

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В (НА ПРИМЕРЕ ПЛОДОВ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ И ЛИСТЬЕВ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ)

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

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Дата поступления в редакцию 10.01.2017 г

Аннотация. Методом капиллярного электрофореза проведено количественное определение водорастворимых витаминов группы В (тиамин, холин, рибофлавин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота) в высушенных плодах облепихи крушиновидной и листьях крапивы двудомной. Выявлено значительное количество рибофлавина и холина в исследуемом лекарственном растительном сырье, что подтверждает перспективность его применения в качестве источника данных биологически активных веществ и разработки фитопрепаратов на его основе.

Ключевые слова: плоды облепихи крушиновидной, листья крапивы двудомной, капиллярный электрофорез, тиамин, холин, рибофлавин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота.

Abstract. Capillary electrophoresis method conducted quantitative determination of water-soluble B vitamins (thiamine, choline, riboflavin, pantothenic acid, niacin) in dried sea buckthorn fruits and leaves of nettle. Revealed a sufficient amount of riboflavin and choline in the investigational medicinal plant material, which confirms the prospects of its use as a data source of biologically active substances and development of herbal remedies based on it.

Keywords: fruits of sea buckthorn, leaves of nettle, capillary electrophoresis, thiamine, choline, riboflavin, pantothenic acid, nicotinic acid.

Облепиха находит широкое применение в медицине, пищевой промышленности и других отраслях народного хозяйства. В ее плодах содержатся жирорастворимые и водорастворимые витамины (А, В₁, В₂, В₃, В₆, С), липиды, полифенолы, углеводы, аминокислоты, минеральные вещества [1]. Состав липофильной фракции биологически активных веществ (БАВ) плодов довольно полно изучен и описан в литературе [2-5]. Гидрофильная фракция БАВ требует подробного изучения с целью дальнейшей разработки фитопрепаратов на основе шрота плодов.

Химический состав растений рода *Urtica* представлен различными группами БАВ, среди которых фенольные вещества, лигнаны, кумарины, гистамин, органические кислоты, ферменты, витамины, пигменты и другие компоненты. В жгучих волосках крапивы двудомной содержатся

амины ацетилхолин, бетаин, холин, гистамин, серотонин, а также лецитин, гликопротеин [6].

Весь комплекс витаминов группы В обеспечивают организму человека нормальную работу нервной системы и отвечает за энергетический обмен. От данной группы БАВ зависит функционирование иммунной системы и эффективность роста клеток. Современному человеку, испытывающему умственные и эмоциональные нагрузки, подверженному стрессам, хроническим заболеваниям, витамины группы В необходимы в значительных количествах.

Согласно действующей нормативной документации определение витамина В₁ в премиксе осуществляют по ГОСТ Р 50929-96 «Премиксы. Методы определения витаминов группы В». Сущность метода заключается в извлечении тиамин из навески анализируемого продукта раствором серной кислоты, окислении его раствором железосинеродистого калия в тиохром, экстрак-

ции окисленной формы из водной фазы изобутиловым спиртом и измерении интенсивности флуоресценции [7]. Однако НПФ АП «Люмэкс» (Санкт-Петербург) проведены многочисленные исследования, по результатам которых разработана и аттестована «Методика выполнения измерений массовой доли свободных форм водорастворимых витаминов в пробах премиксов, витаминных добавок, концентратов и смесей методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-105» [8].

Цель исследования – определение витаминов группы В в высушенных плодах облепихи крушиновидной и листьях крапивы двудомной методом капиллярного электрофореза.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объектов исследования использовали измельченное высушенное лекарственное растительное сырье (ЛРС) крапивы двудомной и дикорастущего растения рода *Hippophaes*, собранное в Воронежской области согласно правилам заготовки ЛРС. Сушку листьев крапивы осуществляли воздушно-теньевым способом; сушку плодов производили при температуре не выше 60°C до остаточной влажности не более 14%.

Проведены исследования состава некоторых витаминов группы В (тиамин, холин, рибофлавин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота) изучаемого ЛРС методом капиллярного электрофореза на приборе Капель-105М «Люмэкс» (Россия). Вид полученных электрофореграмм показан на рисунках 1 и 2. Методика МВИ М 04-41-2005 (Свидетельство об аттестации методики выполнения измерений №224.04.17.035/2006). Определение витаминов В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), В₃ (пантотеновая кислота), В₅ (никотиновая кислота) осуществляли в варианте капиллярного зонного электрофореза. Детектирование витаминов проводили по их собственному поглощению при длинах волн 200 нм и 267 нм, используя програм-

