

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

---

*На правах рукописи*

УДК 615.074

АЛЛАМБЕРГЕНОВА НАРГИЗА ФАРХАДОВНА

ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАПУСТЫ ОГОРОДНОЙ  
(*Brassica oleracea L. var. capitata L.*)

5A510501 - фармацевтическая химия и фармакогнозия

Диссертация на соискание академической степени магистра

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

Ташкент-2017



**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**  
**ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**

**Фармацевтический факультет**  
**Кафедра фармакогнозии**  
2015-2017 гг.

**Магистр Алламбергенова Н.Ф**  
**Научный руководитель:**  
проф. Урманова Ф.Ф.  
**Специальность:** 5A510501-  
фармацевтическая химия и  
фармакогнозия

**АННОТАЦИЯ МАГИСТЕРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ**

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

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего исследования является изучение химического состава местного сырья капусты обыкновенной .

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

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

**Объект и предмет исследования.** Объектом исследования служили листья капусты огородной сорта, 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- и ИК- спектроскопия, масс- спектроскопия с индуктивносвязанной плазмой , ВЭЖХ, атомно-абсорбционная спектроскопия и др. )

**Степень научной новизны результатов исследования .** Впервые изучен химический состав местного сырья капусты огородной. Выявлены и идентифицированы основные группы биологически активных веществ сырья; определено их количественное содержание. Определены экологическая чистота и безопасность применения капусты огородной 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 капусты огородной, выращиваемой на территории нашей страны.

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

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 73 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.

Научный руководитель

д.фарм.н.,проф.Урманова Ф.Ф.

Магистрант

Алламбергенова Н.Ф.

**MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN**

**TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE**

**Pharmaceutical Faculty**

**Department** of Pharmacognosy

2015-2017 years

**master** N.F Allambergenova

**supervisor:** Prof. Urmanova F.F.

**Specialty:** 5A510501-

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 study.** The purpose of this study is to study the chemical composition of local raw cabbage.

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

- the rationale for the study of local cabbages raw based on a critical analysis of the literature on the current status of the genus Brassica L. ;
- identification of the main groups of biologically active substances of cabbage leaves ;
- identification and quantification of detected substances;
- determination of ecological purity and safety of local raw cabbage using ;

**Object and subject of research.** The object of the study was the leaves of cabbage of garden variety, cultivated in the Tashkent region of Uzbekistan. The

subject of the study was the solution of questions 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 and IR spectroscopy, inductively coupled plasma mass spectroscopy, HPLC, atomic absorption spectroscopy, etc.) were used in the work.

**The degree of scientific novelty of the research results.** For the first time, the chemical composition of the local raw material of cabbage was studied. The main groups of biologically active substances of raw materials have been identified and identified; their quantitative content is determined. Ecological cleanliness and safety of the use of cabbage in terms of its microbiological purity, the content of toxic heavy metals, organochlorine pesticides and radionuclides are determined.

**Practical significance and introduction of research results.** As a result of the study, the data necessary for the chemical characterization and standardization of the raw material of cabbage, grown on the territory of our country, were obtained.

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

**The structure and scope of the thesis.** The thesis is set out on the 73 pages of the computer text and consists of an introduction, one chapter of the literature review, two chapters of own research, conclusion and list of references. It is illustrated by 17 tables and 9 drawings. The bibliographic index includes 56 sources.

The scientific adviser

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

Master



Allambergenova N.F

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

АННОТАЦИЯ МАГИСТЕРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ.....	
ОГЛАВЛЕНИЕ.....	
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>9</b>
<b>ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ .....</b>	<b>14</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>14</b>
1.1. Лечебные свойства пищевых растений.....	14
1.2. Общее сведение о капусте огородной.....	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
<b>ГЛАВА 2. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КАПУСТЫ ОГОРОДНОЙ.....</b>	<b>27</b>
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.....	48
2.2.3. Изучение минеральных веществ.....	55
Выводы к главе 2.....	58
<b>ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ И БЕЗОПАСНОСТИ МЕСТНОГО СЫРЬЯ КАПУСТЫ ОГОРОДНОЙ</b>	
3.1 Определение токсичных тяжелых металлов .....	59
3.2. Определение радионуклидов.....	63
3.3.Определение остаточных количеств пестицидов.....	64
3.4. Определение микробиологической чистоты.....	66

Выводы к главе 3.....	68
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	69
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	70

## **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 изучения 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- капуста огородная (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) семейства капустных (*Brassicaceae*) культивируется в больших объемах на территории нашей страны. Однако, несмотря на широкое распространение в культуре, в фитохимическом отношении местное сырье капусты огородной 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 капусты огородной.

Поэтому, проведение фитохимического изучения капусты огородной в качестве нового источника природных биологически активных соединений является актуальной задачей.

**Объект и предмет исследования.** Объектом исследования служили листья капусты огородной сорта, 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 капусты обыкновенной.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

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

**Научная новизна.** Впервые проведено углубленное фитохимическое исследование листьев капусты огородной, выращиваемой на территории Узбекистана. Определены химическая природа и количественное

содержание основных групп биологически активных веществ капусты огородной, показано, что местное сырье капусты огородной является экологически чистым и безопасно для применения.

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

Значительные сырьевые запасы, дешевизна сырья капусты огородной 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 капусты огородной, 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 капусты огородной. Полученные данные могут служить экспериментальным обоснованием перспективности использования сырья капусты огородной 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 капусты

огородной 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 капусте огородной**

### **1.2.1 Систематическое положение, ботаническая характеристика и основные районы возделывания**

Объект нашего исследования- капуста огородная, или капуста белокочанная ( *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) является представителем рода *Brassica*L. семейства капустных ( *Brassicaceae*) [ 7].

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

Царство: растения

Отдел: покрытосеменные

Класс: двудольные

Порядок: капустоцветные

Семейство: капустные или крестоцветные

Капуста белокочанная – двулетняя культура из семейства крестоцветных. Корневая система растения мощная, стержневая и хорошо разветвленная. Стебель прямостоячий, в первый год короткий, толстый, мясистый с прикорневой розеткой плотно прилегающих друг к другу листьев в виде кочана. Нижние листья очередные, черешковые, раскидистые, часто образуют розетку, верхние – сидячие. Листья крупные, с толстыми прожилками, их поверхность гладкая или морщинистая. На второй год стебель прямой, цилиндрический с простыми ланцетными листьями. Цветки правильные, четырехмерные, белые или светло-желтые, собраны в редкую кисть. Плоды – длинные стручки до 10 см длиной. Семена шаровидные, располагаются в стручке в один ряд. Окраска семян от желтовато-бурой до почти черной [7].

Многие исследователи, начиная с Ч.Дарвина, считают, что все существующие в настоящее время культурные формы капусты происходят от дикорастущей формы капусты огородной (*Brassica oleracea L.*), другие – от рассматриваемого в качестве самостоятельного вида капусты лесной (*Brassicasyvestris*), третьи связывают их с целым рядом средиземноморских видов. Ни одно растение в течение нескольких тысячелетий не дало человеку столь обширного материала для отбора, как капуста [9].



Рис. 1. Капуста огородная -*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.

Дикорастущий родич капусты огородной до сих пор не установлен.  
А. Декандоль полагал, что он произрастает по берегам южной Англии и

Ирландии, северо-западной Франции, на Гельголанде, в Дании и по северным берегам Средиземного моря около Ниццы, Генуи и Лукки.

По мнению Е.Н.Синской , « происхождение и распространение капусты в диком состоянии – Средиземноморская область (по морским берегам)».

Грузинский ученый Г.Джапаридзе считает, что родиной капусты является не побережье Средиземного моря, а Колхидская низменность Грузии, поскольку именно в этих местах встречается редкое многообразие сходных с капустой растений, которые называются «кежера».

Капуста огородная введена в культуру, по-видимому еще в доисторические времена. Археологические раскопки свидетельствуют о том, что капусту люди стали использовать со времен каменного и бронзового веков. Возделывали капусту древние египтяне, а позднее освоили технологию ее выращивания древние греки и римляне, им было известно всего от 3 до 10 сортов капусты.

Древнегреческий философ и математик Пифагор весьма ценил лечебные свойства капусты и занимался ее селекцией. Южные племена славян впервые узнали о капусте от греко-римских колонистов, живших в районах Причерноморья.

В настоящее время капуста огородная возделывается как однолетнее растение на огородах по всему свету, за исключением крайних северных районов и пустынь. Как культурное пищевое растение распространена во всех странах с умеренным климатом. Культура капусты огородной в холодное время года или в горах возможна и в субтропиках [ 10-13].

