ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |  |
| --- | --- |
| **Введение****Обзор литературы****Глава I 1.1 Ботаническая характеристика рода хвощ, его химический состав, перспективность создания лекарственных препаратов****1.1.1 Ботаническое описание** **1.1.2 Анатомическое строение (микроскопия)****1.1.3 Географическое распространение****1.1.4 Химический состав растений рода хвощ****1.1.5 Применение рода хвощ в народной и официнальной медицине****1.2 Новые противогрибковые препараты****Заключение****Глава II Материалы, методы и аппаратура****Глава III Перспективность использования рода хвоща для создания лекарственных препаратов** **3.1 Перспективность использования рода хвоща для создания лекарственных препаратов****3.2 Биологическая активность и перспективность некоторых таксонов для создания лекарственных препаратов****Глава IV Изучение химического состава рода хвощ****4.1 Качественный состав****4.2 Количественное определение****4.3 Товароведческие показатели****Глава V Разработка технологического процесса получения сухого экстракта** **Выводы****Литературный обзор** |  |

# ВВЕДЕНИЕ

**АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ:** Проблема создания новых лекарственных средств растительного происхождения - одна из актуальных в современной фармации. Эта задача может быть решена за счет повышения качества существующих и внедренных новых лекарственных средств.

Количество растений , используемых в качестве лекарственных очень велико. Но только незначительная часть из них , наиболее важных и чаще применяемых, признана официнальной и входит в современную фармакопею.

Дикорастущим лекарственным растениям большой интерес уделяется благодаря обширным зонам произрастания, и, следовательно, позволяющим обеспечить потребности здравоохранения в лекарственном сырье.

Для лечения дерматологических заболеваний наряду с гормонами, антибиотиками и синтетическими продуктами в настоящее время успехом пользуются препараты, получаемые из лекарственного растительного сырья, преимущество которых состоит в широте фармакологического действия, малой токсичности, возможности длительного применения без побочных эффектов.

Хвощ, пользуется повышенным вниманием исследователей и клиницистов благодаря наличию ценных целебных свойств, достаточных площадей произрастания, а значит сырьевой базы.

Наряду с этим отмечается неполное изучение фармакологического действия хвоща , его лекарственных форм и методов оценки, что обусловило предпосылки для более углубленного изучения хвоща как лекарственного средства.

Обширный ареал произрастания позволяет использовать хвощ в качестве сырья для промышленного производства препаратов.

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ**: Фармакогностическое изучение , разработка технологии экстракта хвоща сухого.

**ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ**:

1. Определить перспективный вид рода хвоща.
2. Изучить антигрибковую активность рода хвощ.
3. Изучить химический состав рода хвоща.
4. Разработка технологического процесса сухого экстракта хвоща.

**НАУЧНАЯ НОВИЗНА**: Впервые проведен фитохимический анализ некоторых видов рода хвощ, разработана технология получения экстракта, определена противогрибковая активность.

**ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ**: Разработана схема технологического процесса получения сухого экстракта хвоща полевого.

# ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

**Глава I.**

1. **Ботаническая характеристика некоторых видов рода хвощ, его химический состав, перспективность создания лекарственных препаратов.**

**1.1.1Ботаническое описание .**

***Хвощ полевой******(Eqisetum arvense L****),* семейство хвощевые (Eqisetaceae)- это многолетнее травянистое споровое растение с ползучим, глубоко погруженным, буровато-черным корневищем, нередко несущим шаровидные клубни. Стебли двоякого рода: спороносные, появляющиеся весной, и летние - бесплодные, остающиеся до осени.

Спороносные побеги не ветвистые, сочные, высотой 7-25 см, светло бурые с гладкими ребрами и колокольчатыми бурыми влагалищами, заканчиваются спороносным колоском. Колоски овально-цилиндрические, споры шаровидные зеленоватые. После осыпания спор спороносные стебли быстро отмирают, и из этого же корневища отрастают летние вегетативные побеги. Летние побеги прямостоячие, бороздчатые, высотой до 50-60 см, без колосков, зеленые, тонкие, членистые, жесткие с многочисленными ветвями, внутри полые. Ветви безлистные, в мутовках по 6-8, косо вверх направленные, простые, четырех-, пятигранные. Влагалища стеблей, представляющие собой редуцированные листья, цилиндрические, 4-8мм длины, с треугольно-ланцетными, черно-бурыми, белоокаймленными зубцами, обычно сросшиеся между собой по 2-3, влагалища веточек зеленые с 4-5 буроватыми, длиннооттянутыми зубчиками [ ] .

Сложный внешний вид имеют и другие виды хвощей, что существенно затрудняет установление подлинности.

***Хвощ луговой (Eqisetum pratense L***). Многолетнее , споровое, травянистое растение с нетолстым, ползучим черным корневищем без клубеньков. Спороносные стебли 10-20 см высотой, бледно-зеленые, простые, гладкие, по созреванию спор развивают зеленые ветви и становятся сходными с вегетативными побегами. Влагалища на них не более 1,5 см длиной, узкоколокольчатые. Колос 0,8-1,5см длиной, цилиндрический.

***Хвощ лесной (Eqisetum sylvaticum L)***. Многолетнее, споровое, травянистое растение с тонким, ползучим, черно-бурым, ветвистым корневищем. Спороносные стебли 20-40 см высотой, до 0,5см в диаметре, рыжеватые или красноватые, простые с гладкими ребрами. Влагалища на них очень крупные, 1.5-3см длиной, 1см шириной, в нижней части зеленые, в верхней бурые, перепончатые, в числе 6-10. Колоски 2-4см длиной, цилиндрические. После созревания спор генеративные побеги зеленеют и развивают мутовки многократно ветвистых ветвей. Бесплодные стебли с10-14 ребрами. Влагалища 6-12см длиной, колокольчатые, бледно-зеленые, с ржаво-коричневыми лопастями. Ветви многочисленные, 3-5-гранные, тонкие, появляются из 4-5 узла.[ ].

***Хвощ болотный (Eqisetum palustre L)***. Болотное, гидрофильное растение. Корневище матово-черное, разветвленное, с клубеньками. Стебли 15-40 см высотой, 1.5-3 мм диаметром, зеленые, обычно ветвистые или простые, с тонко поперечно-морщинистыми крылатыми ребрами. Влагалища 5-12мм длиной, узкоколокольчатые, зеленые или темные, зубцы в числе 5-8, короче влагалищ, черно-коричневые, c широкой белой каймой. Ветви вверх направленные, колос 1-3см длиной, цилиндрический, тупой, на короткой ножке.[ ].

***Хвощ зимующий (Eqisetum hiemale L).*** Корневище почти черное, вертикально разветвленное. Стебли 50-80 см высотой, 3-5мм диаметром, цилиндрические, крепкие, жесткие, с широкой внутренней полостью. Ребра многочисленные, тонкие. Влагалища 5-10мм длиной, бледно зеленые, на верхушке и при основании черные, c 10-30 шиловидными зубцами, которые рано обламываются. Колос 1-3 см длиной, овальный, вверху заостренный.[ ].

**1.1.2 Анатомическое строение (микроскопия)**

Поперечные срезы междоузлий стебля разных видов хвоща округлы и, соответственно с более или менее выступающими ребрами и вдавленными бороздками стебля. Центр стебля обычно полый и сердцевина отсутствует; находящийся вокруг центральной полости однорядный пояс проводящих пучков отграничен эндодермой от корковой части. В корковой части стебля под эпидермисом располагается колленхима сплошным или прерванным кольцом; больше всего она развита в выступах. За колленхимой следует хлорофилоносная паренхима, которая больше всего развита под бороздками, несущими устьица. В таких паренхимных участках образуются, путем расхождения клеток или разрыва, крупные воздухоносные полости. Против выступов ребер располагаются проводящие пучки. К периферии от пучковой полости расположена флоэма. Центр стебля занят крупной воздухоносной полостью.

Устьица имеют чрезвычайно своеобразное строение, характерное для всех видов хвоща. Сопровождающие клетки их снабжены на внутренней своей поверхности ребрами, выступающими в полость клетки. На поверхностных препаратах видны эти ребра, лучисто расходящиеся вокруг устьичной щели. По расположению устьиц различают два типа: у одних видов сопровождающие клетки расположены на уровне и в плоскости клеток эпидермиса, у других - они погруженные. При погруженных устьицах большое углубление над сопровождающими клетками частично перекрыто выступающим окременевшем краем наружных стенок соседних эпидермальных клеток, оставляющих только посредине неправильное отверстие. Так образуется большая воздухоносная полость над устьицем, отверстие которой и видно в первую очередь на поверхностных препаратах.

Виды хвоща хорошо отличимы между собой по контуру стебля, строению паренхимы, эндодерме и типу устьиц.

**1.1.3 Географическое распространение**

Хвощ полевой имеет космополитический тип ареала. Это самый распространенный вид хвоща, произрастающий почти по всюду, кроме пустынь, полупустынь, а также Крайнего Севера. Южная граница хвоща идет от Каспийского моря до Азовского, откуда поворачивает на восток, пересекает Волгу у Волгограда и реку Урал и уходит за пределы страны [ ].

