

## ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК АНТОЦИАНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПЛОДОВ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ

О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, М. А. Казьмина

ФБГОУ ВПО Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 12.12.2013

**Аннотация.** Проведено исследование спектральных характеристик извлечений из плодов облепихи крушиновидной, полученных с применением экстрагентов в условиях pH от 2 до 7. Установлено, что оптимальным экстрагентом для выделения антоцианов из плодов является подкисленный соляной кислотой 80%-ный спирт этиловый. Результаты исследования могут быть использованы для разработки методики идентификации и количественного определения суммы антоцианов в плодах облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии в видимой области.

**Ключевые слова:** Антоцианы, плоды облепихи крушиновидной, лейкоантоцианы, спектральные характеристики.

**Abstract.** A study of the spectral characteristics of extracts from fruits of sea buckthorn, obtained using solvents under pH conditions between 2 and 7. Established that the optimal solvent to extract anthocyanins from the fruit is acidified with hydrochloric acid 80% ethyl alcohol. The results can be used to develop methods to identify and quantify the amount of anthocyanins in the fruits of sea buckthorn by spectrophotometry in the visible region.

**Keywords:** Anthocyanins, the fruits of sea buckthorn, leucoanthocyanins, spectral characteristics.

Поиск и исследование перспективных природных источников веществ, обладающих антирадикальной и антиоксидантной активностью, является весьма актуальной задачей. Лекарственные растения содержат сложный комплекс биологически активных веществ (БАВ), оказывающих различное и многостороннее действие на организм человека. Антоциановые соединения (рис. 1 и табл. 1) обладают не только красящей способностью, но и высокой биологической активностью, что позволяет рассматривать их как биологически активные объекты, применяемые для профилактики, вспомогательной терапии и поддержки в физиологических границах организма человека. Исключительное значение имеют антоцианы (АЦ), так как благодаря заряду на атоме кислорода в углеродном кольце антоцианидины и антоцианины легче проникают через мембраны клеток [1,2].

Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides*, сем. *Elaeagnaceae*) издавна известна как ценное лекарственное и пищевое растение, широко распространенное в Евразии. Стандартизация свежих плодов облепихи проводится в соответствии с требованиями временной фармакопейной статьи (ВФС 42-1741-87). Отечественные Государственные Фармакопеи (ГФ) X, XI и XII изд. не содержат статей на данный вид сырья. Свежие плоды облепихи крушиновидной включены в государственные реестры лекарственных средств России 2004 и 2008 гг. В зарубежных фармакопеях на данный вид лекарственного растительного сырья (ЛРС) информации не обнаружено. БАВ в плодах облепихи, за исключением каротиноидов, согласно нормативной документации (НД), не определяют. Кроме того, отсутствуют данные о влиянии различных способов консервации плодов на стабильность БАВ. Поэтому исследования по разработке методик стандартизации плодов облепихи по содержанию БАВ и выбору оптимального

Таблица 1

Положение основных заместителей в агликонах АЦ

Агликон	Заместители в положении		
	R <sub>3'</sub>	R <sub>4'</sub>	R <sub>5'</sub>
Пеларгонидин (Pg)	H	OH	H
Цианидин (Cy)	OH	OH	H
Пеонидин (Pn)	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Дельфинидин (Dp)	OH	OH	OH
Петунидин (Pt)	OH	OH	OCH <sub>3</sub>
Мальвидин (Mv)	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>

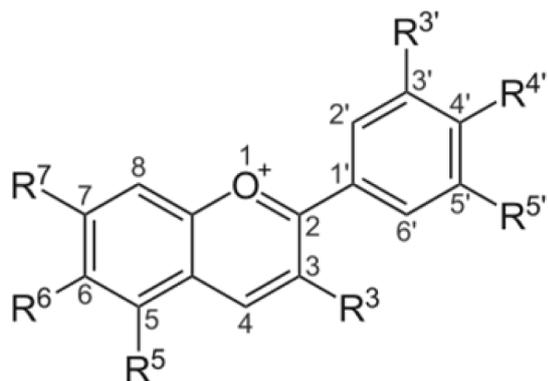


Рис. 1. Обобщенная структурная формула антоцианов [4].

способа консервации для более рационального их использования является весьма актуальными.

Цель настоящей работы - исследование спектральных характеристик извлечений из плодов облепихи крушиновидной, полученных с применением подкисленных и неподкисленных экстрагентов, для выявления возможности определения антоциановых соединений.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлись свежие плоды дикорастущего растения рода *Hipporhaës*, собранные в Воронежской области согласно правилам заготовки ЛРС различных морфологических групп.

