

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ ТИТРИМЕТРИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Н.А. Ковалева*, О.В. Тринеева, И.В. Чуви́кова, А.И. Колотнева, Д.К. Носова

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию: 10.10.2022 г.

Аннотация. Использование других органов такого широко распространённого лекарственного растения на территории России, стран Азии и Северной Америки, как облепиха крушиновидная пока крайне ограничено. В настоящее время проводятся повсеместные исследования биологически активных веществ и определение различных видов фармакологической активности листьев облепихи крушиновидной не только зарубежом, но и в России. За счёт разнообразного химического состава (флавоноиды, каротиноиды, дубильные вещества, витамины, тритерпеновые соединения, токоферолы, жирные кислоты, и др.) листья облепихи обладают широким спектром фармакологической активности, а, следовательно, являются перспективным сырьём для исследования и разработки лекарственных растительных препаратов. Простые и доступные титриметрические методы анализа являются методами выбора для первичной оценки суммарного содержания компонентов той или иной группы биологически активных веществ. Так, Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания рекомендует использовать такие методы при количественном определении в растительном сырье и лекарственных растительных препаратов таких групп биологически активных веществ, как органические кислоты, дубильные вещества и аскорбиновая кислота. Целью работы являлась первичная оценка суммарного содержания некоторых групп биологически активных веществ (органических кислот, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты и антиокислительной активности) в листьях облепихи крушиновидной титриметрическими методами.

Объектом исследования служили высушенные листья облепихи крушиновидной, заготовленные на территории Воронежской области от дикорастущих представителей, трёх фенологических фаз (периодов заготовки).

Проведенное первичное скрининговое количественное определение содержания суммы различных биологически активных веществ в листьях облепихи крушиновидной различных фенологических фаз развития растения показало, что накопление органических кислот в сырье более 2% и дубильных веществ более 10% наблюдается уже к началу июня и сохраняется без тенденции к росту до массового созревания и сбора плодов. Содержание аскорбиновой кислоты в листьях постепенно возрастает в период наблюдения. Накопление восстанавливающих биологически активных веществ начинается уже с конца мая-начала июня (фаза заготовки I), сохраняясь в течение всего периода созревания плодов, и достигает максимума к концу августа-началу сентября (фаза заготовки III).

Для заготовки в качестве лекарственного растительного сырья в промышленных масштабах, по данным эксперимента, следует рекомендовать III фазу (период технической зрелости плодов).

Ключевые слова: облепиха крушиновидной листья, *Hippophaë rhamnoides* L., антиокислительная активность, органические кислоты, дубильные вещества, аскорбиновая кислота.

Облепиха крушиновидная – широко распространённое лекарственное растение (ЛР) на территории России, стран Азии и Северной Америки. Большие объёмы ежегодно заготавливаемых плодов применяются в медицинской практике. Из них получают такие лекарственные раститель-

ные препараты (ЛРП), как облепиховое масло для приёма внутрь, капсулы с облепиховым маслом, а также суппозитории [1].

Использование других органов растения, таких как листья, пока крайне ограничено. В настоящее время проводятся повсеместные исследования биологически активных веществ (БАВ) и определение различных видов фармакологической активности листьев облепихи круши-

© Ковалева Н.А., Тринеева О.В., Чуви́кова И.В., Колотнева А.И., Носова Д.К., 2023

новидной не только зарубежом, но и в России [2-7]. Благодаря богатому химическому составу (флавоноиды, каротиноиды, дубильные вещества, витамины, тритерпеновые соединения, токоферолы, жирные кислоты, и др.) [8-15] листья можно рассматривать в качестве перспективного лекарственного растительного сырья (ЛРС) для разработки ЛРП. За счёт разнообразного химического состава листья облепихи обладают широким спектром фармакологической активности. В литературе описано изучение антиоксидантной, противовоспалительной, адаптогенной и мембранопротекторной активностей [2-7].

Простые и доступные титриметрические методы анализа являются методами выбора для первичной оценки суммарного содержания компонентов той или иной группы БАВ. Так, Государственная фармакопея (ГФ) РФ XIV издания [16] рекомендует использовать такие методы при количественном определении в ЛРС и ЛРП таких групп БАВ, как органические кислоты, дубильные вещества и аскорбиновая кислота. Таким образом, полученные данные дают представление о способности анализируемого сырья накапливать те или иные БАВ, выборе целевых групп БАВ для стандартизации и оценки качества ЛРС и ЛРП на его основе. Кроме того, данные первичные исследования определяют возможные виды фармакологической активности нефармакопейных видов растительного сырья и перспективы дальнейшей разработки ЛРП определенного спектра действия. Все это обусловило актуальность проведенных в работе исследований.