Хвощ полевой растет на лугах, в еловых, светлохвойных, липовых, сосновых, сосново-березовых, березовых и смешанных лесах. Предпочитает пойменные места, берега рек, кустарниковые заросли, обочины дорог, откосы железнодорожных насыпей, песчаные и глинистые карьеры. Нередко образует на приречных илистых песках почти чистые заросли. Часто встречается в озимых и яровых посевах и является трудноискоренимым корневищным сорняком, считается индикатором кислых почв [ ].

Хвощ болотный наиболее распространен на травянистых и моховых болотах, лугах, зарослях прибрежных кустарников, по задерненным каменным россыпям и залежам, лесной полосе, в Европейской части заходит и в а Арктику, где найден по северному побережью Кольского полуострова, на Канине и на Колгуеве, через Большеземельную тундру доходит до Полярного Урала. В арктической Сибири отсутствует, и лишь на крайнем востоке найден в Анадыре. На юг вид распространен до Черного моря; распространен по всему Кавказу. Отсутствует в нижнем Поволжье и в Крыму; занимает всю Сибирь и весь Дальний Восток [ ].

Хвощ лесной распространен в лесах, зарослях кустарников, на лесных и субальпийских лугах, кочкарных болотах.

Хвощ луговой встречается в Западной Сибири, Тюменской области, в Хакасской автономной области, Курганской области, Омской, Новосибирской, Кемеровской областях. Чаще встречается в лесах, среди кустарниковых зарослей, на каменистых россыпях.

Хвощ зимующий произрастает в лесах, среди пойменных кустарников, на лесных лугах, обрывистых берегах рек, ручьев.

Хвощи можно встретить в разных растительных зонах и сообществах, но в любом случае близ воды или в местах с достаточным содержанием влаги в почве или с относительно не глубоким залеганием грунтовых вод.

Входя в состав пионерных растительных группировок и захватывая территории с нарушенным естественным растительным покровом, хвощи нередко образуют чистые или почти чистые заросли в тех местах, где другие растения не могут жить, например, из-за обилия воды или, напротив из-за ее недостатка в тех слоях почвы, где расположена корневая система этих растений. Раз поселившись на какой-нибудь территории, хвощи благодаря наличию глубоко залегающих корневищ, успешно противостоят таким неблагоприятным воздействиям внешней среды, как засухи, лесные пожары и т.п. и успешно конкурируют с другими растениями, долго удерживая захваченную территорию. Поселяясь на местах с нарушенным растительным покровом.

**1.1.4 Химический состав растений рода хвощ**

Первые работы по исследованию химического состава растений семейства хвощевых появилось в 40-х годах XX века. Ранние работы носили разрозненный характер и касались выделения и изучения лишь отдельных соединений (сапонинов, алкалоидов, флавоноидов) [ ].

Нахамура и Хукути (1940) выделили из хвоща полевого флавоноиды эквизетрин, изокверцетин и 5-гликозид лютеонина [ ]. Позднее Харборн (1967) и Салех (1972) получил из сырья хвоща полевого флавоноидные соединения, производные кемпферола и кверцетина [ ].

Эти же соединения были идентифицированы чешскими учеными (1980) методом тонкослойной хроматографии и определено их количественное содержание. Сравнительное исследование химического состава польских видов хвоща также показало присутствие флавоноидов и фенолкарбоновых кислот во всех видах.

В нашей стране, в результате химического исследования свежей травы хвоща полевого и его спороносных стеблей, Сырчиной А.И. установлено наличие 26 фенольных соединений, в состав которых входят флавоноиды, фенолокислоты, и производные 1-инданона. Флавоноидные соединения хвоща полевого представлены: флавононами (нарингенин), флавонолами (аромодендрин, таксифолин, кемпферол, кверцетин), флавонами (генхванин, лютеолин, апигенин, 6-хлорапигенин)[ ].

Этим же автором методом газожидкостной хроматографии в хвоще полевом идентифицированны оксибензойные и оксикоричные кислоты: п-оксибензойная, протокатеховая, ванилиновая, галловая, п-кумаровая, феруловая, кофейная[ ].

Изучая растения рода Eqisetum, из хвоща полевого выделили сапонин - эквизетонин (до 5%), расщепляющийся при гидролизе на агликон - эквизетогенин и фруктозу [ ].

Обнаружены водорастворимые кислоты: аконитовая, арабиноновая, лимонная, фумаровая, глюконовая, малоновая, фосфорная, хинная, треоновая.

Хвощ полевой является рекордсменом среди растений по содержанию кремния. Так, в сухом веществе хвоща полевого содержится 9% кремнезема, а в золе до 96%. В соке хвоща полевого кремний обнаружен в растворимой форме кремниевой кислоты, связанной с органическими соединениями. С ростом растения содержание кремния возрастает, достигая максимума в конце вегетации. Также в хвоще найдены особые ферменты - силиказы, способствующие превращению неорганических соединений кремния в органические [ ].

Химический состав алкалоидов растений семейства хвощевых представлен в работах К. Эугстера, Губанова И.А., Баньковского А.И. и др. Хвощ полевой содержит в вегетативных органах небольшое количество (до 0,26%) алкалоидов (никотин, 3-метоксипиридин и палюстрин), являющийся общим для всех видов хвощей [ ].

Также в траве хвоща полевого обнаружены горечи, дубильные вещества, смолы, 30-190мг% аскорбиновой кислоты, 4.7мг% каротина, витамины группы В [ ].

**1.1.5 Применение рода хвоща в народной и официнальной медицине**

Препараты хвоща полевого (настои и отвары) назначают в качестве мочегонного средства при застойных явлениях сердечного происхождения (пороки сердца, сердечная недостаточность), а также при отеках , связанных с легочной недостаточностью, при плевритах, с большим количеством эксудата [ ].

При заболеваниях мочевыводящих путей и мочевого пузыря (пиелиты, циститы, уретриты), хвощ полевой используется одновременно с толокнянкой или другими растениями, обладающими мочегонными и противовоспалительными свойствами [ ]. При нефрите и пиелонефрите применение препарата противопоказано, так как они могут вызывать раздражение почек [ ].

Широко используют траву хвоща полевого при геморроидальных, маточных, желудочных и других кровотечениях [ ].

Настой травы хвоща полевого применяется при водянке, туберкулезе легких, кишечных инфекциях, кровавом поносе, для удаления камней из почек, при головных болях, аддисоновой болезни, воспаления седалищного нерва, при ревматизме и подагре.

Учитывая способность хвоща ускорять выведение свинца из организма, его рекомендуют при остром и хроническом отравлении свинцом.

Трава хвоща полевого входит в состав противоастматической микстуры по прописи Тарсакова, пасты ‘’Фитолизин’’, противодиабетического сбора ‘’Арфазетин’’[ ].

Применяют хвощ и для ухода за кожей лица. При жирной и пористой коже салфетки, смоченные настоем, накладывают на лицо. Настой травы хвоща полевого входит в состав косметических кремов ‘’ВТО’’ и ‘’Аленушка’’.

Также хвощ применяется как противозудное для лечения аллергических дерматитов [ ].

В народной медицине применяется не только хвощ полевой, но и другие виды хвоща.

Хвощ зимующий используется как мочегонное, вяжущее, кровоостанавливающее, болеутоляющее, седативное, потогонное средство; применяется при туберкулезе легких, при ревматизме, головных болях, при желтухе, грыже, для лечения язв, опухолей, воспалений.

Хвощ лесной тоже используется как вяжущее и мочегонное средство.

**1.2 Новые противогрибковые препараты**.

Инфекционные заболевания человека, вызываемые грибами, носят общее название микозы. Этиология, патогенез и клиническая картина микозов чрезвычайно разнообразны, однако практически во всех случаях этих заболеваний в патологический круг вовлекается кожа.

Подавляющее большинство патогенных и условно-патогенных грибов вызывают заболевание только при наличии факторов, снижающих нормальную физиологическую защитную функцию кожи и нарушающих резистентность организма против инфекции (особенно при иммунодефицитных состояниях). Количество этих причин в последнее время резко возросло (неблагоприятные экологические факторы, увеличение количества больных со злокачественными болезнями, особенно иммунной системы, широкое использование медицинских препаратов обладающих иммуносупрессивными свойствами: цитостатиков, гормонов, антибиотиков и т.д.)

***Амиказол (Amycozolum)***- 5% мазь и 2-5% пудра. Активен в отнашении дерматофитов и дрожеподобных грибов рода Candida.

***Амфоглюкамин (Amphoglucaminum)-*** применяется при локализованных и глубоких микозах.

***Анкотил (Ancotil)-*** выпускается в виде таблеток (0,5) и раствора для инфузий. Показания: системный кандидоз, криптококкоз и хромобластомикоз; аспергиллез.

***Антифунгол (Antifungol)-*** активное вещество клотримазол. Выпускается в форме мази, вагинального крема и вагинальных таблеток.

***Батрафен (Batrafen)-*** выпускается в форме крема, раствора и пудры для наружного применения, лака для ногтей и вагинального крема.

***Гино-дактарин (Gino-dactarin)-*** вагинальные свечи по 0,1 г. Применение: местное лечение вагинальных кандидозов и суперинфекции, вызванных грамположительными микроорганизмами.

***Гино- травоген (Gino-travogen)-*** шарики вагинальные по 0,6 г. Показания: грибковые инфекции влагалища.

***Дактозин (Daktozin)-*** комбинированный препарат, выпускается в форме мази. Оснавное показание- лечение «пеленочного» кандидоза у детей.