В республиках Средней Азии районированы следующие сорта капусты:

Апшеронская — сорт для подзимней посадки, кочан конической формы, рыхлый, зеленый или светло-серо-зеленый;

Багирская — среднеспелый для среднего срока посадки, кочан округлый, плотный, серо-светло-зеленой окраски, со средним восковым налетом;

Гибрид крупнокочанный (F1 Можарская х Бирючекутская 138) — среднепоздний, кочан округлый, средней величины, зеленой окраски с сероватым оттенком, жаро- и засухоустойчив;

Дербентская — озимый, скороспелый, кочан рыхлый остроконической формы, весит до 1 кг, окраска листьев светло-зеленая;

Душанбинская поздняя — позднеспелый, жаростойкий, но требовательный к влаге, кочан округлый или плосковыпуклый, крупный, листья серо-зеленые с сильным восковым налетом;

Июньская — очень скороспелый (раньше Номера Первого 147 на 1—6 дней), кочан средней плотности, округлый, зеленого цвета, весит до 1,5 кг;

Ликуришка 498/15 — позднеспелый, жаростойкий, транспортабельный, кочан округло-плоский, довольно крупный, плотный ;

Номер Первый Грибовский 147 — раннеспелый с небольшим средней плотности округлым кочаном зеленой окраски;

Осенняя Грибовская 320 — среднепозднеспелый; относительно жаростойкий и засухоустойчивый с плоским рыхлым кочаном;

Слава 1305 — среднеспелый, для посадки в средний срок; кочан среднеплотный, растрескивающийся, круглой формы и среднего размера

Судья узбекский — среднепозднеспелый, для позднего срока посадки, кочан средний, плоско-округлый, плотный, склонен к растрескиванию

Ташкентская 10 — среднеспелый, жаро- и засухоустойчивый, кочан округло-плоский со сбегом кверху, средней величины;

Узбекистанская 133 — среднепоздний, жаростойкий, транспортабельный, кочан плоско-округлый, плотный, крупный, серо-зеленой окраски.

### **1.2.2. Сведения о химическом составе и применении**

Капуста огородная-ценный продукт питания, богатый различными биологически активными веществами. Листья капусты содержит 1,9-5,3 % сахаров, 0,1-0,35% органических ( яблочная и лимонная, также тартроновая, янтарная, хлорогеновая и другие) кислот, витамины С( 30-60 мг %) ,Р, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>,В<sub>6</sub>, РР, К, Е, и U, каротин пантотеновую и фолиевую кислоты, жиры, ферменты, фитонциды и другие вещества. Капуста богата минеральными соединениями, особенно солями калия (170-375 мг%) также кальция ( до 46 мг %) , натрия ( до 13 мг %) , магния ( до 23 мг %), фосфора ( до 78 мг%), меди, кобальта, серебра, йода, марганца, железа и других элементов. В свежих листьях еще находятся серосодержащие гликозиды – глюкобрассин и другие. В капусте обнаружены 16 свободных аминокислот, а также флавоноиды - вещества с Р-витаминной активностью. Для нее характерно также обилие ферментов [2] . Сложный химический состав капусты ставят ее в ряд незаменимых продуктов питания, а также делает ценным лечебным средством.

Капуста- старинное лекарственное растение. Еще Диоскорид отмечал- «выжатый сок из капусты помогает от укусов гадюки и целебен при укусе бешеной собаки ; употребление в пищу капусты полезно при слабости зрения; листья сырые вкушать при больной селезенке».

Ибн Сино пишет, что капуста помогает от опухолей, рожи, крапивнице, злокачественных язв, ожогов, при трахоме, подагре, для удаления глистов, сок капусты- при ангине, желтухе, при укусе гадюки и

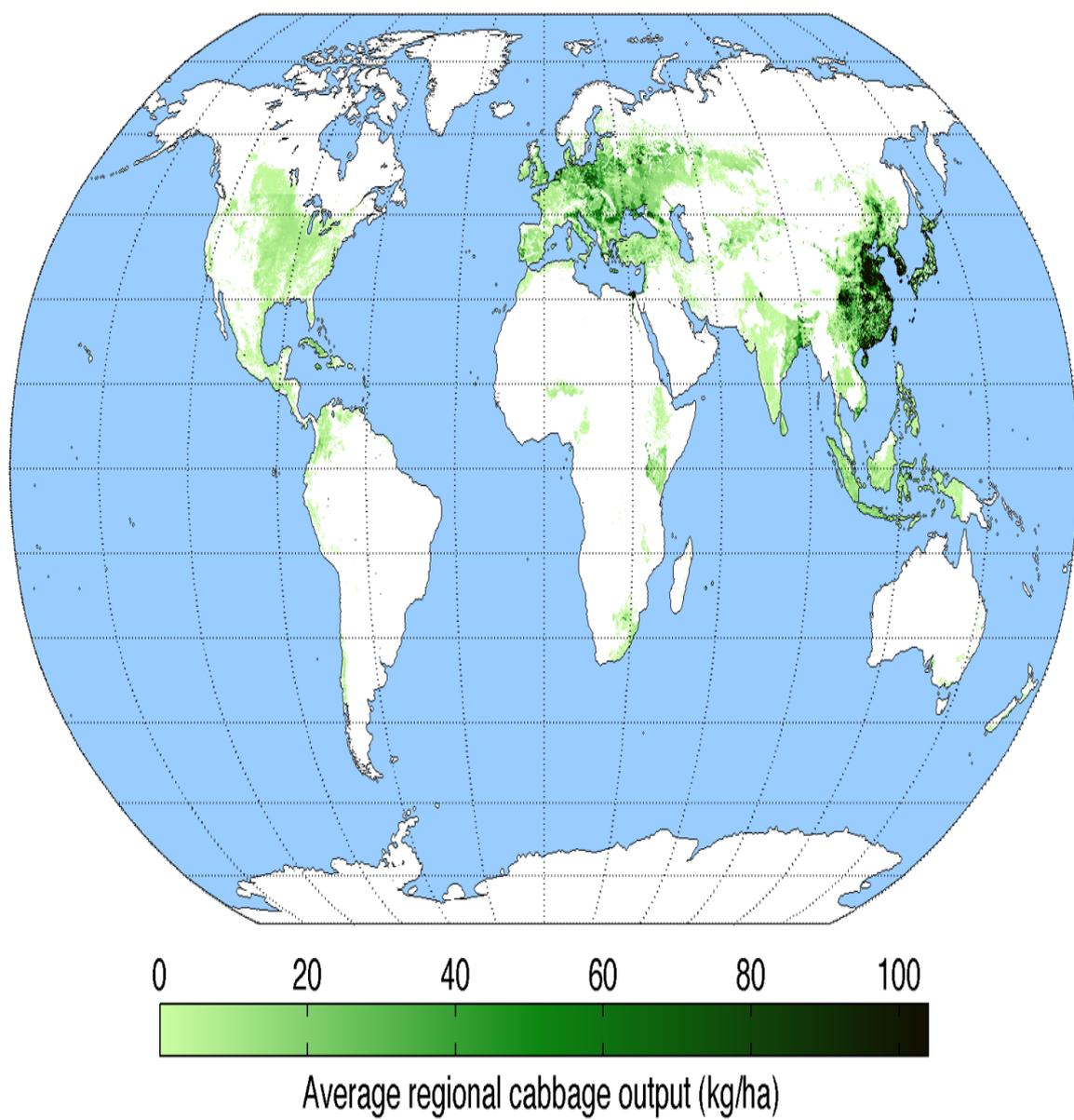


Рис.2. Основные районы возделывания капусты огородной

бешенной собаки; капуста обладает мочегонным действием и гонит месячные и может убить плод [ 14-16].

Как лечебное средство капуста давно используется в народной медицине для улучшения моторной функции кишечника, повышения аппетита, при сердечно-сосудистых заболеваниях и как мочегонное средство. Для лечебных целей используют чаще всего мясистые листья капусты огородной первого года жизни, в которых содержатся белки, жиры, сахара, клетчатка, ферменты, минеральные соли и комплекс различных витаминов. Высокое содержание в капусте калия способствует выведению из организма излишней жидкости, что очень важно при отеках сердечного характера. Наличие в листьях фолиевой кислоты полезно при малокровии, а содержание пектиновых веществ способствует выведению из организма холестерина. Это особенно важно при атеросклерозе. В капусте найдена виннокаменная кислота, которая помогает избавиться от лишнего веса. Ее включают в лечебную диету при желчнокаменной болезни.