Для извлечения антоциановых соединений из ЛРС, в литературе рекомендованы экстрагенты, представленные в таблице 2. Извлечения из плодов облепихи крушиновидной готовили путем нагревания сырья с вышеперечисленными экстрагентами в соотношении 1:20 на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут. Полученные вытяжки декантировали с остатка сырья и фильтровали через бумажный фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата. Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре Hitachi U1900 относительно экстрагента в диапазоне длин волн 400-600 нм.

Таблица 2

Составы экстрагентов, рекомендованных в литературе [3-10], для выделения АЦ из ЛРС

№ п/п	Состав экстрагента
1	Подкисленные спирто-водные растворы различной концентрации
2	Спирто-водные растворы различной концентрации
3	Вода очищенная
4	Разведенная кислота хлористоводородная
5	0.1 М водный раствор кислоты хлористоводородной
6	1% водный раствор кислоты хлористоводородной
7	10% водный раствор кислоты муравьиной

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Следует отметить, что при использовании в качестве экстрагентов воды очищенной, спирто-водных растворов различной концентрации, 10% водного раствора кислоты муравьиной и 0.1 М водного раствора кислоты хлористоводородной вид спектра извлечений из плодов облепихи свидетельствовал об отсутствии максимума в диапазоне 510-550 нм, характерного для АЦ (рис. 2).

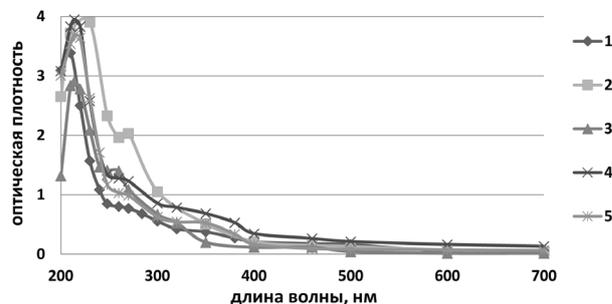


Рис. 2. Спектры поглощения извлечений из плодов облепихи крушиновидной, полученных с применением неподкисленных экстрагентов (1 – вода очищенная; 2 – 0.1 М водный раствор кислоты хлористоводородной; 3 – 96% спирт этиловый; 4 – 70% спирт этиловый; 5 – 40% спирт этиловый).

Использование подкисленных кислотой хлористоводородной экстрагентов дает положительный результат: в исследуемой области спектра появлялся специфический максимум, свидетельствующий о присутствии в плодах восстановленных форм – лейкоантоцианов (рис. 3). Это бесцветные предшественники АЦ, присутствующие во многих растениях, переходящие под действием соляной кислоты даже в отсутствие кислорода в АЦ. Их можно рассматривать как гликозиды лейкооснований соответствующих антоцианидинов.

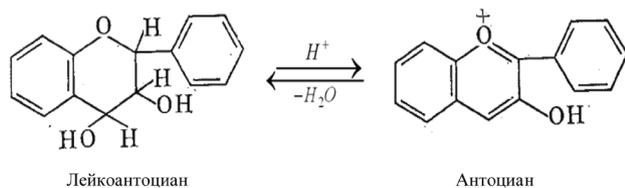


Рис. 3. Превращение лейкоантоцианов в антоцианы при выделении подкисленными экстрагентами.

Вид спектров поглощения извлечений из плодов облепихи, полученных с применением подкисленных экстрагентов, представлен на рис. 4. Большой интерес представляет собой максимум в видимой области спектра в диапазоне длин волн 510 - 550 нм. Этот максимум достаточно хорошо выражен, находится в длинноволновой области спектра, где имеют поглощение только окрашенные соединения. Все это дает право рассматривать данный максимум как специфичный, принадлежащий присутствующим в извлечении веществам антоциановой природы, а, значит, пригодный для качественного (идентификация) и количественного определения антоциановых соединений в плодах облепихи крушиновидной. Спектральные характеристики исследуемых извлечений представлены в табл. 3.