***Дифлюкан (Diflucan)-*** желатиновые капсулы по 0.05; 0.1; 0.15; 0.2; и раствор для инфузий. Применяется при лечении различных кандидозов и при профилактике грибковых инфекций у больных со злокачественными заболеваниями, которые предрасположены к таким инфекциям в результате химиотерапии цитостатиками.

***Ламизил (Lamisil)-*** противогрибковый препарат для перорального и местного применения. Препарат обладает широким спектром противогрибкового действия.

***Лоцерил (Loceril)-*** лак для ногтей- 5% по 5 мл, упаковка содержит также 60 тампонов, смоченных 70% изопропиловым спиртом в пакетиках из фольги, 10 лопаточек, 30 пилок для ногтей. Крем 0,25% по 20 г в тубах. Применение: микозы ногтей, стоп, гладкой кожи.

***Низорал (Nizoral)-*** таблетки, крем, шампунь. Показания: грибковые инфекции кожи, волос, ногтей, половых органов.

***Орунгал (Orungal)-*** капсулы по 0,1 г. Показания: заболевания кожи и слизистых оболочек, вызванные чувствительными к препарату грибами: кандидозный вульвовагинит, отрубевидный лишай, микозы, вызванные дерматофитами .

***Толмицен (Tolmicen)-*** 1% паста,1% лосьон, 0,5% порошок. Показания: микозы гладкой кожи, складок, стоп, отрубевидный лишай.

***Эконазол (Econasol)-*** крем 1%, лосьон 1% для наружного применения, аэрозоль 1% для местного применения. Обладает широким спектром действия.

**Заключение**

Растения рода хвощ - широко распространенное многолетнее дикорастущее травянистое растение, издавна использующиеся как в народной так и в официнальной медицине.

Выделены и изучены основные биологически активные вещества травы хвоща полевого: фенольные соединения, органические соединения кремния и сапонины.

 Широкое использование средств на основе биологически-активных веществ хвоща в народной медицине побудило нас изучить его другие виды активности, чему посвящена экспериментальная часть работы.

**Глава II. Материалы, методы и аппаратура**

1. Объектом изучения служила надземная часть (трава) хвоща, собранная в середине лета в 1996-1998 г. на территории Томской области, сушка сырья воздушно-теневая.

1. В качестве извлекателей при получении экстрактов использовались: вода очищенная, этанол 70%,40%, 20%, хлороформ, ацетон.
2. Для хроматографии применяли бумагу хроматографическую Ленинградскую марки «М» в системе ацетон:бутанол:вода (7:2:1).
3. **Аппаратура:**
4. Спектрофотометр «Спектроскан»;
5. Сушильный шкаф;
6. Термостат ТС-80 МУ42;
7. Перколяторы лабораторные.

**5. Качественный анализ содержания различных групп природных соединений.**

**5.1 Обнаружение алкалоидов.**

Для обнаружения алкалоидов в исследуемом растительном сырье, готовили кислое извлечение: 5,0 г сырья заливали 50мл 1% раствором хлорноводородной кислоты и оставляли на ночь. Извлечение фильтровали и определяли в нем алкалоиды с помощью общеосадительных реактивов:

1. реактив Драгендорфа;
2. реактив Фреде;
3. реактив Вагнера;
4. 1% раствор пикриновой кислоты;
5. 1% раствор кремниево-вольфрамовая кислота;
6. 1% раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты;
7. 1% раствор фосфорно-молибденовой кислоты.
	1. **Обнаружение флавоноидов.**

Для качественного обнаружения флавоноидов проводили цианидиновую пробу (проба Синода).

1,0 г сырья заливались 10 мл 96% этанола и нагревались на водяной бане до кипения. Колба встряхивалась несколько раз, закрывалась пробкой и оставлялась на 3-4 часа. Спиртовое извлечение сливали и концентрировали до 2-х мл, к нему добавляли 5-7 капель концентрированной хлорноводородной кислоты и 10 мг металлического цинка.

1. **Обнаружение дубильных веществ**

***Приготовление извлечения***: 1 г измельченного растительного сырья заливали 100 мл воды. Нагревали на водяной бане 20-30 мин, процеживали через вату и полученное извлечение использовали для проведения качественных реакций.

1. К 2-3 мл извлечения прибавляли несколько капель раствора железоаммониевых квасцов в случае гидролизуемых дубильных веществ появляется черно-синее окрашивание или осадок, а конденсированных- черно-зеленое окрашивание или осадок.
2. К 1 мл извлечения добавляли 2 мл раствора 10% уксусной кислоты и 1 мл раствора 10% средней соли ацетата свинца. При наличии конденсированных дубильных веществ фильтрат окрасится в черно-зеленый цвет от прибавления 5 капель 1%-ных железоаммониевых квасцов и 0,1 г ацетата свинца.
3. **Обнаружение сапонинов.**

***Приготовление извлечения*.** Готовили водный настой 1:10, нагревая измельченное сырье на водяной бане в течение 10 мин. Настой после охлаждения фильтруют и проводят с ним реакции.

Реакция пенообразования. Берут две пробирки, в одну приливают 5 мл 0,1 моль/л хлорноводородной кислоты, а в другую- 5мл 0,1моль/л гидроксида натрия. Затем в обе пробирки добавляют по 2-3 капли извлечения или растворов сапонинов и сильно встряхивали. При наличии в сырье тритерпеновых сапонинов в обеих пробирках образуется устойчивая пена.

1. **Обнаружение алифатических кислот.**
2. Щавелевая кислота.

К 2 мл водного извлечения добавили 4 капли раствора кальция сульфата насыщенного, в результате должен образоваться осадок растворимый в соляной кислоте и не растворимый в уксусной кислоте.

1. Янтарная кислота.

К 1 мл извлечения добавить несколько кристалликов резорцина, затем по стенке пробирки добавить 0,5 мл концентрированной серной кислоты, охладить и добавить 0,5 мл 10% раствора гидроксида аммония, должна появиться зеленая флуоресценция.

1. Лимонная кислота.

1 мл извлечения поместить в выпарительную чашку, добавить несколько кристалликов ванилина и выпарить досуха. К остатку добавить 2-3 капли конц. серной кислоты, нагреть на водяной бане до появления фиолетового окрашивания.

1. Яблочная кислота.

К 2 мл экстракта добавить 0,1 β-нафтола и 1каплю конц. серной кислоты. Опустить пробирку на 1/2 мин в кипящую водяную баню должна появиться ярко-желтая с зеленым флуоресценция.

1. Винная кислота.

4 капли водного экстракта выпарить досуха в фарфоровой чашке, добавить 1 мл конц. серной кислоты и несколькими кристалликами резорцина, нагреть на водяной бане до появления вишнево-красного окрашивания.

1. **Обнаружение полисахаридов**.

К 8,0 сырья добавили 260 мл воды, затем взбалтывать в течении 1 часа, оставили на одни сутки на холоду, слили с сырья извлечение и профильтровали его. В фильтрате осаждали водорастворимые полисахариды ( предварительно упарив фильтрат до1/3) 2-х кратным объемом 96% этанола (фр.А).

Оставшееся сырье обработали 100 мл кипящей водой очищенной с 0,4 мл конц. хлорноводородной кислотой и 30 мин выдержали на кипящей водяной бане. Затем в фильтрате осаждали пектиновые вещества 2-х кратным объемом 96% этанола (фр. Б).

Сырье обрабатывали 10% раствором гидроксида натрия, оставляли на сутки, затем фильтровали и в фильтрате осаждали полисахариды 50% уксусной кислотой (фр. В).

Каждую фракцию в отдельности отфильтровывали на воронке Бюхнера. Осадки сушили при температуре +90 °С до постоянной массы.

Далее проводили кислотный гидролиз. Точную навеску (0,1) каждой фракции помещали в ампулы, добавляли в каждую по 5 мл 10% раствора серной кислоты. Ампулы запаивали и нагревали при температуре +105°С в течении 3-х часов. Ампулы охлаждали и содержимое количественно переносили в мерную колбу на 25 мл, объем доводилим до метки водой (раствор А).

10 мл гидролизата (раствора А) разбавить 5 мл воды и нейтрализовали порошком карбоната бария по универсальной индикаторной бумаге. Раствор фильтровали через бумажный фильтр, промыв водой. Полученный фильтрат упаривали до объема 0,5 мл (раствор Б).

На хроматографическую бумагу Ленинградской фабрики марки «М» наносим 0,02мл упаренного фильтрата и стандартные образцы сахаров, хроматографировали восходящим методом в системе ацетон:бутанол:вода (7:2:1).

Высушенную хроматограмму обрабатывали анилинфитолатом и сушили в сушильном шкафу при температуре +105°С до появления пятен.

Нейтральные сахара:

- глюкоза Rf-0.15;

- галактоза Rf-0.12;

- арабиноза Rf-0.24;

- ксилоза Rf-0.27;

- рамноза Rf-0.4.

***Приготовление анилинфитолата***:

0,93 сернокислого анилина

1,66 фталевой кислоты

100 мл водонасыщенного бутанола.