Комплекс витаминов, содержащихся в капусте, способствует укреплению стенок кровеносных сосудов, предупреждает кровоточивость десен, нормализует процессы свертываемости крови. Есть в капусте тартроновая кислота, препятствующая переходу углеводов в жиры, поэтому она необходима людям тучным, пожилым, тем, у кого обнаружены сердечнососудистые заболевания.

Экспериментальными исследованиями установлено, что прием свежей капусты предупреждает у животных появление экспериментальных гистаминовых язв. В свежей капусте обнаружен противоязвенный фактор, названный витамином U. В настоящее время витамин U получен синтетическим путем и представляет собой метилметионинсульфония хлорид. Фармакологические исследования этого препарата показали, что

он малотоксичен, оказывает заживляющее и защитное действие при экспериментальных язвах желудка у крыс. Препарат обладает антигистаминными и антисеротониновыми свойствами. Витамин U оказывает благоприятное превентивное действие на развитие экспериментального атеросклероза у кроликов, что прежде всего проявляется в менее значительном нарастании сывороточного холестерина и уменьшении степени липоидоза аорт у опытных кроликов. Витамин U уменьшает боль, улучшает обменные процессы в слизистой оболочке желудка и кишечника, способствует прекращению тошноты, изжоги и рвоты. Однако экспериментальные исследования и клиническое наблюдение за больными показали, что применение чистого метилметионинсульфония хлорида дает меньший эффект, чем использование натурального капустного сока, так как тканевый сок белокочанной капусты дополнительно обладает бактерицидными, бактериостатическими, фунгицидными и фунгистатическими свойствами. Кроме того, в капусте содержатся фитонциды, которые, как это было показано в эксперименте, оказывают антибактериальное действие даже на золотистый стафилококк и микобактерии туберкулеза.

Впервые об излечении язвы желудка и двенадцатиперстной кишки у больных капустным соком было сообщено в 1952 г., что послужило началом применения капустного сока в свежем и высушенном виде при лечении язвенной болезни в клиниках многих стран мира. Было высказано предположение, что витамин U благоприятно действует на обмен тиамин и холина и благодаря этому улучшает метаболизм слизистой оболочки желудка, что, по-видимому, и повышает ее сопротивляемость к повреждающим факторам, а при наличии язвенного дефекта ускоряет процессы регенерации тканей. Отмечено положительное действие витамина U на перистальтику желудка, моторную деятельность кишечника, благоприятное влияние на кишечную флору.

Свежий сок капусты способствует рубцеванию язв желудка и двенадцатиперстной кишки, предупреждает обострение хронических гастритов, При назначении капустного сока (по 1/2 стакана 2—3 раза в день в теплом виде до еды) у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки исчезали или уменьшались боли, прекращалась рвота, тошнота, изжога, запор. На кислотность желудочного сока препарат влиял неоднозначно. Так, при гипоацидных гастритах она повышалась, при гиперацидных — или не изменялась, или наблюдалась тенденция к снижению; при нормальной исходной кислотности желудочного содержимого существенных изменений не наблюдалось. Ряд клиницистов отмечают положительное действие сока капусты при заболеваниях печени (гепатиты, ангиохолиты). У больных уменьшаются боли в области печени, исчезают диспепсические явления, повышается аппетит.

Клинические исследования показали также, что витамин U улучшает липидный обмен и оказывает благоприятное действие на больных коронарным атеросклерозом. Витамин U эффективен при экземе, псориазе, нейродермите, поверхностном аллергическом васкулите.

Свежий сок с сахаром врачи назначают детям при кашле, бронхите и гепатите. Надо только помнить, что капустный сок быстро теряет лечебные свойства, поэтому его следует готовить сразу перед употреблением и принимать теплым по полстакана 3—4 раза в день перед едой. Это хорошее средство для заживления язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, улучшает обмен веществ, состояние нервной системы. Используют его и при заболеваниях желудка с пониженной кислотностью при колитах.

(Succus Brassicae capitae). Получают из листьев капусты белокочанной (*Brassicacapita*) по технологии, разработанной в институте фармакохимии АН Грузии.

Препарат содержит большое количество витамина U (метилметионинсульфанит U). Это белая со слегка желтоватым оттенком жидкость, мутноватая, сладковато-горького вкуса, своеобразного ароматного запаха. Применяют при желудочных заболеваниях нервного характера, при лечении язвенной болезни и хронического колита, при недостаточном кровообращении слизистой оболочки желудка [17-20].

### **Выводы**

1. Проведенный выше обзор литературы позволяет заключить, что объект нашего исследования –капуста огородная не только широко возделывается на территории нашей республики, но и является также источником ценных биологически активных веществ.
2. Принимая во внимание сырьевую базу капусты огородной 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 КАПУСТЫ ОГОРОДНОЙ**

Для определения химического состава местного сырья капусты огородной проведено предварительное исследование его на содержание основных групп биологически активных веществ с использованием общеизвестных качественных реакций и хроматографических методов анализа [ 21-37].

Результаты исследования приведены в таблице 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 ) [ 30,34].

Количественное определение свободных органических кислот проводили по методике ГФХИ [22]. 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

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 натрия 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 натрия едкого (0,1 моль/л), г; V–объем раствора натрия едкого (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, мл; m–масса сырья, г; W–потеря в массе при высушивании сырья, %.

Результаты определения приведены в таблице 2.

Из приведенных данных следует, что содержание свободных органических кислот в капусте огородной составило  $4,09 \pm 0,021$  %

**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 [35,38].

Таблица 1

## Результаты определения основных групп биологически активных веществ капусты огородной

Группа БАВ	Методика	Наблюдение	Вывод
1	2	3	4
<i>1. Вещества первичного биосинтеза</i>			
Углеводы: Свободные сахара	Реакция с реакция Феллинга	Оранжево-красный осадок	+
Связанные сахара	Реакция с реактивом Фелинга после гидролиза с разведенной серной кислотой	Количество выпавшего оранжево-красного осадка превышает его количество в контрольном образце	+
Водорастворимые полисахариды	Реакция осаждения 95% этиловым спиртом	Хлопьевидные сгустки, выпадающие в осадок при стоянии	+
	Реакция по Британской Фармакопее	Красное окрашивание водного извлечения	+
	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 <sub>1</sub>	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% фосфоромолибденовой кислоты в этиловом спирте и последующем нагревании хроматографической пластинки при температуре 60-80°С	+
Органические кислоты	Хроматография на бумаге	Бесцветные пятна на синем 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	следы
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 кислотой	Отсутствие коричнево-красного окрашивания раствора	-
Фенолкарбоновые кислоты	УФ-спектроскопия	В УФ-свете при длине волны 366 нм голубая флюоресценция не наблюдалась	-
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	+
	Реакция Либермана-Бурхарда	На границе раздела слоев не	+

Сердечные гликозиды		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	-
Тиогликозиды	ИК- спектроскопия Фурье	Интенсивная полоса поглощения в области 1400-1420 см <sup>-1</sup>	+

## Содержание свободных органических кислот в капусте огородной

№ п/п	Содержание, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1	4,06	-0,03	0,0009	$S_x=0,008$ $X=0,021$ $X=4,09\pm 0,021$ $\epsilon =0,01\%$
2	4,09	0	0	
3	4,08	-0,01	0,0001	
4	4,12	0,03	0,0009	
5	4,08	-0,01	0,0001	
6	4,09	0	0	
	$\bar{X}=4,09\%$			

*Выделение суммы свободных аминокислот.* К 1мл сока капусты добавляли 1 мл 20% трихлоруксусной кислоты и оставляли на 10 мин, после чего выпадали в осадок белки и пептиды отделяли центрифугированием при 8000 об/мин в течение 15 мин. Далее отделив 0,1 мл надосадочной жидкости, высушивали при помощи лиофильной сушилки Alfa 2 (США).

*Синтез фенилтиокарбамоил (ФТК) производных свободных аминокислот.* Высушенный образец суммы свободных аминокислот суспендировали в 250 мл смеси триэтиламина (ТЭА), этанола и воды в соотношении 1:7:1. Смесь выдерживали 10 мин, после чего высушивали досуха под вакуумом. Затем, сухую смесь растворяли в 300 мл смеси ТЭА, этанола, воды и фенилизотиоцианата в соотношении 1:7:1:1. Реакционную смесь встряхивали в течение 10 мин, затем высушивали досуха под вакуумом. Сухой остаток растворяли в 250 мл этанола; аликвотную часть полученного раствора использовали для последующего анализа.