Целью работы являлась первичная оценка суммарного содержания некоторых групп БАВ (органических кислот, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты и антиокислительной активности) в листьях облепихи крушиновидной титриметрическими методами.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования служили высушенные листья (до остаточной влажности не более 10%) облепихи крушиновидной, заготовленные на территории Воронежской области от дикорастущих представителей, трёх фенологических фаз (периодов заготовки). I - фаза завязывания плодов (конец мая-начало июня), II – фаза единичного созревания плодов (середина-конец июля), III – фаза массового созревания плодов (конец августа-начало сентября), собранные в 2021 году.

Для определения содержания суммы органических кислот нами была адаптирована титриме-

трическая методика, изложенная в ФС 38 «Шиповника плоды» ГФ СССР XI издания [17]. 5 мл извлечения (полученного по способу, описанному в данной ФС) помещали в коническую колбу объемом 500 мл, прибавляли 200 мл воды очищенной. Титровали 0,1 М раствором натрия гидроксида до перехода окраски от светло-бирюзовой, через зелёную, до красно-фиолетовой. Индикатором являлась смесь 3 капель фенолфталеина раствора 1% и 3 капель метиленового синего спиртового раствора (для лучшей фиксации конечной точки титрования). Параллельно проводили контрольный опыт. Титрование извлечения из листьев каждой изучаемой фазы заготовки проводили в 10 повторностях. Содержание суммы свободных органических кислот (в процентах) вычисляли в пересчете на яблочную кислоту и абсолютно сухое сырье.

Оценку антиокислительной активности (АОА) отвара листьев (1:10) проводили известным перманганатометрическим методом по методике, запатентованной Максимовой с соавторами [18]. Данный способ получения извлечения был выбран по рекомендации ГФ РФ ОФС «Настои и отвары» [16], так как листья данного растения являются плотными и кожистыми по структуре. Для получения отвара использовали измельчённое сырьё, прошедшее сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм.

Определение суммы дубильных веществ в пересчете на танин проводили по методике 1 (перманганатометрическое титрование) ОФС ГФ РФ XIV издания «Определение дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [16]. Методика была выбрана ввиду получения предварительных данных по преимущественному содержанию в листьях дубильных веществ гидролизуемой группы [19-20], а также литературным сведениям о том, что данные БАВ могут накапливаться в количестве до 30% [12-14].

Определение аскорбиновой кислоты проводили по методике ФС ГФ РФ XIV издания «Шиповника плоды» методом йодатометрического титрования [16]. Предварительно установлено, что титрование 2,6-фенолиндофенолятом натрия приводит к завышенным результатам, так как имеет достаточно субъективный способ фиксации конечной точки титрования.

Результаты эксперимента статистически обрабатывались в соответствии с ОФС «Статистическая обработка результатов эксперимента» ГФ РФ XIV издания [16] с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе исследования было выявлено, что листья изучаемых фенофаз демонстрируют примерно одинаковое накопление органических кислот и дубильных веществ (в пределах ошибки определения). Накопление органических кислот в сырье более 2% и дубильных веществ более 10% наблюдается уже к началу июня и сохраняется без тенденции к росту до массового созревания и сбора плодов. Результаты представлены в таблице 1. Метрологическая характеристика результатов исследования приведена в таблице 2.

Содержание аскорбиновой кислоты в листьях, по данным эксперимента, имеет тенденцию к возрастанию в период наблюдения (табл. 1). Следовательно, возможно предположить, что ЛРС периода сбора урожая плодов и ЛРП на его основе являются наиболее ценными с точки зрения проявления антиоксидантной активности.

Исследования показывают, что изучаемые листья облепихи крушиновидной содержат в своём составе различные гидрофильные природные соединения, обладающие АОА (флавоноиды, аскорбиновая кислота, гидролизуемые танины). Полученные результаты определения данного вида активности отвара листьев облепихи крушиновидной различных фенологических фаз заготовки

методом перманганатометрии (*in vitro*) и их статистическая обработка представлены в таблицах 2 и 3. Антиокислительная активность рассчитывалась в пересчете на различные компоненты – флавоноиды, гидролизуемые танины и аскорбиновую кислоту, присутствующие в листьях по данным ранее проведенного качественного анализа на группы БАВ [19], обладающие подобными свойствами и вносящими вклад в суммарное значение данного показателя.