1. **Обнаружение кремния**

Для идентификации соединений кремния проводили качественую реакцию образования желтого и синего кремнемолибденового комплекса с молибдатом аммония в кислой среде. В качестве восстановителя использовали аскорбиновую кислоту.

Для этого 1,0 г измельченного сырья сжигали в фарфоровом тигле на электрической плитке и прокаливали в муфельной печи. Затем золу обрабатывали 1% раствором хлороводородной кислоты, фильтровали, осадок на фильтре промывали 1% раствором хлороводородной кислоты и растворяли в 5% растворе гидроксида калия. С раствором силиката калия проводили реакцию с 10% подкисленным раствором молибдата аммония, приготовленного следующим образом: к 90 мл 11% раствора молибдата аммония прибавляли 10 мл 50 % раствора серной кислоты.

К 1 мл полученного раствора силиката калия прибавляли 2 мл 10% подкисленного раствора молибдата аммония, должно образоваться желтое окрашивание, при добавлении нескольких кристалликов аскорбиновой кислоты желтая окраска должна переходить в интенсивно синий цвет.

1. **Обнаружение эфирных масел.**

Использовался метод перегонки водяным паром. Навеску измельченного сырья помещают в широкогорлую круглодонную колбу вместимостью 700-800 мл, приливают 300 мл воды и закрывают резиновой пробкой с обратным холодильником. В пробке снизу укрепляются металлические крючки, на которые при помощи тонкой проволоки подвешивают градуированный приемник так , чтобы конец холодильника находился точно над воронкообразным расширением приемника, не касаясь его. Колбу с содержимым нагревают до кипения и слабо кипятят.

Пары воды и эфирного масла конденсируются в холодильнике и жидкость стекает в приемник. Масло отстаивают в градуированном колене приемника, а вода через меньшее колено приемника вытекает обратно в колбу.

1. **Обнаружение сесквитерпеновых лактонов.**

50 мл водного извлечения (1:10) помещали в делительную воронку, добавляли 10 мл хлороформа и осторожно взбалтывали, затем хлороформное извлечение сливали в колбу. К этому же водному извлечению добавляли свежую порцию хлороформа, второе извлечение объединяли с первым. Затем хлороформ отгоняли под тягой до получения «смолки».

ИК-спектр снимали на спектрофотометре «Specord UR» с призмами Li F и NaCl в таблетках KBr высотой 1 мм при соотношении веществ, наполнителя 1:400 и в пленке.

1. **Количественное определение флавоноидов**

Около 1,0 г сырья помещали в колбу с притертой пробкой на 50 мл, заливали 20 мл 90% этанола с содержанием 2%-тов концентрированной хлороводородной кислоты, экстрагировали с обратным холодильником на кипящей водяной бане и декантировали в мерную колбу на 50 мл. Извлечение повторяли еще дважды, заливая по 10 мл 90% подкисленного этанола. Объединенное извлечение доводят до метки 90% этанолом.

0,2 мл экстракта наносили на полоску хроматографической бумаги размером 45×15 см и хроматографировали в системе 0,1 М хлороводородной кислоты. Хроматограмму высушивали, в УФ-свете отмечали пятна флавоноидов, вырезали и элюировали 96% этанолом три раза по 10, 5 и 5 мл в колбе спритертой пробкой с обратным холодильником на водяной бане. Полученное извлечение флавоноидов сливали в мерную колбу на 25 мл, доводили до метки 96% этанолом и снимали оптическую плотность элюятов с помощью спектрофотометра с толщиной слоя 1 см при длине волны 353нм.

Сумму флавоноидов пересчитывали на кверцетин (Е =387,5) поформуле:

C= Д\*У1\*К\*У2\*100/(Е \*I\*М\*(100-В)\*У3,где

Д- оптическая плотность

У1- объем первого извлечения, мл (50 мл)

У2- объем второго извлечения, мл (25мл)

У3- объем, пошедший на хроматографирование, мл (0,2 мл)

Е -удельный показатель поглощения

М- масса навески, г

В- влажность сырья, %

1. толщина слоя, см

К-поправочный коэффициент на неполное элюирование с бумаги (1,15)

1. **Количественное определение соединений кремния**

В предварительно прокаленный фарфоровый тигльпомещали около 1,0 г сырья, сжигали и прокаливали в муфельной печи при температуре не выше 560-650 °С до постоянной массы (3-5 часов).

После охлаждения золу количественно переносили в стакан емкостью 150 мл, добавляли 50 мл 5% раствора хлороводородной кислоты и нагревали на кипящей водяной бане в течение 20 мин. Полученный раствор отфильтровывали через рыхлый беззольный фильтр, осадок промывали 1% раствором хлороводородной кислоты.

Фильтр с осадком переносили в коническую колбу на 150 мл, добавляли 50 мл 5% раствора гидроксида калия, затем прикрыв часовым стеклом, нагревали до кипения и кмпятили в течение 20 мин (колбу перед нагреванием взвесили). После охлаждения содержимое колбы доводили до первоначальной массы 5% раствором гидроксида калия.

1 мл полученного фильтрата помещали в мерную колбу на 25 мл, прибавляли 2 мл 5% раствора серной кислоты, доводили водой до метки. Через 15 мин определяли оптическую плотность с помощью фотоэлектроколориметра в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 400 нм, используя в качестве раствора сравнеия фильтрат без добавления реактивов.

1. **Методика определения экстрактивных веществ**.

20 г сырья измельчали и просеивали сквозь сито с отверстиями диаметром 1мм, помещали в коническую колбу прилив растворителя до «зеркала». Колбу закрывали пробкой, взвешивали и оставляли на 16 часов. Затем содержимое тщательно взбалтывали и фильтровали через сухой фильтр в сухую колбу. Фильтрат переносили в фарфоровую чашку диаметром 7-9 см, предварительно высушенную при t° +100°C до постоянной массы и взвешенную на аналитических весах. Фильтрат выпаривают на водяной бане досуха, и сушат при t° 100-105°С в течении 3 часов, охлаждали в эксикаторе и взвешивали.

**9. Определение микроэлементного состава.**

Для определения минерального состава травы хвоща использовался рентгено-флуоресцентный метод.

В чашку (тигль) берут навеску измельченного продукта (пробы взвешивают с погрешностью не более + 0,01 г), помещают в сушильный шкаф и высушивают при температуре около +105°С.

Содержимое чаши смачивают 2-3 мл 32% раствором азотной кислоты и нагревают на водяной бане до прекращения выделения паров. Обработку азотной кислотой повторяют еще дважды. Затем чашу помещают на электроплитку и проводят обугливание до прекращения выделения дыма, потом чашу переносят в электропечь при температуре около +250°С. Минерализацию проводят, постепенно повышая температуру электропечи на +50°С через каждые 30 мин и, доведя ее до температуры +450°С, продолжают минерализацию при этих условиях до получения золы. Чашу с золой извлекают из электропечи, охлаждают до комнатной температуры и смачивают золу 0,5-1,0 мл 32% раствором азотной кислоты. Затем кислоту досуха выпаривают на электроплитке со слабым нагревом и снова помещают чашу с пробой в электропечь при температуре, постепенно доводя температуру до 450°С и выдерживают 1 час. Минерализацию считают законченной, когда зола станет белого или слегка окрашенного цвета, без обугленных частиц. При наличии обугленных частиц повторяют обработку золы раствором азотной кислоты или водой.

В чашу с золой добавляют 10 мл 32% раствора азотной кислоты, нагревают на электроплитке со слабым нагревом до появления запахов азота. Содержимое чаши фильтруют в стакан через фильтр «белая лента». Тщательно ополаскивают чашу водой очищенной, фильтруя смыв чаши в тот же стакан. В фильтрат, содержащий тяжелые металлы добавляют азотнокислый цирконил, нагревают, фильтруют. Полученный осадок анализируют на приборе спектрометре «Спектроскан».

1. **Исследование антигрибковой активности**

С целью изучения антигрибковых свойств БАВ хвоща полевого воздушно-сухое сырье измельчали до размера частиц 2-5 мм, заливали до «зеркала» экстрагентом (вода очищенная, этиловый спирт 70%, бутанол, хлороформ, эфир) настаивали в течении 16 часов, фильтровали и полученные экстракты высушивали в струе воздуха, нагретого до +30°С.

Антигрибковые свойства полученных экстрактов исследовали методом двукратных серийных разведений в жидкой среде Сабуро по методике Вичкановой С.А.. Состав среды Сабуро:

- 10,0 пептона,

- 40,0 мальтозы,

- воды очищенной до 1 л.

В качестве тест-культуры использовали штаммы Aspergillus niger 163/3685, Candida albicans 4337, Trichophiton rubrum ВКПГ248/700, T. Mentagrophytes var. Interdigitale ВКПГ 268, Microsporum canis ВКПГ 326/316, которые были получены в отделе микологии центрального кожно-венерологического института Министерства здравоохранения России г. Москва.

Подготовка грибов-дерматофитов к опыту, посев и их учет проводили по методу Г.Н. Першина. Для посева использовали суспензии как правило, суточной агаровой культуры дрожжей, культуры плесневого гриба 4-5 суточные, остальных дерматофитов 7-10 суточные. Взвеси грибов готовили в физиологическом растворе по оптическому стандарту мутности.