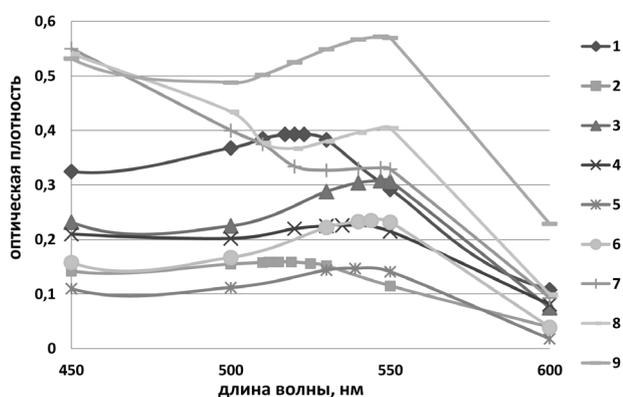


Рис. 4. Спектры поглощения извлечений из плодов облепихи крушиновидной, полученных с применением подкисленных экстрагентов (1 - разведенная кислота хлористоводородная; 2 - 1% водный раствор кислоты хлористоводородной; 3 - 70% подкисленный спирт; 4 - 40% подкисленный спирт; 5 - 50% подкисленный спирт; 6 - 60% подкисленный спирт; 7 - 95% подкисленный спирт; 8 - 90% подкисленный спирт; 9 - 80% подкисленный спирт).

На основании данных таблицы 3 оптимальным экстрагентом можно считать 80% этанол,

подкисленный HCl (оптическая плотность извлечения в максимуме поглощения антоцианов, максимальна).

Таблица 3

Спектральные характеристики извлечений из плодов облепихи крушиновидной

№ п/п	Экстрагент	Положение максимума, нм	Оптическая плотность в максимуме
1	Подкисленный 40% спирто-водный раствор	535±2	0.226
2	Подкисленный 50% спирто-водный раствор	539±3	0.147
3	Подкисленный 60% спирто-водный раствор	544±2	0.235
4	Подкисленный 70% спирто-водный раствор	547±2	0.308
5	Подкисленный 80% спирто-водный раствор	546±2	0.572
6	Подкисленный 90% спирто-водный раствор	548±2	0.404
7	Подкисленный 96% спирто-водный раствор	546±3	0.331
8	Вода очищенная	-	-
9	Разведенная кислота хлористоводородная	520±2	0.125
10	0,1 М водный раствор кислоты хлористоводородной	-	-
11	1% водный раствор кислоты хлористоводородной	Плечо 510-525	0.159
12	10% водный раствор кислоты муравьиной	-	-

Полярность экстрагента оказывает существенное влияние на спектральные характеристики извлечений из исследуемого сырья, а именно, на интенсивность (оптическую плотность) максимума и на положение максимума поглощения АЦ (рис. 5 и табл. 4). Можно отметить гипсохромное смещение максимума поглощения АЦ с увеличением полярности экстрагента (табл. 4).

Смещение максимумов может объясняться так же разницей в растворимости отдельных АЦ смеси в данных экстрагентах, что приводит к изменению качественного состава смеси и преобладанию отдельных индивидуальных соединений со своими специфическими спектральными харак-

теристиками [3]. Данные изменения могут быть связаны с переходом при увеличении pH среды окрашенной в красный цвет протонированной формы антоцианидинов в равновесные с ними формы халкона, имеющие желтую окраску, а также нарастание содержания равновесной с этими формами неокрашенной карбинольной структуры [3] (рис. 6).

Таблица 4

Влияние полярности экстрагента на положение максимума АЦ

№ п/п	Экстрагент	Р по Снайдеру	Положение максимума, нм
1	Вода очищенная, подкисленная HCl	9.00	Плечо 510-525
2	Подкисленный 40% спирто-водный раствор	7.48	535±2
3	Подкисленный 50% спирто-водный раствор	7.10	539±3
4	Подкисленный 60% спирто-водный раствор	6.72	544±2
5	Подкисленный 70% спирто-водный раствор	6.34	547±2
6	Подкисленный 80% спирто-водный раствор	5.96	546±2
7	Подкисленный 90% спирто-водный раствор	5.58	548±2
8	Подкисленный 96% спирто-водный раствор	5.20	546±3

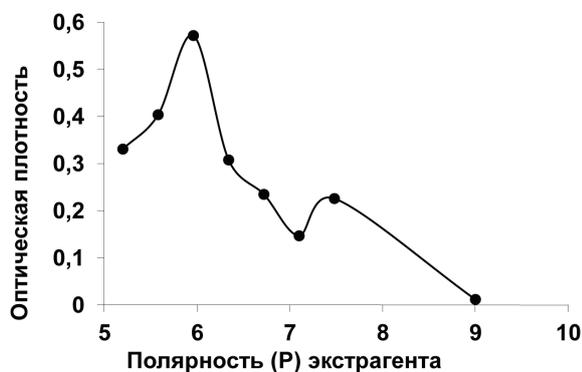


Рис. 5. Зависимость величины оптической плотности в максимуме поглощения извлечения из плодов облепихи крушиновидной от полярности экстрагента.