мируемое переключение длин волн. Витамин В₅ определяли методом мицеллярной электрокинетической хроматографии с детектированием по собственному поглощению при длине волны 200 нм. Условия разделения: буфер: боратный с рН=8,9. Капилляр: $L_{эфф}/L_{общ} = 65/75$ см, ID=50 мкм. Ввод пробы: 600 мбар×с. Напряжение: + 25 кВ. Температура: + 30 °С. Давление и детектирование в ходе анализа изменялось по заданной программе. Определение свободных форм витамина В₄ (холин) проводили в соответствии с МВИ М 04-82-2014. Метод основан на извлечении свободных форм холина из проб дистиллированной водой, дальнейшем разделении и количественном определении компонента методом капиллярного электрофореза. Косвенное детектирование проводили при длине волны 254 нм или 267 нм (в зависимости от модификации системы «КАПЕЛЬ»). Анализ проводился при следующих условиях: капилляр: $L_{эфф}/L_{общ} = 50/60$ см, ID=75 мкм; рабочее напряжение, поданное на электроды, равно +13 кВ; детектирование при 267 нм, косвенное; температура 40°C; ввод пробы под давлением 150 мбар×с; состав рабочего буфера 10 мМ бензимидазол, 5 мМ винная кислота, 2 мМ 18-краун-6. Методика не распространяется на определение связанных форм холина [8].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты представлены в таблице 1. Для оценки достоверности, полученные результаты сравнивались с литературными данными по определению исследуемых БАВ в плодах облепихи двадцати сортов селекции Алтайской плодово-ягодной опытной станции, сейчас Научно-исследовательский институт садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко [9,10].

Полученные данные согласуются с результатами определения данных БАВ в плодах, описанных в литературе [9,10]. В исследуемых объектах установлено значительное содержание рибоф-

Таблица 1

Результаты определения витаминов группы В в исследуемом ЛРС (в пересчете на абсолютно сухое сырье)

№ п/п	Витамин	Содержание витаминов, мг/кг		
		Исследуемые плоды облепихи крушиновидной	Плоды облепихи крушиновидной (литературные данные, диапазон содержания) [9,10]	Исследуемые листья крапивы двудомной
1	В ₁	Менее 0.086*	0.02-2.23	Менее 0.086*
2	В ₂	6.11	0.05-1.01	3.90
3	В ₃	Менее 5.0*	-	Менее 5.0*
4	В ₄	39.72	-	3958.89
5	В ₅	Менее 10*	0.25-1.20	Менее 10*

* - нижний предел измерения

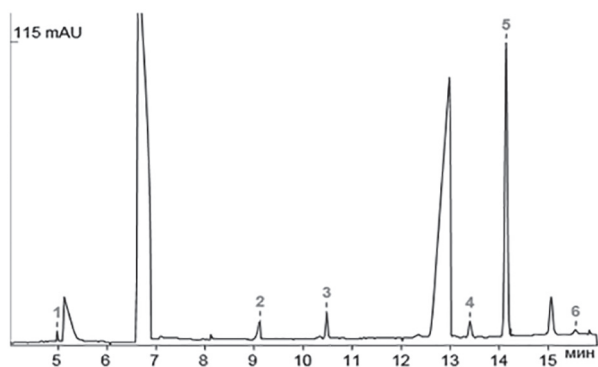


Рис. 1. Вид электрофореграммы при определении витаминов группы В в исследуемых плодах (1 – витамин В₁; 2 – витамин В₂; 4 – витамин В₃; 5 – витамин В₅)

лавина и холина. Последний в преобладающем количестве обнаружен в листьях крапивы двудомной. Холин - витаминоподобное вещество, обладающее мембранопротекторным, антиатеросклеротическим (снижает уровень холестерина в крови), ноотропным, антидепрессантным, успокаивающим действием. Холин улучшает метаболизм в нервной ткани, предотвращает образование желчных камней, нормализует обмен жиров [11]. Рибофлавин, регулируя окислительно-восстановительные процессы, принимает участие в белковом, жировом и углеводном обмене, а также в поддержании нормальной зрительной функции глаза и синтезе гемоглобина [11].