После дополнительных разведений стандартного раствора микробная нагрузка патогенных грибов составляла 1000 грибковых тел в 1 мл среды. Посевы инкубировали в термостате, дрожжи при 37°С, остальные при 33°С.

Учет культуры дрожжей проводили через 24 часа, другие культуры на 7-10 сутки. Предельная доза препарата испытанная нами, соответствовала 1000 мкг/мл. Повторность каждого опыта 4-6 кратная. Контролем служили пробирки с питательной средой, засеянные аналогичным количество тест-культуры, а также пробирки со средой и препараты без культуры (для проверки мутности и осаждения препарата).

За критерий антигрибковой активности препарата принимали фунгистатический титр, который оценивали в микрограммах на 1 мл (мкг/мл) питательной среды. За фунгистатический титр принимали предельную концентрацию препарата в среде, при которой отсутствовал видимый рост культуры в условиях оптимальной темпиратуры и заданной микробной нагрузки.

**Глава III Перспективность использования рода хвоща для получения лекарственных препаратов**

1. **Перспективность использования рода хвоща для получения лекарственных препаратов.**

Как в нашей стране так и за рубежом известно мочегонное действие хвоща полевого. Нами было проведено изучение различных литературных данных и в некоторых из них встречается информация о возможности использования хвоща полевого в косметологии и дерматологии. В таблице 1 представлены результаты исследования, в которой в сравнении с хвощем полевым приведены еще 43 вида лекарственных растений произрастающих на территории Сибири и использующихся в косметологии и дерматологии.

### Tаблица 1

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Лекарственные растения | косм-е ср-во | дермат. аллергии | псориаз/ экзема | антимикр ср.-во |
| 1. Анис обыкновенный |  |  | /+ |  |
| 2. Береза бородавчатая | + | + |  |  |
| 3. Бузина черная | + | + | /+ |  |
| 4. Василек синий | + |  |  |  |
| 5. Верба белая | + |  |  |  |
| 6. Вероника лекарственная | + |  | /+ |  |
| 7. Горечавка крестовидная | + |  | +/ | + |
| 8. Донник лекарственный | + | + |  |  |
| 9. Душица обыкновенная | + | + |  |  |
| 10. Зверобой продырявленн. | + | + | /+ |  |
| 11. Земляника лесная | + |  |  |  |
| 12. Календула лекарственная  | + | + |  |  |
| 13. Калина обыкновенная | + |  | +/+ | + |
| 14. Крушина ломкая | + | + |  | + |
| 15. Картофель | + | + |  |  |
| 16. Клубника дикая | + |  |  |  |
| 17. Крапива обыкновенная | + | + |  |  |
| 18. Лопух большой | + |  | +/+ | + |
| 19. Лук репчатый | + | + |  | + |
| 20. Малина обыкновенная | + | + |  | + |
| 21. Морковь обыкновенная | + |  | /+ | + |
| 22. Медуница лекарственная | + | + | +/+ |  |
| 23. Мелисса лекарственная | + | + |  | + |
| 24. Можжевельник обыкн. | + | + |  | + |
| 25. Мята перечная | + |  |  | + |
| 26. Облепиха крушиновидная | + | + | +/ | + |
| 27. Овес полевой | + |  |  |  |
| 28. Одуванчик лекарств-й | + | + |  | + |
| 29. Петрушка огородная | + | + | +/+ |  |
| 30. Подорожник большой | + | + |  | + |
| 31. Полынь горькая | + | + |  | + |
| 32. Родиола розовая | + | + | +/ |  |
| 33. Шиповник коричный | + | + |  |  |
| 34. Ромашка аптечная | + |  |  |  |
| 35. Ряска малая | + |  | +/ | + |
| 36. Сосна обыкновенная | + | + |  |  |
| 37. Тысячелистник обыкн. | + |  |  | + |
| 38. Чемерица Лобеля | + | + |  |  |
| 39. Череда трехраздельная | + | + | +/ | + |
| 40. Фиалка трехцветная | + | + | /+ |  |
| 41. Чабрец обыкновенный | + | + |  |  |
| 42. Чистотел большой | + |  | +/ | + |
| 43. Шалфей лекарственный | + | + |  | + |
| 44. Хвощ полевой | + | + | +/+ | + |

Из перечисленных 44 видов лекарственных растений 43 вида используются в косметологии. Применение в дерматологии изучалось по следующей активности: антимикробное средство, псориаз, экзема, аллергодерматозы.

 Из таблицы 1 видно, что для лечения аллергодерматозов применяются 28 видов из 44 (береза бородавчатая, бузина черная, донник лекарственный, душица обыкновенная, зверобой продырявленный, календула лекарственная, крушина ломкая, картофель, крапива обыкновенная, лук репчатый, малина обыкновенная, медуница лекарственная, мелисса лекарственная, можжевельник обыкновенный, облепиха крушиновидная, одуванчик лекарственный, петрушка огородная, подорожник большой, полынь горькая, родиола розовая, лопух большой, сосна обыкновенная, чемерица Лобеля, череда трехраздельная, фиалка трехцветная, чабрец обыкновенный, шалфей лекарственный, хвощ полевой).

Для лечения псориаза используют 11 видов (горечавка крестовидная, калина обыкновенная, лопух большой, медуница лекарственная, облепиха крушиновидная, петрушка огородная, родиола розовая, ряска малая, череда трехраздельная, чистотел большой, хвощ полевой).

Для лечения экземы применяют 11 видов (анис обыкновенный, бузина черная, вероника лекарственная, зверобой продырявленный, калина обыкновенная, лопух большой, морковь обыкновенная, медуница лекарственная, петрушка огородная, фиалка трехцветная, хвощ полевой).

Результаты таблицы 1 показывают, что некоторые виды обладают антимикробным действием, точнее 20 видов (горечавка крестовидная, калина обыкновенная, крушина ломкая, лопух большой, лук репчатый, малина обыкновенная, морковь обыкновенная, мелиса лекарственная, можжевельник обыкновенный, мята перечная, облепиха крушиновидная, одуванчик лекарственный, подорожник большой, полынь горькая, ряска малая, тысячелистник обыкновенный, череда трехраздельная, чистотел большой, шалфей лекарственный, хвощ полевой).

 В результате проведенного анализа следует сказать, что по всем указанным в таблице критериям активности, хвощ полевой является одним из самых перспективных.

1. **Биологическая активность и перспективность некоторых таксонов для создания лекарственных препаратов.**

Проводя изучение хвоща полевого, нам представилось интересным определить обладает ли он противогрибковым действием, так же нам хотелось узнать обладают ли таким же действием другие виды хвоща (хвощ зимующий, хвощ болотный, хвощ лесной, хвощ луговой) и определить их перспективность использования для создания лекарственных препаратов.

Антифунгальная активность экстрактов определяли по максимальному разведению, в котором рост грибов был меньше, чем в контроле. В качестве препарата-сравнения использовали нистатин.

Результаты исследований представлены в таблицах 2-6.

**Экстракт хвоща полевого**

 Tаблица 2

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Экстрагент | Trichophyton mentagroph. | Trichophyt. rubrum | Candida albicans | Aspergill. niger | Microsp. canis |
| Вода 100°С | 1/15,6 | 1/125 | 1/1000 | 1/500 | 1/31,3 |
| Этанол 40% | 1/250 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 70% | 1/1000 | 1/7,8 | 1/250 | 1/1000 | 1/1000 |
| ХЛФ | 1/1000 | 1/62,5 | 1/125 | 1/1000 | 1/250 |
| Эфир | 1/1000 | 1/250 | 1/500 | 1/1000 | 1/1000 |

Из таблицы 2 видно, что экстракт хвоща полевого активен в отнашении таких грибов как Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Aspergillus niger, Microsporum canis, так же видно, что активность выше, когда в качестве экстрагента использовалась вода.

Экстракт хвоща болотного

Tаблица 3

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Экстрагент | Trichophyton mentagroph. | Trichophyt. Rubrum | Candida albicans | Asperg. niger | Microsp. canis |
| Вода 100°С | 1/1000 | 1/7,8 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 40% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 70% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| ХЛФ | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Эфир | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |

Из таблицы 3 видно, что экстракт хвоща болотного проявляет

активность только в отношении Trichophyton rubrum, причем активен только водный экстракт.

Экстракт хвоща зимующего

Tаблица 4

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  Экстрагент | Trichophyton mentagroph. | Trichophyt. rubrum | Candida albicans | Asperg. niger | Microsp. canis |
| Вода 100°С | 1/1000 | 1/7.8 | 1/1000 | 1/250 | 1/1000 |
| Этанол 40% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 70% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| ХЛФ | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Эфир | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |

Таблица 4 показывает, что хвощ зимующий активен относительно двух видов грибов: Trichophyton rubrum и Aspergillus niger. Активность проявляет только водный экстракт.

**Экстракт хвоща лугового**

Таблица 5

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Экстрагент | Trichophyton mentagroph. | Trichophyt. rubrum | Candida albicans | Asperg. niger | Microsp. Canis |
| Вода 100°С | 1/1000 | 1/7,8 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 40% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 70% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| ХЛФ | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Эфир | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |

Из таблицы 5 видно, что хвощ луговой обладает не высокой антигрибковой активностью, эффективен лишь водный экстракт в отношении Trichophyton rubrum.