Состав и количественное содержание ФТК производных аминокислот определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Исследование проводили на жидкостном хроматографе AgilentTechnologies 1200 (США) с последующей компьютерной обработкой полученных данных (стандартная программа «3DChemStation»). Детектирование осуществляли с помощью УФ-детектора при длине волны 269 нм на обращено-фазовой колонке DiscoveryHSC<sub>18</sub> размером 25 x 4,6 см при комнатной температуре. Объем вводимой пробы составлял 20 мкл. В качестве подвижной фазы использовали раствор А – смесь 0,14 моль/л натрия ацетата и 0,05% триэтиламина (рН 6,4) и раствор В – метилцианид (табл.3). Скорость подачи элюента составляла 1,2 мл/мин.

Таблица 3

Форма градиента

Время, мин	%В в подвижной фазе
0,0 -2,5	изократический, 2
2,5-40,0	линейный 2 -30
40,1-45,0	линейный, 30-60
45,1 - 55,0	изократический, 60

В результате анализа полученных хроматограмм установлено, что специфический набор свободных кислот капусты огородной включает 18 компонентов: глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, серин, треонин, тирозин, фенилаланин, цистин, аспаргиновая кислота, глютаминовая кислота, аргинин, лизин, гистидин, триптофан. Из них восемь, отмеченных звездочкой, аминокислот являются незаменимыми.

Количество каждой идентифицированной аминокислоты определяли в мг/мл, после чего рассчитывали содержание в процентах от общей суммы аминокислот. Как видно из данных, приведенных в таблице 4, в сумме свободных аминокислот капусты огородной количественно преобладают пролин (19,47%), аспарагиновая кислота (13,8%), аргинин (11,81%). Следует также отметить достаточно высокое содержание аланина (7,52%), серина (7,27%), глицина (6,59%) и треонина (6,38%).

Большинство из перечисленных мажорных аминокислот обладает широким спектром биологической активности. Так, пролин и аргинин способствуют усилению регенеративных процессов в организме, снижению уровня холестерина в крови, аспарагиновая кислота связывает избыточные количества аммиака, который является токсичным для организма соединением [39].

Таким образом, в результате проведенного исследования впервые установлен аминокислотный состав капусты огородной, культивируемой в Ташкентской области. Показано, что специфический набор аминокислот капусты огородной включает 18 компонентов, в том числе восемь незаменимых аминокислот. Обнаружены индивидуальные особенности в накоплении аминокислот капусты огородной.

Состав и количественное содержание свободных аминокислот капусты  
огородной

<b>Аминокислоты</b>	<b>Содержание, мг/мл</b>	<b>% от общей суммы аминокислот</b>
<i>Моноаминомонокарбоновые кислоты:</i>		
глицин	0,186	6,60
аланин	0,212	7,52
валин*	0,158	5,60
лейцин*	0,046	1,63
изолейцин*	0,107	3,79
метионин*	0,013	0,46
серин	0,205	7,27
треонин*	0,180	6,38
тирозин	0,092	3,26
фенилаланин*	0,048	1,7
цистин	0,093	3,33
<i>Моноаминодикарбоновые кислоты:</i>		
аспаргиновая	0,386	13,83
глутаминовая	0,112	3,90
<i>Диаминокарбоновые кислоты:</i>		
аргинин	0,333	11,81
лизин*	0,023	0,82
<i>Гетероциклические кислоты:</i>		
гистидин	0,049	1,77
триптофан*	0,017	0,64

*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 [ 1,2,17,40].

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

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.5) .

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.

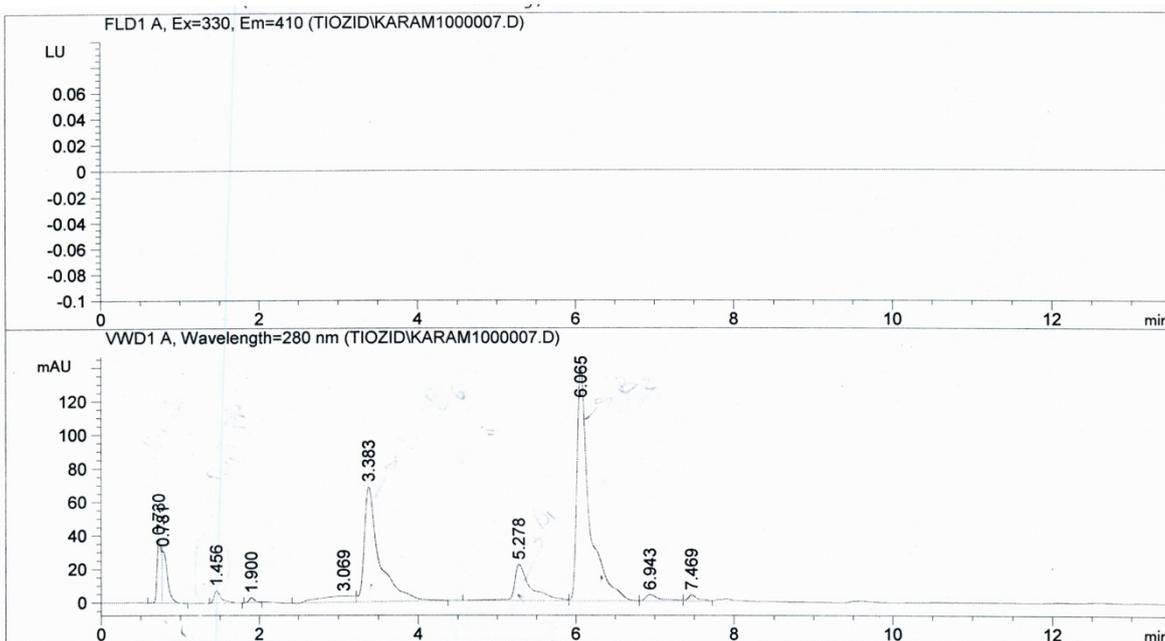
Таблица 5

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=



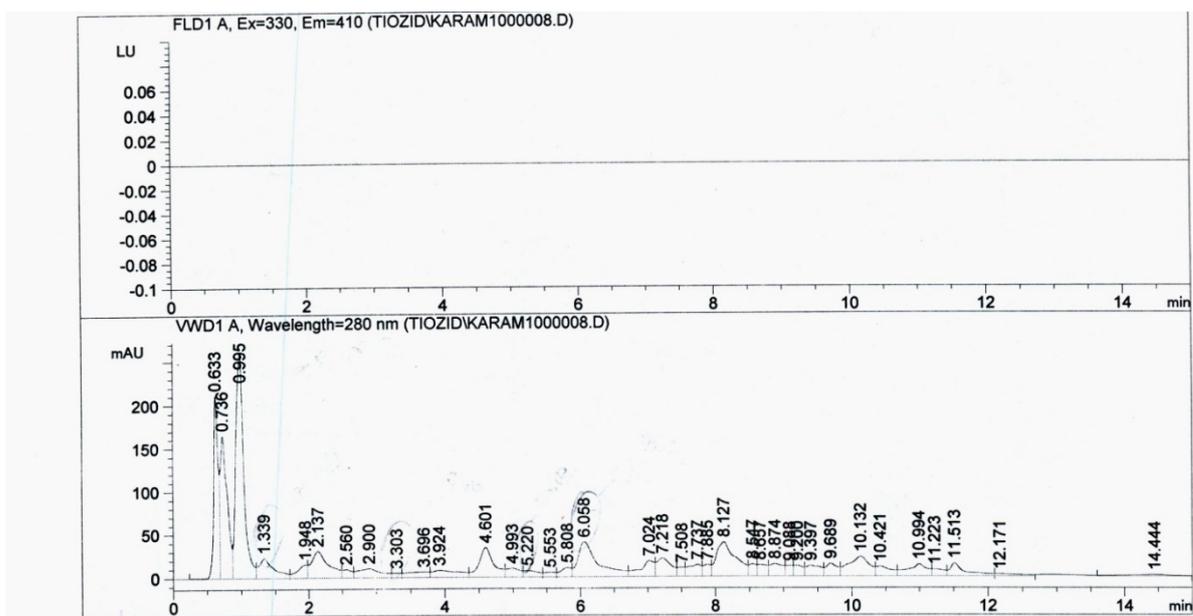


Рис.4. Хроматограмма водорастворимых витаминов капусты огородной

Таблица 6

Состав и количественное содержание водорастворимых витаминов  
капусты огородной

Идентифицированные витамины	Время удерживания, мин	Содержание, мг %
Аскорбиновая кислота (C)	0,736	18,63-24,10
Никотинамид (PP)	1,339	1,41-1,42
Пиридоксин (B <sub>6</sub> )	3,303	0,107-0,112
Тиамин гидрохлорид (B <sub>1</sub> )	5,220	0,587-0,601
Рибофлавин (B <sub>2</sub> )	6,058	1,130-1,207

Идентификацию и количественное определение S- метилметионин (витамина U) проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС). Анализ проводили с помощью ВЖЭХ-МС оборудования, состоящим

из Agilent 1260 Infinity ВЭЖХ модуля и Agilent 6420 тройного квадрупольного масс детектора ( фирмы AgilentTechnologies , США).