Согласно полученным результатам фаза заготовки III содержит в своём составе наибольший комплекс БАВ восстанавливающего характера, следовательно, АОА отвара выше. Результаты исследования демонстрируют увеличение накопления БАВ-антиокислителей в листьях от фазы формирования до полного созревания плодов (фенофаза I = фенофаза II < фенофаза III).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведено первичное скрининговое количественное определение содержания суммы различных БАВ (свободных органических кислот (в пересчете на яблочную кислоту), титруемых дубильных веществ (в пересчете на танин), аскорбиновой кислоты и веществ восстанавливающего характера) в листьях облепихи

Таблица 1

Содержание суммы БАВ в листьях облепихи крушиновидной различных фенофаз в пересчёте на абсолютно сухое сырьё, %

№	Фенологическая фаза	Сумма свободных органических кислот	Сумма дубильных веществ	Аскорбиновая кислота
1	I	2.372±0.0417	10.664±0.595	0.136±0.0104
2	II	2.414±0.0192	10.725±0.192	0.142±0.0061
3	III	2.394±0.0507	10.573±0.277	0.154±0.0040

Таблица 2

Метрологическая характеристика результатов исследования (P=95%)

\bar{x}	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{e}, \%$
Сумма дубильных веществ, % (на примере фенологической фазы II в пересчете на танин) n=9						
10.725	0.0597	0.244	0.0813	0.5758	0.192	1.789
Сумма свободных органических кислот, % (на примере фенологической фазы II в пересчете на кислоту яблочную) n=6						
2.414	0.00042	0.0207	0.00782	0.0507	0.0192	0.795
Аскорбиновая кислота, % (на примере фенологической фазы III) n=9						
0.154	0.000026	0.00512	0.00171	0.0121	0.00403	2.617
АОА, мг/г (на примере фенологической фазы I в пересчете на кверцетин) n=9						
14.72	0.8751	0.9355	0.3118	2.2078	0.7358	5.0

Таблица 3

АОА листьев облепихи крушиновидной трёх фаз заготовки

№ п/п	Фаза заготовки	АОА, мг/г в пересчете на				
		кверцетин	рутин	танин	кислоту галловую	кислоту аскорбиновую
1	I	14.72±0.736	31.44±1.572	45.49±2.275	35.68±1.784	126.67±6.334
2	II	14.33±1.056	30.62±2.256	44.30±3.264	34.75±2.560	123.34±9.089
3	III	15.49±0.979	33.09±2.091	47.88±3.025	37.55±2.373	133.31±8.424

крушиновидной различных фенологических фаз развития растения. Накопление органических кислот в сырье более 2% и дубильных веществ более 10% наблюдается уже к началу июня и сохраняется без тенденции к росту до массового созревания и сбора плодов. Содержание аскорбиновой кислоты в листьях постепенно возрастает в период наблюдения. Установлено, что накопление восстанавливающих БАВ начинается уже с конца мая-начала июня (фаза заготовки I), сохраняясь в течение всего периода созревания плодов, и достигает максимума к концу августа-началу сентября (фаза заготовки III).