**Экстракт хвоща лесного**

Таблица 6

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Экстрагент | Trichophyton mentagroph. | Trichophyt. rubrum | Candida albicans | Asperg. niger | Microsp. canis |
| Вода | 1/1000 | 1/1000 | 1/250 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 40% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Этанол 70% | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| ХЛФ | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |
| Эфир | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 | 1/1000 |

По данным таблицы 5 можно сделать вывод, что хвощ лесной обладает самой низкой антигрибковой активностью. Активность проявляется у водного извлечения относительно Candida albicans.

***Примечание:*** В условиях нашего опыта за максимальную концентрацию бралось 1000 мкг/мл, так как согласно литературным данным более высокие количества не представляют интереса в плане практического использования растений.

Как видно из данных таблиц, все пять видов исследованного сырья проявили фунгистатическую активность, но в разной степени. Наибольшую активность проявил экстракт хвоща полевого. Он оказался активным в отношении всех пяти использованных тест-культур. Экстракты хвощей болотного, зимующего и лугового оказались активными только в отнашении Tr. rubrum, а экстракт хвоща лесного активен в отнашении Asp. niger.

Фунгистатическая активность меняется в зависимости от выбора экстрагента. Из таблиц видно, что оптимальным экстрагентом является вода горячая.

**Глава IV Изучение химического состава рода хвощ**

1. **Качественный состав.**
2. Обнаружение алкалоидов

Проводили спомощью общеосадительных реактивов. Результаты представлены в таблицах 7 и 8.

По таблице 7 видно, что все виды исследуемых хвощей проявили одинаковую чувствительность к реактиву Фреде, по отношению к реактиву Драгендорфа наиболее чувствительными оказались хвощ лесной и хвощ зимующий, с реактивом Вагнера наиболее заметный результат получился в отношении хвоща лугового.

Таблица 7

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | р. Фреде | р. Драген-фа | р. Вагнера |
| Хв. полевой | + + | + | + |
| Хв. луговой | + + | + | + + |
| Хв. лесной | + + | + + | - |
| Хв. болотный | + + | + | + |
| Хв. зимующий | + + | + + | + |

Из таблицы 8 видно, что наилучший результат с 1% р-ром фосфорно-вольфрамовой кислоты показали хвощи: луговой, полевой и болотный, с раствором фосфорно-молибденовой кислоты - хвош лесной и хвощ зимующий, с раствором кремниево-вольфрамовой кислоты- полевой, луговой и лесной, с раствором пикриновой кислоты результаты реакций были менее значительны.

1%-е растворы кислот

Таблица 8

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | ф-вольфр. к-та | ф-молибд. к-та | кр.-вольфр к-та | пикринов. к-та |
| Хв. полевой | + + + | + + | + + | - |
| Хв. луговой | + + + | + + | + + | + |
| Хв. лесной | + | + + + | + + | + |
| Хв. болотный | + + + | + + | + | - |
| Хв. зимующий | + | + + + | + | - |

***Примечание:*** (-)- отсутствие помутнения, осадка;

(+)- слабая опалесценция;

(+ +)- хорошо заметное помутнение;

(+ + +)- наличие осадка.

Исходя из полученных результатов взаимодействия кислого извлечения из травы хвоща полевого, лугового, лесного, зимующего и болотного с общеосадительными реактивами на алкалоиды делаем вывод, что данная группа веществ присутствует в исследуемых объектах.

1. **Идентификация флавоноидов.**

Проба Синода .

При нагревании смеси спиртового извлечения травы хвоща полевого с соляной кислотой и цинком появлялось розовое окрашивание. Такое же окрашивание наблюдалось и в случае хвоща лесного, что говорит о наличии данной группы веществ в исследуемых объектах. В случае остальных объектов (хвощей болотного, лугового, зимующего), видимых изменений окраски не происходило, возможно что в этих объектах флавоноиды находятся в меньшем количестве и необходимы более чувствительные методы для их идентификации.

1. **Определение дубильных веществ.**

При взаимодействии водных извлечений всех пяти видов исследуемых хвощей с железоаммонийными квасцами образовалось черно-зеленое окрашивание, а в случае хвоща полевого и лесного так же выделился осадок черно-зеленого цвета, что указывает на присутствие группы конденсированных дубильных веществ. Этот результат подтверждается реакцией взаимодействия извлечений с 10% уксусной кислотой и 10% солью ацетата свинца (образовывалось черно-зеленое окрашивание).

1. **Обнаружение сапонинов**.

Проводили реакцию пенообразования водных извлечений исследуемых объектов с гидроксидом натрия и с соляной кислотой, после встряхивания образовывалась устойчивая пена во всех случаях, что свидетельствует о наличии сапонинов тритерпеновой природы.

1. **Обнаружение алифатических кислот**.

Исследование алифатических кислот проводилось и ранее, но нам представилось интересным проверить наличие таких кислот как щавелевая, янтарная, яблочная и винная и подтвердить наличие уже известной лимонной кислоты.

Исследовалось только водное извлечение хвоща полевого.

Результаты представлены в таблице 9.

#### Таблица 9

|  |  |
| --- | --- |
| Проведенная реакция | Результат |
| 1.реакция на щавелевую кислоту | Осадка не образовалось |
| 2.р-ция на янтарную кислоту | Зеленая флуоресценция не появилась |
| 3.р-ция на лимонную кислоту | при нагревании появилось фиолетовое окрашивание |
| 4.р-ция на яблочную кислоту | при нанесении на хроматогр. бумагу крайняя зона после разделения флуоресцирует желто-зеленым цветом |
| 5.р-ция на винную кислоту | образуется малиновое окрашивание, переходящее при нагревании в вишневое |

Результаты таблицы свидетельствуют о наличии в траве хвоща полевого лимонной, яблочной и винной кислот.

1. **Определение полисахаридного комплекса**.

Для разделения полисахаридного комплекса использовали метод восходящей бумажной хроматографии в системе ацетон:бутанол:вода с использованием сахаров-свидетелей. После обработки хроматограммы анилинфитолатом и нагревания в сушильном шкафу при t° 105°С обнаружились пятна с Rf=0.27 и Rf=0.24, что соответствует ксилозе и арабинозе.

1. **Определение минерального состава**.

В результате проведения рентгено-флуоресцентного анализа на спектрометре «Спектроскан» сухих остатков хвощей полевого, лугового, лесного, зимующего и болотного были обнаружены следующие тяжелые металлы: свинец, цинк, никель, медь, кобальт, железо, марганец, хром.

1. **Сесквитерпеновые лактоны**

ИК спектры полученной «смолки» в пленке давали полосы поглощения 1750см-1, что свидетельствует о γ-лактонной природе выделенной суммы веществ.

1. **Соединения кремния**

Реакция образования желтого и синего кремнемолибденового комплекса с молибдатом аммония в кислой среде с использованием в качестве восстановителя аскорбиновой кислоты, подтвердила наличие во всех исследуемых видах соединений кремния.

1. **Количественное определение.**
2. **Определение содержания флавоноидов**

Для изучения содержания флавоноидов использовали методику хроматоспектрофотометрического определения. Исследование показало,что наибольшее количество флавоноидов содержится в хвощах полевом и болотном, в остальных исследуемых образцах количество флавоноидов несколько ниже.

##### Результаты представлены в таблице 10

Таблица 10

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| хвощ полевой | хвощ лесной | хвощ зимующий | хвощ луговой | хвощ болотный |
| 3,37% | 1,09% | 2,83% | 3,2% | 3,78% |

1. **Определение содержания кремния**

Определение проводили используя метод фотоколориметрии , результаты исследования показали, что содержание соединений кремния в траве хвоща полевого составило 1,11%, в траве хвоща лесного- 1,12%, в траве хвоща зимующего 2,12%, в траве лугового и болотного соответственно 1,67% и 2,08%.

4.2.3 **Изучение содержания экстрактивных веществ в траве хвоща полевого.**

Определение содержания экстрактивных веществ проводили параллельно с исследованием по выбору экстрагента и времени экстрагирования. Результаты исследования представлены в таблицах.

Из представленных данных в таблице 11 видно, что максимальное количество экстрактивных веществ в траве хвоща полевого извлекается водой очищенной, как холодной так и горячей.

Содержание экстрактивных веществ в траве хвоща полевого в зависимости от экстрагента. (1)

Таблица 11

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Экстрагент | Выход, г | % |
| Этанол 40% | 5,78 | 28,92 |
| Этанол 70% | 5,8 | 29,0 |
| Этанол 96% | 1,8 | 9,0 |
| Вода 20°С | 6,88 | 34,4 |
| Вода 90-100°С | 7,31 | 36,55 |
| Хлороформ | 1,4 | 7,0 |
| Ацетон | 0,15 | 2,14 |

Исследование времени настаивания на выход экстрактивных веществ показало, что максимальный выход наблюдается после 16-ти часов настаивания и в последующие часы меняется незначительно и находится в пределах от 34 до 34,45.

Полученные результаты приведены в таблице 12, в качестве экстрагента использовалась вода горячая.

Влияние времени настаивания на выход экстрактивных веществ хвоща полевого.