Осветленный путем фильтрации через 0,22 мкм микронного фильтра сок капусты подвергали исследованию с использованием колонки AgilentEclipsePlusC<sub>18</sub> 2,1x100 мм (1,8 м) в изократическом режиме. Подвижная фаза- 50% метанол в 0,1% растворе муравьиной кислоты. Скорость потока 0,25 мл/мин. Для количественного определения профиль хроматографии регистрировали для характерного молекулярного иона S- метил метионина равной значению m/z 164. (рис.5-7). Режим мониторинга одиночного иона (SIM).

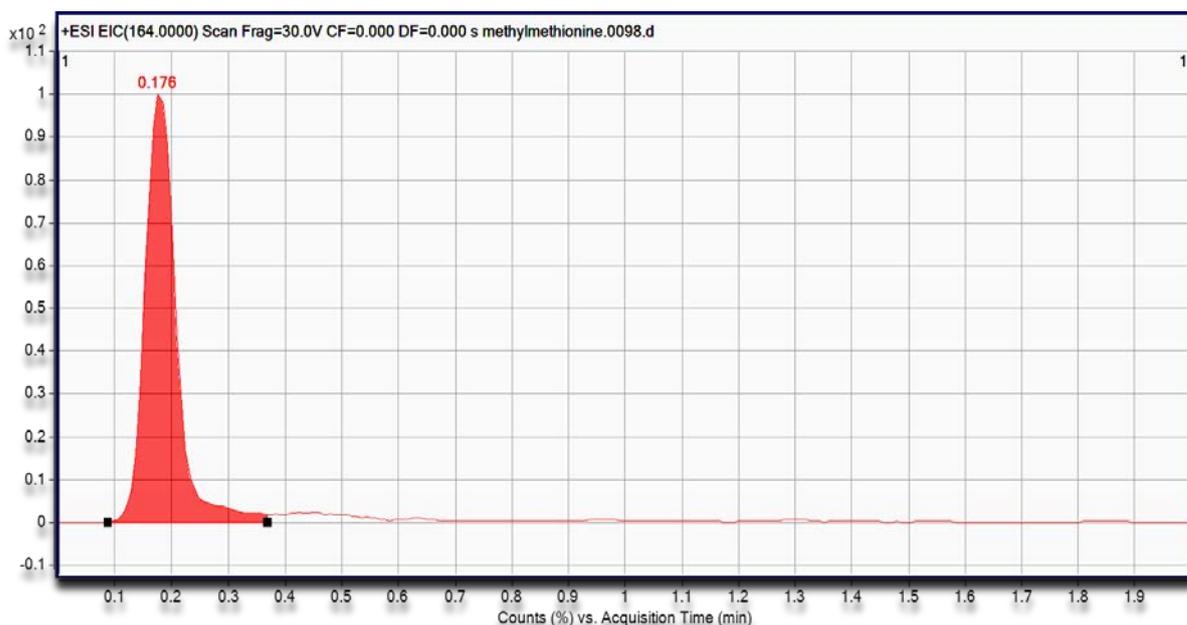


Рис.5. Хроматограмма стандартного образца S- метилметионина

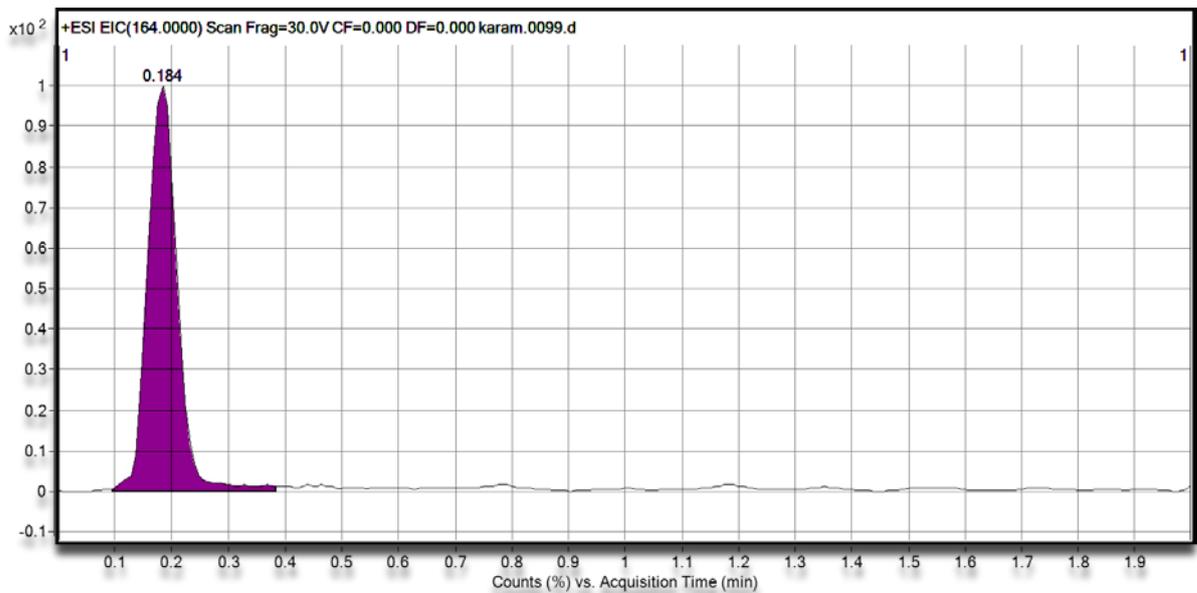
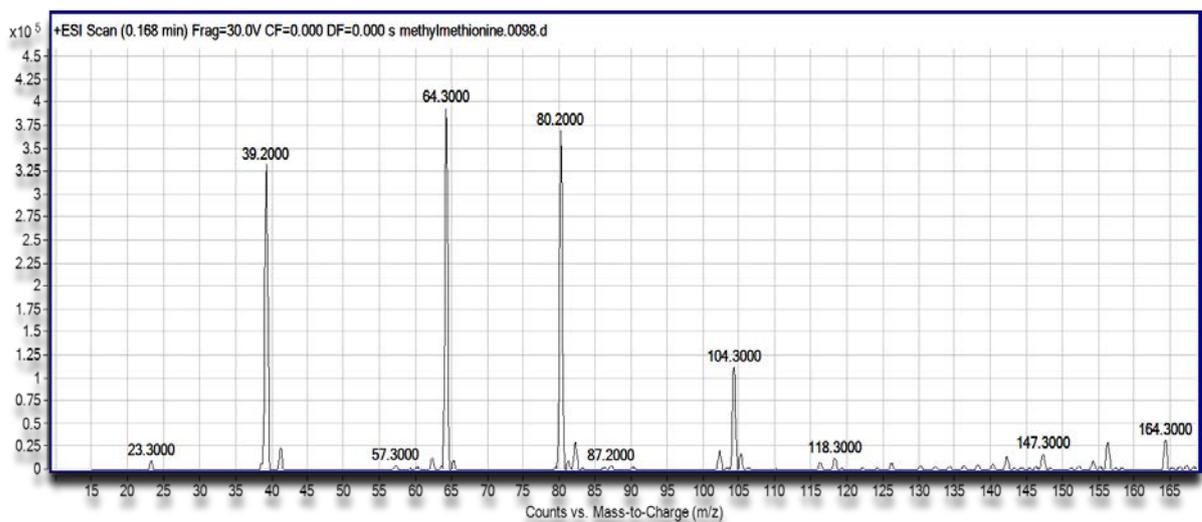


Рис. 6 Хроматограмма испытуемого образца (сок капусты огородной)

Калькуляцию количества S- метил метионина проводили по сравнению с аналогичной хроматографией стандартного вещества (S-метилметионин 99,0%, Sigma-Aldrich, США) по формуле:

$$X =$$



где  $S_{\text{smr}}$  - площадь пика SIM профиля метилметионина для хроматографии сока капусты огородной, условные единицы компьютера;  $S_{\text{std}}$  – площадь пика SIM профиля метил метионина стандарта, условная единицы компьютера;  $C_{\text{std}}$  – концентрация стандарта, мг/мл;

В результате исследования установлено, что содержание S-метилметионина в соке капусты составляет 13.453 мг %.