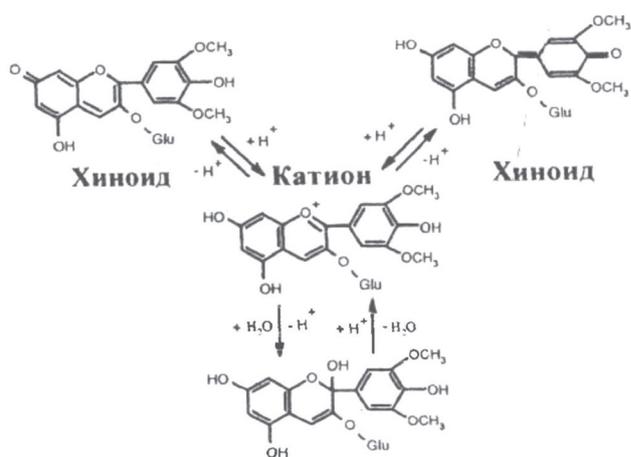


Рис. 6. Равновесные формы антоцианидин-3-гликозидов при pH 1,0-1,5 (на примере мальвидин-3-гликозида) [5].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведено исследование спектральных характеристик извлечений из плодов облепихи крушиновидной, полученных с применением подкисленных и неподкисленных экстрагентов. Установлено, что оптимальным экстрагентом для выделения АЦ из плодов облепихи крушиновидной является подкисленный соляной кислотой 80% спирт этиловый. Результаты исследования могут быть положены в основу для разработки методики качественного и количественного определения суммы АЦ в плодах облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии в видимой области.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Масленников П.В. Содержание антоциановых и каротиноидных пигментов в лекарственных растениях / П.В. Масленников, Г.Н. Чупахина, Л.Н. Скрыпник и др. // Электронный журнал «Вестник МГОУ». — [www.evestnik-mgou.ru](http://www.evestnik-mgou.ru) 2013. — №1.
2. Андреева В.Ю. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной / В.Ю. Андреева, Г.И. Калинкина, Н.Э. Коломиец, Н.В. Исайкина // Фармация. — 2013. — №3. — С. 19-21.
3. Брежнева Т.А. Спектральные характеристики антоциановых соединений плодов рябины черноплодной / Т.А. Брежнева, Е.Е. Логвинова, А.И. Сливкин, В.Н. Тарабрина // Вестник ВГУ, Сер. Химия, Биология, Фармация. — №2. — 2013. — С. 176-179.
4. Чулков А.Н. Равновесная сорбция антоцианов на бентонитовых глинах и на обращенных фазах / А.Н. Чулков // Автореф. на соиск. уч. ст. канд. техн. наук. - Белгород. - 2013. 18 с.

5. Ломова Т.С. Новые решения в хроматографическом и фотометрическом анализе антоциановых пигментов из растительного сырья / Т.С. Ломова // Автореф. на соиск. уч. ст. канд. хим. наук. — Воронеж. — 2007. — 23 с.

6. Шабуня П.С. Состав антоцианового комплекса *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium uliginosum* L. / П.С. Шабуня, А.М. Деева, С.А. Фатыхова и др. // Труды ВГУ. — Часть 1. — Том 6. — 2011. — С. 128-135.

7. Рязанова Т.К. Фармакогностическое исследование плодов и побегов черники обыкновенной / Т.К. Рязанова // Фундаментальные исследования. — №8. — 2013. — С. 1136-1140.

8. Сорокопудов В.Н. Антоцианы некоторых растений семейства *Berberidaceae* / В.Н. Сорокопудов, В.А. Хлебников, В.И. Дейнека // Химия растит. сырья. — №4. — 2005. — С. 57-60.

9. Крупенникова В.Г. Антоцианы скабиозы вечнозеленой / В.Г. Крупенникова, Г.М. Федосеева // Сибирский медицинский журнал. — №2. — 2008. — С. 78-80.

10. Егорова А.В. Изучение возможностей комплексного использования плодов черной смородины / А.В. Егорова, В.А. Куркин, А.М. Каримова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — Том 14. — №1(9). — 2012. — С. 2245-2217.

---

*Тринеева Ольга Валерьевна* — кандидат фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета ВГУ; e-mail: trineevaov@mail.ru

*Сливкин Алексей Иванович* — доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ВГУ; e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

*Казьмина Маргарита Александровна* — студентка 3 курса фармацевтического факультета ВГУ.

*Trineeva Olga V.* — the candidate pharm. sciences, the assistant to faculty of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty VSU.

*Slivkin Alexey I.* — the doctor pharm. sciences, the professor, manager of faculty of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, the dean of pharmaceutical faculty VSU.

*Kazmina Margarita A.* — student of pharmaceutical faculty of VSU.