Таблица 12

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Время экст-ции, час | Выход, г | Выход, % |
| 1. | 12  | 5,83 | 29,15 |
| 2. | 14 | 6,22 | 31,1 |
| 3. | 16 | 6,86 | 34,3 |
| 4. | 18 | 6,8 | 34 |
| 5. | 20 | 6,89 | 34,45 |

4.2.4 **Обнаружение эфирных масел.**

Проводили по фармакопейной методике. В результате проведенного исследования эфирное масло не было обнаружено, поэтому количественное определение не проводили.

4.2.5 **Определение полисахаридного комплекса**.

После фильтрования осадков на воронке Бюхнера, фильтры с осадками высушивали и взвешивали на аналитических весах (перед фильтрованием чистые фильтры также взвешивались на аналитических весах).Результаты представлены в таблице 13.

Содержание полисахаридных фракций в траве хвоща полевого.

#### Таблица 13

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Фракция | Масса фильтра, г | Масса фильтра с осадком, г | Масса осадка, в г в % |
| 1. | Фр. А | 0,2268 | 0,4564 | 0,2296 | 2,1 |
| 2. | Фр. Б | 0,22537 | 0,29861 | 0,07324 | 0,62 |
| 3. | Фр. В | 0,22076 | 0,4009 | 0,18014 | 1,35 |
| Масса общая |  | 0,48298 | 4,07 |

По результатам таблицы 12 следует, что содержание комплекса полисахаридов в траве хвоща полевого составляет около 4,07%. Значительную часть из этого комплекса занимают водорастворимые полисахариды, которые составляют 2,1% (фр.А), чуть меньше содержится полисахаридов гемицеллюлезы и составляет 1,35% (фр. В), пектиновые вещества составляют лишь 0,62%.

1. **Содержание микроэлементов**.

Результаты таблицы 14 показывают, что в траве хвоща полевого больше всего содержится железа и марганца, в траве хвоща болотного, лугового и зимующего больше железа и цинка, в траве хвоща лесного больше марганца и цинка. Содержание в образцах свинца, никеля, меди, кобальта, марганца (за исключением полевого), хрома относительно не высокое.

Таблица 14

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Хвощи | Pb | Zn | Ni | Cu | Co | Fe | Mn | Cr |
| Полевой | 0,82 | 11,4 | 7,44 | 0,34 | 1,11 | 16,5 | 30,39 | 1,11 |
| Луговой | 1,15 | 10,2 | 2,42 | 0,67 | 1,43 | 8,82 | 4,33 | 1,43 |
| Зимующий | 2,78 | 26,54 | 4,67 | 2,45 | 2,78 | 52,8 | 7,51 | 0,83 |
| Лесной | 1,72 | 17,5 | 2,80 | 1,33 | 1,72 | 13,73 | 30,1 | 0,52 |
| Болотный | 1,52 | 13,6 | 1,99 | 0,59 | 1,52 | 56,94 | 3,21 | 1,52 |

Содержание элементов рассчитано в миллиграммах на килограмм сухого остатка.

1. **Товароведческие показатели**.

Проведен товароведческий анализ травы хвоща полевого собранного на территории Томской области в 1996-1998 гг. Анализ проводился в соответствии с фармакопейной статьей на хвощ полевой (ГФ XI том 2 ст. 50).Результаты анализа приведены в таблице 15.

Результаты товароведческого анализа

Таблица 15

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  № | Наимен-е показателей качества по НД | Требования к качеству по НД | Результаты анализа |
|  | Описание | Стебли до 30 см, жесткие, членистые. Ветви не разветвленные, косо вверх направ-е, влагалища цилиндр-ие. Цвет серо-зеленый, запах слабый, вкус кисловатый. | Соответствует |
|  | Показатели |  |  |
| 1. | Влажность | не более 13% | 7,24% |
| 2. | Зола общая | не более 24% | 18,37% |
| 3. | Зола нераств-ая в 10% HCL | не более 12% | 8,45% |
| 4. | Др. частей раст-й | не более 1% | 0,1% |
| 5. | Др. Видов хвощей | не более 4% | нет |
| 6. | Орг. примеси | не более 1% | 0,15% |
| 7. | Минер. примеси | не более 0,5% | нет |

Заключение: сырье соответствует требованиям нормативной документации.

**Глава V Разработка технологического процесса получения сухого экстракта**

**Характеристика готового продукта:**

Экстракт хвоща полевого сухой- фармацевтический препарат применяемый в качестве лекарственного средства.

Экстракт хвоща полевого представляет собой комплекс водорастворимых веществ, состоящий из сапонинов, полисахаридов, дубильных веществ, алифатических кислот и других соединений травы хвоща полевого.

**Описание:**

Аморфный порошок коричневого цвета, гигроскопичен. В герметически закрытой таре сохраняет сыпучесть, при доступе влаги комкуется.

Своеобразный вкус и запах.

**Растворимость**: растворим в воде, спирте.

**Подлинность.**

Реакция на кремний. Образование желтого и синего кремнемолибденового комплекса с молибдатом аммония в кислой среде. В качестве восстановителя использовали аскорбиновую кислоту.

К сухому экстракту добавляли 2% раствор хлористоводородной кислоты, добавляли 2 мл 10%-го подкисленного раствора молибдата аммония, наблюдали желтое окрашивание, при добавлении нескольких кристалликов аскорбиновой кислоты раствор становился интенсивно-синего цвета.

Реакция на сапонины тритерпеновой природы.

К 0,1 г экстракта добавить 2 мл воды и добавить несколько капель основного ацетата свинца. Появляется белый осадок, подтверждающий наличие сапонинов тритерпеновой природы.

Реакция пенообразования (см выше).

**Хранение:**

В сухом защищенном от света месте при темпиратуре не выше 20°С.

**Технологическая схема производства.**

ТП 1. Получение исходного извлечения.

1. Измельчение травы хвоща полевого.

⇓

1.2Удаление пыли.

⇓

1. Экстракция сырья.

⇓

1. Отстаивание извлечения.

⇓

1. Фильтрация извлечения.

⇓

ТП 2. Получение готового продукта.

1. Упаривание извлечения.

⇓

1. Сушка извлечения.

⇓

1. Измельчение готового продукта.

⇓

1. Фасовка и оформление готовой продукции.

**Промежуточные продукты. Сырье. Материалы**.

Основным сырьем для получения экстракта хвоща полевого сухого на стадии ТП-1 является измельчение до частиц размером 7мм травы хвоща полевого, освобождение от пыли (частиц менее 0,25мм). Влажность не более 13%, золы общей не более 24%.

В качестве экстрагента использовалась вода очищенная при температуре 100°С в момент подачи на сырье.

На стадии ТП-2. Получаем готовый продукт-комплекс водорастворимых веществ, состоящи из: сапонинов, дубильных веществ, полисахаридов, алифатических кислот и других соединений.

**Требования к качеству применяемых в производстве сырья и материалов.**

###### Таблица 16

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | наимен-е сырья и материалов | № ГОСТ или ТУ | Квалификация | Сорт или артикул | % сод-я осн. вещества |
| 1. | Трава хвоща полевого | ФС № 50 | ⎯ | ⎯ | % |
| 2. | Вода очищенная | ФС № 42 ГФ Xl | ⎯ | ⎯ | 100% |

**Спецификация оборудования, контрольно-аналитических и регулирующих приборов.**

###### Таблица 17

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № | наимен-е оборуд. измерит. и регул. Приборов | кол-во | Материал рабочей части оборудования | Характеристика оборудования контрольно-измерит. приборов |
| 1 | Перколятор лабораторный | 4 | стекло | емкостью 1 л с краном |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 2 | Измельчитель типа траворезки | 1 | нерж. сталь |  |
| 3 | Сито 7 мм | 1 | цв. металл | диаметр отверстий 7 мм |
| 4 | Сито 0,25 мм | 1 | цв. металл | диаметр отверстий 0,25 мм |
| 5 | Мерный цилиндр | 1 | стекло | емкость 0,5 л |
| 6 | Весы тарирные | 1 | металл | предельная нагрузка 1кг |
| 7 | Колба сборник | 4 | стекло | емкость 300мл |
| 9 | Сушильный шкаф | 1 | нерж. сталь |  |
| 10 | Ступка с пестиком | 1 | фарфор |  |
| 11 | Весы аналитические ВЛР 200 | 1 | нерж. сталь | предельная нагрузка 200,0 |
| 12 | Воронка стеклянная | 1 | стело |  |
| 13 | Выпарительная чашка | 1 | фарфор |  |

**Изложение технологического процесса.**

ТП-1 Получение исходного извлечения.

1. Измельчение травы хвоща полевого.
2. Удаление пыли.

60,0 г измельченной травы при помощи сита со стороной отверстия 0,25мм освобождают от пыли (частиц менее 0,25 мм).

1. Экстракция сырья.

Экстракцию ведут методом ремацерации. 20,0 измельченной и освобожденной от пыли травы хвоща полевого помещают в перколятор и заливаем 260 мл очищенной воды t°=80-100°С. Экстрагент подают снизу непрерывным потоком под давлением до «зеркала». Затем оставляют на 8 часов для настаивания, после настаивания из перколятора сливают 88 мл извлечения.

В перколятор вновь подают снизу непрерывным потоком под давлением кипящую очищенную воду 92 мл и оставляют на 8 часов. После 8 часов из перколятора сливают 96 млизвлечения. Сырье из перколятора выгружают и отжимают на прессе. Отжим составляет 20 мл.