Содержание витамина U (S-метилметионина) определяли также методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Исследование проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200 фирмы, Agilent Technologies (США) с колонкой Zorbax Agilent AAA ( aminoacid ) размером 150x 4,6 (3,5 мкм) в изократическом режиме при комнатной температуре . В качестве подвижной фазы использовали смесь метанола (50%)-0,05 моль/л раствора ацетата натрия, (1:1) .

Скорость подачи элюента составляла 1мл/ мин, температура колонки - 40° С, продолжительность хроматографирования 20 мин. Детектирование проводили с помощью УФ- детектора при 338 нм. Компьютерную обработку данных проводили по стандартной программе « Chemstation A.09.03».

*Приготовление испытуемого раствора.* Около 1 г (точная навеска ) измельченного сырья заливали 10 мл очищенной воды и оставляли на ультразвуковой бане на 5 мин ( раствор А).

*Приготовление стандартного раствора.* Около 25 мг (точная навеска) РСО S-метилметионина довели в мерной колбе до 10 мл очищенной водой (раствор В).

*Приготовление раствора натрия ацетата.* Около 4,1 г натрия ацетата растворяли в 1 л очищенной воды и довели рН раствора до 7,8 10 % раствором натрия гидроксида.

*Приготовление буферного раствора натрия тетрабората.* Около 3,1 г натрия тетрабората растворяли в 10 мл очищенной воды и нагревали на электрической плитке 10 мин.

*Приготовление раствора ортофталиевого альдегида (ОФА).* 50 мг ОФА доводили до метки в мерной колбе вместимостью 10 мл чистым метанолом (100%) для ВЭЖХ и прибавляли к готовому раствору 500 мкл β- меркаптаэтанола.

К 10 мл раствора А добавляли 290 мкл ОФА , 100мкл раствора натрия тетрабората и встряхивали не менее 3 мин. После чего доводили объем до 600мкл подвижной фазой ( метанол-натрия ацетат, 1:1).

К 10 мкл стандартного раствора ( раствора В) добавляли 290 мкл ОФА, встряхивали не менее 3 мин и доводили объем до 600 мкл указанной выше подвижной фазой. По 20 мкл исследуемого и стандартного растворов вводили в хроматограф и хроматографировали в вышеприведенных условиях. Идентификацию S-метилметионина на хроматограмме испытуемого раствора проводили путем соотношения времени удерживания его пика с временем удерживания стандартного образца.

Количественное содержание S-метилметионина ( X %) рассчитывали по следующей формуле :

$$X \% =$$

Таблица 7

Метрологические характеристики методики количественного определения витамин U ( S-метилметионина) методом ВЭЖХ.

X	f		S <sup>2</sup>	S	P, %	t (P,f)	Δ X	ε, %	Δ	ε, %
10,43	4	10,43	0,00006	0,0082	96	2,77	0,0231	0,78	0,010	0,350
10,42										
10,43										
10,42										
10,43										

Таким образом, в результате проведенного исследования в комплексе водорастворимых витаминов капусты огородной идентифицированы витамины С, РР, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub> и U. Установлено, что по содержанию указанных выше витаминов отечественное сырье капусты 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 Rf 0,11, которое при облучении ультрафиолетовым светом флюоресцирует красным цветом, переходящим в зеленый, а при проявлении щелочью – оранжевым цветом [30].

При хроматографировании указанного извлечения на пластинках «SilufolUV-254» в петролейном эфире также было обнаружено одно вещество с Rf 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 «SilufolUV-254» в петролейном эфире. Зону соответствующую при облучении ультрафиолетовым светом витамину  $K_1$ , элюировали петролейным эфиром и определяли светопоглощение выделенного вещества на спектрофотометре «AgilentTechnologies» (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  $R_f$  (0,48) идентифицировали с  $\beta$ - каротином [ 34].

*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  $\beta$ -каротина, а именно около  $445 \pm 5$  нм.

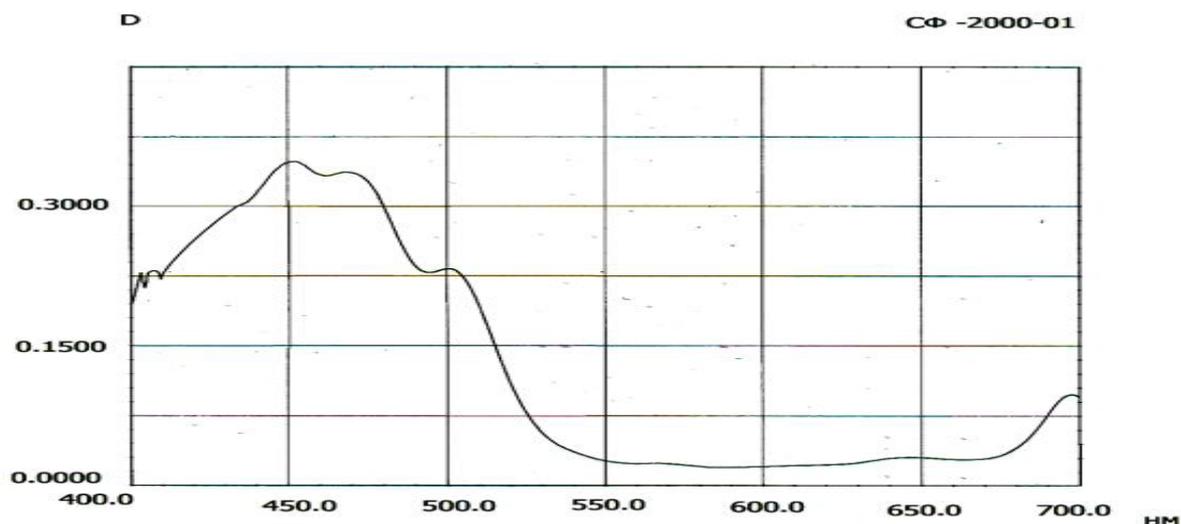


Рис.8. Спектр поглощения гексанового извлечения листьев капусты огородной

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

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

$$X =$$

В результате анализа установлено , что содержание каротиноидов в сырье капусты огородной составляет - 3,011 мг %.

Таблица 8

Метрологические характеристики методики количественного определения каротиноидов методом УФ-спектрофотометрии.

X	f		S <sup>2</sup>	S	P, %	t (P,f)	Δ X	ε, %	Δ	ε, %
3,01	4	3,018	0,00007	0,0084	95	2,78	0,0233	0,77	0,0104	0,346
3,01										
3,02										
3,02										
3,03										

### 2.2.2. Изучение веществ вторичного обмена

И с с л е д о в а н и е с т е р о и д н ы х с о е д и н е н и й. Продолжая хроматографическое исследование гексанового извлечения на пластинках «SilufolUV-254» в системе растворителей петролейный эфир- ацетон (8:2) ( проявитель- насыщенный раствор сурьмы хлорида в хлороформе с последующим нагреванием при температуре 110°C в течение 10-15 мин), обнаружили вещество, которому соответствовало красновато-фиолетовая зона адсорбции. С учетом полученных результатов и положительной реакции Либермана-Бурхарда на стероидные соединения обнаруженное вещество было отнесено к классу стеролов.

Особенности хроматографического поведения и значения Rf стеролов изучаемого растительного сбора по KiddellCh. и CookR.P.( бумага хроматографическая ватман 7, пропитанная фенилцеллозольвом, нисходящая хроматография, подвижная фаза- гептан) и MichalecC. ( бумага хроматографическая ватман 3, пропитанная 10% парафиновым маслом в бензоле, восходящая хроматография в подвижной фазе ледяная уксусная кислота – хлороформ- парафиновое масло,65:25:10) позволили ориентировочно идентифицировать обнаруженное вещество с

$\beta$ -ситостерином (Rf 0,80)[30 ].

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 Mittelschnelllaufend ) в системе растворителей бутанол-уксусная кислота-вода ( 4:1:5). В анологичных 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 Rf обнаруженных веществ и аутентичных образцов. Идентификацию флавоноидов на хроматограммах проводили также путем внесения заведомо известных соединений в экстракт. При этом наблюдали усиление соответствующего пятна[ 41,42].

Результаты хроматографического анализа представлены в таблице 9.

*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,

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

вышеспособом, затем еще 1 раз 90% спиртом в течение 30 мин.

Извлечения фильтровали через тот же фильтр в ту же мерную колбу,

Таблица 9.

