicke. – Montvale, NJ, USA: Medical Economics Company, 2001.-1106 p.
22. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: ЭКС-МО-Пресс, 2001.-990 с.
23. Ужегов Г.Н. Большая семейная энциклопедия народной медицины.- Олма-Пресс Образование,2006.-1200 с.

24. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей.-М.: Мед.информ. агентство, 2000.-970с.
25. Государственная фармакопея СССР:Вып.1.-11-е изд.,доп.-М.; Медицина, 1987.-336 с.
26. Государственная Фармакопея СССР: Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989.- 400 с.
27. British Pharmacopoeia.-London: HMSO, 1998. –Vol. I. –P. 731.
28. European Pharmacopoeia.-6th Edition. –Strasbourg, 2008.
29. The International Pharmacopoeia. Third Ed. Vol.1. General methods of analysis.- Geneva : World Health Organization, 1979.-225 p.
30. The United States Pharmacopoeia. The National Formulary.- Toronto, 2003.-P.2717-2719.
31. Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials.-World Health Organization ,1998. – 128 p.
32. United States Pharmacopoeia 30- National Formulary 25. The Official Compendia of Standarts.- OfficialMay 1, 2007. –CD-ROMversion.
33. Гринкевич Н.И., Сорокина А.А. Биологическая роль микроэлементов. – М., 1983.- 238 с.
34. Общее руководство по методологиям научных исследований и оценке народной медицины.- Женева: ВОЗ, 2000 (документ WHO/EDM/TRM. 2000. 1
35. Evans WC, Trease G.E. Pharmacognosy. -16th ed. – Edinburg: Saunders, WB, 2009. - 832 p.

36. Хайс И.М., Мацек К. Хроматография на бумаге .- М.: ИЛ, 1962. – 852 с.
37. Самылина И.А. Фармакогнозия. М.: Гэотар-Медиа. -2010.- 384 с.
38. Разработка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін/Ковальова А.М., Георгієвський Г.В. и др.// Фармаком. – Киев.- 2002. № 2.- С.92-97.
39. Фурье-ИК спектральный анализ некоторых эпифитных видов лишайников в рекреационных зонах города / Уразбахтина А.Ф. [и др.] // Раст. ресурсы. –2005. – Вып. 2. – С. 139-147.
40. Химический анализ лекарственных растений. Учеб. Пособие для фармацевтических вузов / Под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронович- М.: Высшая школа, 1983.-С.111-122.
41. Съедин А.В. Фармакогностическое изучение рапса обыкновенного (*BrassicanapusL.*): Дис. ... канд.фарм.наук.- Пятигорск, 2014.- С. 87.
42. А.В. Симонян, А.А. Саламатов, Ю.С. Покровская, А.А. Аванесян. Использование нингидриновой реакции для количественного определения аминокислот в различных объектах: Методические рекомендации.- Волгоград,2007.
43. Сампиева К.Т. Изучение эффектов некоторых аминокислот при гипоксической гипоксии /К.Т. Сампиева [и др.] // Биомедицина. — 2010.
44. Шапиро Я.С. Биологическая химия: Учеб.пособие.- СПб.:ЭДБИ-СПб,2004.-368 с.
45. Горбачев В.В., Горбачева В.Н. Витамины, микро- и макроэлементы. Справочник.- Минск: Книжный дом « Интерпрсссервис», 2002.-544 с.

46. Бандюкова В.А. Распространение флавоноидов в некоторых семействах высших растений// Раст.ресурсы. Сообщение 22.- москва, 1968.-Т.4.- Вып.3.-С.429.
47. Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С. Флавоноиды растений.- Алма-Ата: Наука Каз.ССР, 1978.
48. Беликов Б.В., Точкова Т.В. Реакции комплексообразования в анализе флавоноидов // Фенольные соединения и их физиологические свойства.- Алма-Ата: Наука, 1973С. 168-171.
49. Спектрофотометрическое определение флавоноидов в цветках тысячелистника таволголистного / Д.К. Пулатова, Ф.Ф. Урманова, А.Н. Свечникова, Х.М. Комилов// Kimiofarmatsiya.-2001.-№1.-С.9-12.
50. Определение элементного состава почв, грунтов и донных отложений атомно-эмиссионным и масс-спектральным методом анализа.- Отраслевая методика 3 категории точности.- Москва,2009.
51. J. Howenstine. Codex Alimentaris Endsvs Supplementsin 2005 \http://www.naturalhealthteam.com
52. Санитарные нормы безопасности и пищевой ценности продовольственного сырья и продуктов питания (СанПиН 0138-03). – Ташкент,2003
53. Гравель И.В. Фармакогнозия. Экотоксиканты в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах // И.В. Гравель, Я.Н. Шойхет, Г.П. Яковлев, И.А. Самылина- М.: ГеотарМедиа, 2012.-301 с.
54. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. WorldHealthOrganization/ 2007.

55. ОФС. 1.5.3.0009.15 Определение содержания тяжелых металлов и лекарственных растительных препаратах
56. ГОСТ 30692-2000 Межгосударственный стандарт. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Атомно-абсорбционный метод определения содержания меди, свинца, цинка и кадмия.
57. Ибрагимова Н.А., Урманова Ф.Ф. К вопросу радиационной безопасности нового растительного сбора «Диасил» // Материалы научно-практической конференции « Актуальные вопросы образование, науки и производства в фармации». –Ташкент, 2008. – С. 274.
58. ГОСТ 30349-96 Плоды, овощи и продукты их переработки // Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов.- Москва,2008.
59. Ибрагимова Н.А. Урманова Ф.Ф. Определение остаточного содержания пестицидов в составе сбора « Диасил» // Фармацевтический вестник Узбекистана.- Ташкент,2010. -№4.- С. 22-24.
60. Гунар О.В.,Булгакова Г.Н., Камалова Н.И. К вопросу о качестве растительного сырья по показателю «Микробиологическая чистота» // Фармация. – Москва, 2002.- №1.-С.19-22.
61. Ибрагимова Н.А., Урманова Ф.Ф. Определение микробиологической чистоты нового растительного сбора « Диасил» // Материалы научно – практической конференции « Интеграция образования, науки и производства фармации», посвященной 70-летию Ташкентского фармацевтического института. Ташкент,2007.- С. 138-139.

ПРИЛОЖЕНИЕ