Таким образом, количество исследуемого ЛРС, рекомендуемое для ежедневного потребления в целях восполнения суточной нормы витаминов группы В в организме человека, варьирует, согласно рекомендациям разных стран (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, методом капиллярного электрофореза проведено количественное определение водорастворимых витаминов группы В (тиамин, холин, рибофлавин, пантотеновая кис-

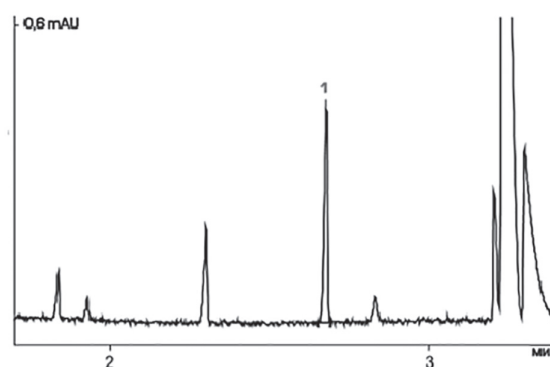


Рис. 2. Вид электрофореграммы при определении витамина В₄ в исследуемых плодах (1 – витамин В₄)

лота, никотиновая кислота) в высушенных плодах облепихи крушиновидной и листьях крапивы двудомной. Выявлено достаточное количество рибофлавина и холина в изучаемом ЛРС, что подтверждает перспективность его применения в качестве источника БАВ данной группы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Касенов А.Л. Исследование состава облепихи методом капиллярного электрофореза / А.Л. Касенов, Ж.Х. Какимов, М.М. Тохтаров // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. — № 12 (86). — 2011 — С. 82-84.
2. Тринева О.В. Комплексное исследование содержания и специфического профиля биологически активных веществ плодов облепихи крушиновидной / О.В. Тринева // Монография: Издательский дом ВГУ, 2016. — 224 с.
3. Чечета О.В. Стабильность каротиноидов в растительных маслах при хранении / О.В. Чечета, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин // Фармация. — 2008. — № 2. — С. 12-14.
4. Рыбакова О.В. Определение токоферолов методом хроматографии в тонком слое сорбента / О.В. Рыбакова, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин // Химико-фармацевтический журнал. — 2008. — Т. 42, № 8. — С. 31-34.

Таблица 2

Рекомендуемые нормы потребления витаминов группы В для взрослых и исследуемого ЛРС (в пересчете на абсолютно сухое сырье)

№ п/п	Витамин	Рекомендуемые нормы потребления, мг [11]			Суточная норма потребления, г	
		Россия	ЕЭС	США	плодов облепихи крушиновидной высушенных	листьев крапивы двудомной
1	В ₁	1.7	1.4	1.5	-	-
2	В ₂	2.0	2.0	2.0	327.33	512.80
3	В ₃	20	18	19	-	-
4	В ₄	500	-	534	12588.12	126.30
5	В ₅	5.0	6.0	-	-	-

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

5. Тринеева О.В. Исследование каротиноидного состава плодов и масла облепихи крушиновидной / О.В. Тринеева // Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы медицины в современных условиях». СПб, 2015. — С. 197-200.

6. Копытько Я.Ф. Применение, химический состав и стандартизация сырья и препаратов *Urtica* (обзор) / Я.Ф. Копытько, Е.С. Лапинская, Т.А. Сокольская // Химико-фармацевтический журнал. — 2011. — Том 45, №10. — С. 32-40.

7. Определение витамина В₁ в растительных премиксах методами зонного капиллярного электрофореза и флуориметрии / И.В. Стурова [и др.] // Химия растительного сырья. — 2007. — №4. — С. 121-122.

8. Комарова, Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электро-

фореза «Капель» / Н.В. Комарова, Я.С. Каменцев // СПб.: ООО «Веда», — 2006. — 212 с.

9. Кольтюгина, О.В. Исследование химического состава плодов облепихи и возможности использования ее в продуктах питания / О.В. Кольтюгина // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. — 2012. — № 1 (87). — С. 82-84.

10. Определение химического состава плодов облепихи на жидкостном хроматографе / А.Л. Касенов [и др.] // Вестник Алматинского технологического университета. — 2016. — № 2. — С. 14-18.

11. Синтез, свойства и контроль качества витаминных препаратов и витаминopodobных веществ: учебно-методическое пособие / А.З. Абышев [и др.]. — СПб.: Изд-во СПХФА, 2010. — 136 с.

Воронежский государственный университет

Тринеева О. В., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета.

E-mail: trineevaov@mail.ru

Рудая М. А., аспирант 1-ого года обучения фармацевтического факультета.

E-mail: margaritkazmin@yandex.ru

Сливкин А. И., доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии.

E-mail: slivkin@pharmvsu.ru

Voronezh State University

Trineeva O. V., candidate of pharmaceutical sciences, associate professor of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty

E-mail: trineevaov@mail.ru

Rudaya M. A., a graduate student of the 1st year students of pharmaceutical faculty.

E-mail: margaritkazmin@yandex.ru

Slivkin A. I., doctor of pharmaceutical sciences, professor, manager chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, dean of pharmaceutical faculty.

E-mail: slivkin@pharmvsu.ru