## Цветные реакции и данные хроматографического анализа флавоноидных соединений капусты огородной

№ пятна	Значение Rf в системе БУВ (4:1:5)	1% раствор AlCl <sub>3</sub> 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

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 [ 43,44].

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:

$$X =$$

Метрологические характеристики спектрофотометрической методики  
количественного определения флавоноидов

X	f		S <sup>2</sup>	S	P, %	t (P,f)	Δ X	ε, %	Δ	ε, %
0,60	4	0,614	0,0001	0,0114	95	2,78	0,0317	5,16	0,0142	2,31
0,61										
0,61										
0,62										
0,63										

Agilent Technologies США с металлической колонкой размером 4,6 x 150 мм, заполненной сорбентом Zorbax XB C-18 с размером частиц 3,5 мкм. Анализ проводили в градиентном режиме элюирования при комнатной температуре. В качестве подвижной фазы использовали двухкомпонентную элюентную систему : 0,5% раствор фосфорной кислоты/ ацетонитрил. Скорость подачи элюента составляла 1 мл/ мин, продолжительность хроматографирования 15 мин.

Дектектирование проводили с помощью УФ- детектора при 272 нм, компьютерную обработку данных - по стандартной программе “Chemstation A.09.03”

*Подготовка образцов для анализа.* Около 1 гр (точная навеска ) сырья помещали в круглодонную колбу вместимостью 150 мл, прибавляли 100 мл 70% метанола и оставляли на ультразвуковой бане на 15 мин, после чего содержимое колбы сначала фильтровали через четыре слоя марли в 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.

Время, мин	А, %	В, %
1	80	20
5	70	30
7	30	70
10	30	70
12	80	20
14	80	20

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.

Результаты исследования приведены на рисунке 9 и в таблице 11.

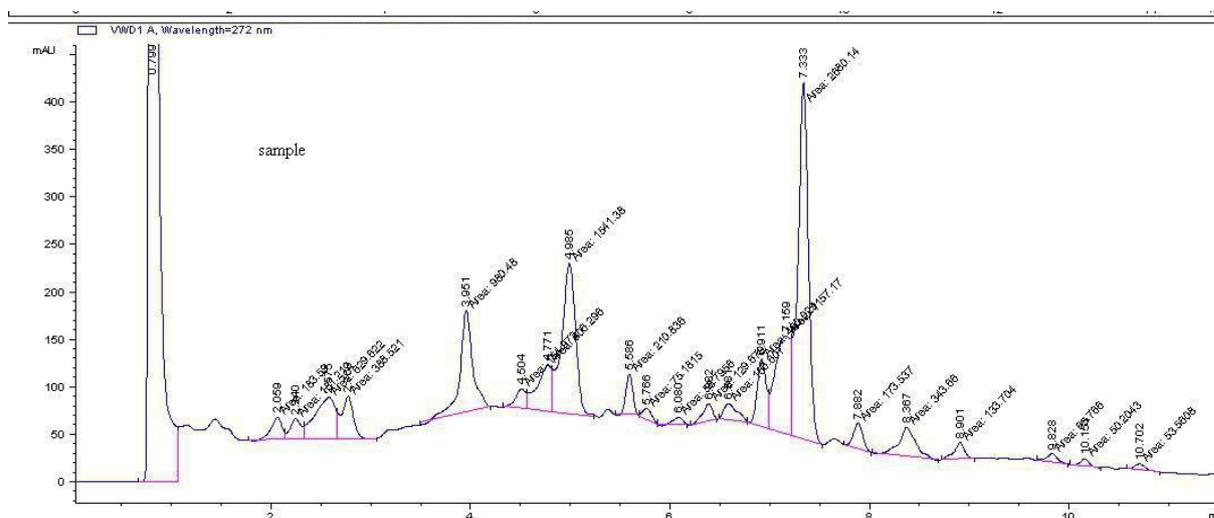


Рис. 9 Хроматограмма флавоноидов капусты огородной.

Таблица 11.

Состав и количественное содержание флавоноидов капусты огородной

Время удерживания, мин	Идентифицированные флавоноиды	Содержание, мг %
7,090	Рутин	0,19
8,898	Кверцетин	0,32

### 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[17].

Определение элементного состава капусты огородной проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой[45]. 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 AgilentTechnologies.

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.12)

Таблица 12

<b>Элементы</b>	<b>Содержание</b>	<b>Элементы</b>	<b>Содержание</b>
-----------------	-------------------	-----------------	-------------------

	<b>мг/кг</b>		<b>мг/кг</b>
Li	1,00	Sr	120,0
Be	0,550	Y	0,83
Na	690	Zr	0,830
Mg	9,20	Nb	0,37
Al	350,0	Mo	2,53
P	250,00	Rh	0,012
S	980,0	Pd	0,510
K	19,00	Ag	1,4
Ca	13,00	Cd	0,760
Ti	15,00	In	<0,01600
V	1,300	Sn	2,200
Cr	4,500	Sb	0,08
Mn	91,00	I	20,00
Fe	188,00	Ba	28,0
Co	1,700	W	0,06
Ni	1,600	Ir	<0,019
Cu	6,87	Pt	<0,04200
Zn	89,00	Au	0,001
Ga	3,04	Hg	0,015
As	0,70	Tl	0,023
Se	0,50	Pb	0,01
Br	40,00	Bi	0,08
Rb	9,66	U	0,16

В результате сопоставления концентрации тяжелых металлов в анализируемом сырье с их кларками установлено, что их содержание практически соответствует незагрязненным территориям[46]. Токсичные минеральные элементы определены в образцах в пределах, допустимых СанПиН 0138-03 [47] для биологически активных добавок на растительной

основе, что указывает на экологическую безопасность сырья. Уровень тяжелых металлов, установленный для капусты огородной, 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 6 элементов (Na, Al, P, S, Sr, Fe ), в пределах от 10 до 100 мг/кг 8 элементов ( K, Ca, Ti, Mn, Zn, Br, I, Ba), от 1 до 10 мг/кг 12 элементов (Sn, Ag, V, Cr, Co, Ni, Cu, Ga, Rb, Mo, Mg, Li) и ниже 1 мг/кг 19 элементов (U, Bi, Pb, Tl, Hg, Au, Pt, Ir, W, Sb, In, Cd, As, Se, Rh, Nb, Zr, Y, Be ).

Обнаруженные элементы по степени убывания их количества можно представить в виде следующего ряда:

S>Na>Al>P>Fe>Sr>Mn>Zn>Br>Ba>I>K>Ti>Ca>Rb>Mg>Cu>Cr>Ga>Mo>Sn>Co>Ni>Ag>V>Li>Zr>Y>Cd>As>Be>Se>Nb>U>Bi>Sb>W>Tl>Rh>Pb>Au>In>Ir>Pt.

В листьях капусты огородной 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 капусты огородной, включающий органические кислоты, витамины, аминокислоты, флавоноиды, каротиноиды, микро- и макроэлементы.

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

### **ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ И БЕЗОПАСНОСТИ МЕСТНОГО СЫРЬЯ КАПУСТЫ ОГОРОДНОЙ**

#### **3.1 Определение токсичных тяжелых металлов**

В соответствии с рекомендациями ВОЗ в листьях капусты огородной, 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 [48].

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 [49].

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[46], проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии (прибор Shimadzu 6501 S) с пламенной и беспламенной атомизацией[50,51] .

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 7. Для учета неселективного поглощения спектрофотометр снабжен 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 таблицах 13 и 14.

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

Таблица 13.

<b>№</b>	<b>Определяемый элемент</b>	<b>Предельно допустимые концентрации в продуктах питания, ppm</b>	<b>Фактическое содержание в исследуемом сырье, ppm</b>
1	Pb	1.0	0.329
2	Cd	0.1	0,032

**Аналитические параметры атомно-абсорбционного определения элементов**

<b>Определяемый элемент</b>	<b>Ток лампы с полым катодом, <math>\mu\text{A}</math></b>	<b>Длина волны с резонансной линии, нм</b>	<b>Ширина щели, нм</b>	<b>Объемный расход аргона, л/мин</b>	<b>Температура атомизации, <math>^{\circ}\text{C}</math></b>	<b>Время атомизации, ч</b>
Свинец	10	283,3	0,5	1,0	1800	46
Кадмий	8	228,8	0.2	1,0	1500	46

### 3.2. Определение радионуклидов

Определение радионуклидов проводили методом гамма-спектрометрического анализа [52] 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 15, можно заключить, что исследуемое сырье в полной мере отвечает требованиям радиационной безопасности.