Извлечение и отжим объединяют и получают 204мл, которое отстаивают при температуре 3-5°С и процеживают через три слоя марли.

***Примечание***: для имитации «паровой рубашки» перколятор покрывали тканью (для уменьшения теплоотдачи).

Технологический процесс повторяли 4 раза

Количество израсходованных и полученных веществ на стадии ТП-1.

#### Таблица 18

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | наимен-е промежуточных продуктов, отходов сырья | сод-е оснавных веществ | загружено (получено) по массе по объему  |
|  | Загружено |
| 1 | Трава хвоща полевого |  | 20,0 |  |
| 2 | Вода очищенная | 100% | 352,0 | 352,0 |
|  | Получено |
| 3 | Извлечения |  |  | 204,0 |
|  | Отходы |
| 4 | Шрот |  | 27,12 |  |

**ТП-2 Получение готового продукта.**

1. **Упаривание извлечения** **и сушка**

Полученное извлечение сушат на электровентиляторе «Орбита» при температуре 30-40°С (метод конвективной сушки) до влажности не более10%.

2.2 **Измельчение готового продукта**

Готовый продукт измельчают в ступке и взвешивают.

Готовый продукт представляет собой аморфный порошок коричневого цвета, своеобразного вкуса и запаха, растворим в воде.

Гигроскопичен, при доступе влаги комкуется.

1. **Расфасовка и оформление готового продукта**

Готовый продукт- экстракт хвоща полевого сухой помещают в широкогорлый флакон с навинчивающейся крышкой. Наклеивают этикетку.

**Контроль производства.**

**Анализ исходного сырья**.

Реакция на кремний. Образование желтого и синего кремнемолибденового комплекса с молибдатом аммония в кислой среде. В качестве восстановителя использовали аскорбиновую кислоту.

К сухому экстракту добавляли 2% раствор хлористоводородной кислоты, добавляли 2 мл 10%-го подкисленного раствора молибдата аммония, наблюдали желтое окрашивание, при добавлении нескольких кристалликов аскорбиновой кислоты раствор становился интенсивно-синего цвета.

Реакция на сапонины тритерпеновой природы.

К 0,1 г экстракта добавить 2 мл воды и добавить несколько капель основного ацетата свинца. Появляется белый осадок, подтверждающий наличие сапонинов тритерпеновой природы.

Реакция пенообразования

**Анализ готового продукта.**

Потеря в массе при высушивании экстракта должна быть не более 5%, золы общей не более 10%.

Потеря в массе при высушивании составила 3,75%, зола общая- 7,2%

Содержание влаги в препарате и золы общей определяют по методике ГФ XI издания.

Качественные реакции на кремний и сапонины указаны выше.

**Техника безопасности**.

При организации производства экстракта хвоща полевого сухого следует руководствоваться правилами изложенными в книгах «Техника безопасности и производственная санитария в химической промышленности» издательство «Химия» М., 1965 и «Охрана труда и техники безопасности в химической промышленности», издательство «Химия», М., 1974.

Для исключения пожаров и ликвидации их последствий должен быть предусмотрен пожарный водопровод. В производственных и подсобных помещениях необходимо установить пенные огнетушители, ящик с песком, ведра и другие средства огнетушения

в соответствии с нормами Н-102-54 на случай пожара должен быть составлен план эвакуации.

Все электрооборудование должно быть заземлено, а его тип должен соответствовать классификации помещения по опасности поражения электрическим током. Для ламп местного освещения необходимо использовать напряжение 36В в сухих и не выше 12В в сырых помещениях.

К обслуживанию технологического оборудования должны допускаться лица, прошедшие инструктаж по технике безопасности, а также прошедшие проверку знаний квалификационной комиссией.

**Перечень производственных инструкций.**

Правильное ведение технологического процесса, соблюдение правил, по охране труда и технике безопасности регламентируется следующими инструкциями:

1.Технологические инструкции.

1. Технологическая инструкция по измельчению растительного сырья.
2. Технологическая инструкция по производству экстракта хвоща полевого сухого.
3. Технологическая инструкция по расфасовке, упаковке и оформлению готовой продукции.
4. Инструкции по технике безопасности, пожарной безопасности и производственной санитарии.
5. Инструкция о мерах пожарной безопасности в производственных помещениях.
6. Инструкция по электробезопасности.
7. Инструкция по защите от статического электричества.
8. Инструкция санитарного контроля и содержания производственных и бытовых помещений.
9. Инструкции по эксплуатации приборов.

**Технико-экономические нормативы**.

Растительным сырьем для производства экстракта хвоща полевого сухого является трава хвоща полевого (ФС №50 ГФ ХI изд т. 2)

В качестве сырья для получения промежуточных конечных продуктов используют воду очищенную (ФС № 42 2619-97, ГФ ХI изд).

**ВЫВОДЫ**

1. Проведен анализ 44 видов лекарственных растений, произрастающих на территории Сибири и выявлена перспективность хвоща полевого для применения в дерматокосметологии (по литературным данным).
2. Проведен микробиологический скрининг растений рода хвощ на биологическую активность (хвощ полевой, хвощ луговой, хвощ зимующий, хвощ болотный и хвощ лесной). При этом установлено, что из выбранных видов наилучшей противогрибковой активностью в отношении возбудителей дерматофитий обладает хвощ полевой.
3. Проведено сравнительное изучение состава БАВ в сырье хвоща полевого, лугового, лесного, зимующего и болотного и выявлены: алифатические кислоты (лимонная, винная, яблочная), полисахариды (арабиноза и ксилоза), флавоноиды, сесквитерпеновые лактоны, алкалоиды, таниды, сапонины и микроэлементы (цинк, хром, марганец, железо, свинец, медь, кобальт). Из них впервые идентифицированны сахара (арабиноза и ксилоза), микроэлементы, алифатические кислоты(яблочная и винная), сесквитерпеновые лактоны.
4. Установлено количественное содержание флавоноидов, полисахаридов, соединений кремния, микроэлементов.
5. Разработана технологическая схема получения сухого экстракта хвоща полевого.

**ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

1. Атлас лекарственных растений СССР.- М.: Госмедиздат, 1962-704 с.
2. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР.-М.: госмедиздат. 1962.-704 с.
3. Ботанико-фармацевтический словарь/ Под ред. К.Ф. Блиновой и Г.П. Яковлева-М.: Высшая школа, 1990-272 с.
4. Вичканова С.А., Рубинчик М.А. Методика изыскания антимикробных препаратов и высших растений -Киев, 1967-138 с.
5. Воронков М.Г., Кузнецов И.Г. Кремний в живой природе- Новосибирск: наука. 1984- 157 с.
6. Воронков М.Г., Зельчан Г.Н. Кремний и жизнь.-Рига: Знание. 1978.-588 с.
7. Гаммерман А.Ф. Курс фармакогнозии.-Л.: Медицина 1967.-690 с.
8. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.А. Химический анализ лекарственных растений
9. Гришина Л.Л., Самойлова Е.М. Учет биомассы и химический анализ растений. М.: 1971-118 с.
10. Губанов И.А. лекарственная флора Дальнего Востока-М.: Медицина 328с.
11. Гаммерман А.Ф., Гром И.И. Дикорастушие лекарственные растения СССР.-М.: Медицина, 1976-286 с.
12. Государственная фармакопея СССР. Девятое издание.-М.: Медицина,1961.-911с.
13. Государственная фармакопея. Одиннадцатое издание.- М.: Медицина.1987.-Т.1.-336с.
14. Государственная фармакопея. Одиннадцатое издание. - М.: Медицина.1987.-Т.2.-400с.
15. Дмитрук С.И. Диссертационная работа
16. Долгов Б.Н. Химия кремнийорганических соединений. - Л.:1988 184 с.
17. Задорожный А.М., Соколов С.Я. Справочник по лекарственным растениям. - М.: Лесная промышленность,1988-415 с.
18. Зверева А.В.Действие полевого хвоща и почечного чая на выделение свинца и ртути у кроликов // Труды Хабаровского медицинского института-Сб.18.-1959.-103-109 с.
19. Ковалева Н.Г. Лечение растениями.-М.: 1971.-351с
20. Корсун В.Ф., Ситкевич А.Е., Ефимов В.В. Лечение препаратами растительного рпроисхождения.- Беларусь, Минск-1995, 383с.
21. Лекарственные растения средней полосы европейской части России.-М.:Планета, 1992.-187 с.
22. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М. 1985-Т.1.-624 с.
23. Михайлов В. Современные фитотерапевтические препараты, (справочник).М., Стар Ко,1997-144с.
24. Муравьев Д.А. Фармакогнозия. М., Медицина ,1991-560 с.
25. Попов А.П. лекарственные растения в народной медицине.-Киев, 1967.-315с.
26. Родионов А.Н. Грибковые заболеваниякожи.-С.-П.:Питер 1998.-281с.
27. Скляревский Л.Н., Губанов И.А. Лекарственные растения в быту.-М.:Росагропромиздат.-1989-272 с.
28. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. М.: Медицина. 1998- 463с.
29. Решетникова М.Д. Фармакогностическое изучение хвоща полевого . Диссертационная работа , Пермь 1993- 117с.
30. Шретер А.И. Лекарственная флора Дальнего Востока. М.: Медицина.1977-328с.