Таблица 15.

#### Результаты определения радионуклидов в капусте огородной

Показатели	Норма согласно требований Сан Пин №0193-06 п.п.1,107	Результаты исследования	Соответствие сырья требованиям Сан Пин
Содержание $^{137}\text{Cs}$ , Бк/кг	400	<20,8	Соответствует
Содержание $^{90}\text{Sr}$ , Бк/кг	200	<31,7	Соответствует

### 3.2. Определение остаточных количеств хлорорганических пестицидов

Определение остаточных количеств хлорорганических пестицидов проводится методом газожидкостной хроматографии [53,54]. Хроматографический метод основан на извлечении остаточных количеств пестицидов органическим растворителем с последующим определением на хроматографе (модель – 3700) с детектором электронного захвата (ДЭЗ), колонка 1,0 м x 3, заполненная хроматоном N-AW-DMCS (или N-AW-DMCS, или N-super) размером 0,120-0,20 мм с массовой долей 5 % неподвижной фазы OV-17 или SE-30. Температура термостата колонки – 210<sup>0</sup>С, температура испарителя – 240<sup>0</sup>С, температура детектора – 270<sup>0</sup>С. 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.

$\alpha$ -гексахлорциклогексан ( $\alpha$ -ГХЦГ),  $\gamma$ -гексахлорциклогексан ( $\gamma$ -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 аликвотградуировочного 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  $\alpha$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -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  $\alpha$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -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 16.

Таблица 16.

№	Хлорорганические	Предельное	Содержание
---	------------------	------------	------------

	пестициды, мг/кг	содержание, мг/кг	пестицидов в исследуемом сырье, мг/кг
1	$\alpha$ -ГХЦГ	0,05	0,030
2	$\gamma$ - ГХЦГ	0,05	0,047
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.*

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

### **3.3 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 [22,55,56 ].

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 17.

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 сырью в отношении микробиологической чистоты.

В листьях капусты огородной, 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.

Таблица 17.

**Показатели микробиологической чистоты листьев капусты огородной**

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 Enterobacteriaceae (escherihia coli, Salmonella), Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus	Должны отсутствовать	Отсутствуют	Соответствует

### Выводы

1. В листьях капусты огородной, 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 капусты огородной 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 капусты огородной.

2. Установлено, что комплекс биологически активных соединений листьев кочана капусты огородной, обуславливающий ее специфическую активность, представлен сахарами, органическими кислотами, водорастворимыми полисахаридами, аминокислотами, витаминами (С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>12</sub>, РР, U, К<sub>1</sub>каротиноиды), стероидными соединениями тиогликозидами и флавоноидами.

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 капусты огородной, 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, год- №.-с. 1784.
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. Канонврачебнойнауки. Абу Али Ибн Сино. – Ташкент: Издательство медицинской литературы им.Абу Али Сино, 1996.-363 с.
15. Холматов Х.Х., Дусчанов Б.О., Собиров Р.С. Абу Али ибн Синоишлатгандориворусимликлар.- Урганч , «Хоразм» , - 2003, -174 б.
16. Растительные лекарственные средства Абу Али Ибн Сино ( Авиценны)/ Справочник. – Под общей редакцией проф. Иргашева Ш.Б.- Ташкент, «Абу Али ибн Сино», - 2003.-457 с.
- 17.Мазнев Н.И. Новейшая энциклопедия лекарственных растений.- М.: РИПОЛ классик: Дом, XXI век,2009-621с.
18. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: ЭКС-МО-Пресс, 2001.-990 с.
- 19.Ужегов Г.Н. Большая семейная энциклопедия народной медицины.- Олма-Пресс Образование,2006.-1200 с.
20. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей.-М.: Мед.информ. агентство, 2000.-970с.
21. Государственная фармакопея СССР:Вып.1.-11-е изд.,доп.-М.; Медицина, 1987.-336 с.
- 22.Государственная Фармакопея СССР: Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989.- 400 с.
23. British Pharmacopoeia.-London: HMSO, 1998. –Vol. I. –P. 731.
24. European Pharmacopoeia.-6<sup>th</sup> Edition. –Strasbourg, 2008.
25. The International Pharmacopoeia. Third Ed. Vol.1. General methods of analysis.- Geneva : World Health Organization, 1979.-225 p.

26. The United States Pharmacopoeia. The National Formulary.- Toronto, 2003.-P.2717-2719.

27. Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials.-World Health Organization ,1998. – 128 p.

28. United States Pharmacopoeia 30- National Formulary 25. The Official Compendia of Standarts.- OfficialMay 1, 2007. –CD-ROMversion.

29. Гринкевич Н.И., Сорокина А.А. Биологическая роль микроэлементов. – М., 1983.- 238 с.

Общее руководство по методологиям научных исследований и оценке народной медицины.- Женева: ВОЗ,2000(документ WHO/EDM/TRM.2000.1

. Evans WC, Trease G.E. Pharmacognosy. -16<sup>th</sup> ed. – Edinburg: Saunders ,WB, 2009.-832 p.

30. Хайс И.М., Мацек К. Хроматография на бумаге .- М.: ИЛ, 1962. – 852 с.

31. Самылина И.А. Фармакогнозия. М.: Гэотар-Медиа. -2010.- 384 с.

32. Разработка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін/Ковальова А.М., Георгієвський Г.В. и др.// Фармаком. – Киев.- 2002. № 2.- С.92-97.

33. 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.

34. Химический анализ лекарственных растений. Учеб. Пособие для фармацевтических вузов / Под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронович- М.: Высшая школа, 1983.-С.111-122.

35.Съедин А.В. Фармакогностическое изучение рапса обыкновенного ( BrassicanapusL.): Дис. ... канд.фарм.наук.- Пятигорск, 2014.- С. 87.

36. Яковлев Р.П., Бликова К.Ф. Лекарственное растительное сырье Фармакогнозия. – СПб.: Спец.Лит., 2004.-765 с.
37. 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.
38. Сампиева К.Т. Изучение эффектов некоторых аминокислот при гипоксической гипоксии /К.Т. Сампиева [и др.] // Биомедицина. — 2010.
39. Шапиро Я.С. Биологическая химия: Учеб.пособие.- СПб.:ЭДБИ-СПб,2004.-368 с.
- 40.Горбачев В.В., Горбачева В.Н. Витамины, микро- и макроэлементы. Справочник.- Минск: Книжный дом «Интерпрсссервис», 2002.-544 с.
41. Бандюкова В.А. Распространение флавоноидов в некоторых семействах высших растений// Раст.ресурсы. Сообщение 22.- москва, 1968.-Т.4.- Вып.3.-С.429.
- 42.Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С. Флавоноиды растений.- Алма-Ата: Наука Каз.ССР, 1978.
43. Беликов Б.В., Точкова Т.В. Реакции комплексообразования в анализе флавоноидов // Фенольные соединения и их физиологические свойства.- Алма-Ата: Наука, 1973С. 168-171.
44. 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.
45. Определение элементного состава почв, грунтов и донных отложений атомно-эмиссионным и масс-спектральным методом анализа.- Отраслевая методика 3 категории точности.- Москва,2009.

46. J.Howenstine.CodexAlimentarisEndsvsSupplementsin 2005

[\http://www.naturalhealthteam.com](http://www.naturalhealthteam.com)

47. Санитарные нормы безопасности и пищевой ценности продовольственного сырья и продуктов питания (СанПиН 0138-03). – Ташкент, 2003

47. Санитарные нормы безопасности и пищевой ценности продовольственного сырья и продуктов питания (СанПиН 0138-03). – Ташкент, 2003

48. 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.

49. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. WorldHealthOrganization/ 2007.

50. ОФС. 1.5.3.0009.15 Определение содержания тяжелых металлов и лекарственных растительных препаратах

51. ГОСТ 30692-2000 Межгосударственный стандарт. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Атомно-абсорбционный метод определения содержания меди, свинца, цинка и кадмия.

52. Ибрагимова Н.А., Урманова Ф.Ф. К вопросу радиационной безопасности нового растительного сбора «Диасил» // Материалы научно-практической конференции « Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации». –Ташкент, 2008. – С. 274.

53. ГОСТ 30349-96 Плоды, овощи и продукты их переработки // Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов.- Москва, 2008.

54. Ибрагимова Н.А. Урманова Ф.Ф. Определение остаточного содержания пестицидов в составе сбора « Диасил» // Фармацевтический вестник Узбекистана.- Ташкент, 2010. -№4.- С. 22-24.

55. 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.

56. 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.