Для заготовки в качестве ЛРС в промышленных масштабах, по данным эксперимента, следует рекомендовать III фазу (период технической зрелости плодов), что требует дальнейшего подтверждения при более детальном изучении БАВ листьев. Сбор можно проводить параллельно с плодами, так как раннее обезлиствление может привести к снижению накопления ценных групп БАВ в плодах – источнике фармакопейного препарата «Облепиховое масло».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Регистр лекарственных средств России [Электронный ресурс]. URL: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_7320.htm (дата обращения: 26.03.2022).
2. Мурзахметова М. К., Утегалиева Р. С., Аралбаева А. Н., Лесова Ж. Т. // Actualscience. 2015. Т. 1. № 5(5). С. 26-28.
3. Нилова Л. П., Малютенкова С.М. // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2021. Т. 83. № 1(87). С. 108-114. DOI: 10.20914/2310-1202-2021-1-108-114.
4. Jaroszewska A., Biel W. // Chilean journal of agricultural research. 2017. Vol. 77, pp. 155-162. DOI:10.4067/S0718-58392017000200155.
5. Ji M., Gong X., Li X., Wang C., Li M. // Molecules. 2020. Vol. 25(4), pp. 917. DOI: 10.3390/molecules25040917.
6. Pop R. M., Weesepeel Y., Socaciu C., Pintea A., Vincken J. P., Gruppen H. // Food chemistry. 2014. Vol. 147, pp. 1-9. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.083.
7. Saggu S., Divekar H. M., Gupta V., Sawhney R. C., Banerjee P. K., Kumar R. // Food Chem Toxicol. 2007. Vol. 45(4), pp. 609-617. DOI: 10.1016/j.fct.2006.10.008.
8. Чиркина Т.Ф., Золотарева А.М., Пластина З.А. // Техника и технология пищевых производств. 2009. № 1 (12). С. 71-74.
9. Мезенова О. Я., Мёрзель Й.-Т., Воронцов С. А., Воронцов П. А. // Вестник Международной академии холода. 2020. №3. С. 44-51. DOI: 10.17586/1606 4313 2020 19 3-44-51.
10. Мельников О. М., Верещагин А. Л., Кошелев Ю. А. // Химия растительного сырья. 2010. № 2. С. 113-116.
11. Черняк Д. М., Титова М. С. // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. №2 (60). С. 92-93.
12. Абдыкаликова К.А., Нечипоренко Л.П. // Вестник Костанайского государственного педагогического института. 2008. №4. С. 104-107.
13. Айтуарова А.Ш., Жусупова Г.Е. // Известия научно-технического общества «КАХАК». 2015. №4(51). С. 4-10.
14. Айтуарова А.Ш., Жусупова Г.Е. // Вестник Казахского национального медицинского университета. 2016. №3. С. 195-197.
15. Suryakumar G, Gupta A. // J Ethnopharmacol. 2011. №138(2). С. 268-278. DOI: 10.1016/j.jep.2011.09.024.
16. Государственная фармакопея Российской Федерации. - 14 изд.: в 4 т. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. Режим доступа: <https://femb.ru/femb/> (дата обращения: 19.02.2022).
17. ФС. 38. Шиповника плоды. Государственная Фармакопея СССР XI издания. 1987. Т. 2. С. 450-452.
18. Максимова Т.В. Патент РФ, №2170930, 2000.
19. Ковалева Н.А., Тринеева О.В., Носова Д.К., Колотнева А.И. // «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств», сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2022», 31 марта – 02 апреля 2022 г., Воронеж, 2022. С. 270-279.
20. Тринеева О.В. Комплексное исследование содержания и специфического профиля биологически активных веществ плодов облепихи крушиновидной. Воронеж, Издательский дом ВГУ, 2016. 224 с.

Воронежский государственный университет
*Ковалёва Н. А., аспирант 2-го года обучения,
преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета.

E-mail: natali-sewer@yandex.ru

Тринеева О. В., доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета

E-mail: trineevaov@mail.ru

Чувикова И. В., студентка 4-го курса фармацевтического факультета

E-mail: ira.chuvikova.01@mail.ru

Колотнева А. И., студентка 5 курса фармацевтического факультета

E-mail: nastya.kolotneva.48@gmail.com

Носова Д. К., студентка 5 курса фармацевтического факультета

E-mail: diya.31@mail.ru

Voronezh State University
Kovaleva N. A., postgraduate student of the 2nd year of study, lecturer of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of the Faculty of Pharmacy

E-mail: natali-sewer@yandex.ru

Trineeva O. V., Doctor of Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of the Faculty of Pharmacy

E-mail: trineevaov@mail.ru

Chuvikova I. V., 4th year student of the Faculty of Pharmacy

E-mail: ira.chuvikova.01@mail.ru

Kolotneva A. I., 5th year student of the Faculty of Pharmacy

E-mail: nastya.kolotneva.48@gmail.com

Nosova D. K., 5th year student of the Faculty of Pharmacy

E-mail: diya.31@mail.ru

DETERMINATION OF SOME BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE LEAVES OF SEA BUCKTHORN BY TITRIMETRIC METHODS

N.A. Kovaleva*, O.V. Trineeva, I.V. Chuvikova, A.I. Kolotneva, D.K. Nosova

Voronezh State University

Abstract. The use of other organs of such a widespread medicinal plant in Russia, Asia and North America as sea buckthorn is still extremely limited. Currently, widespread studies of biologically active substances and the determination of various types of pharmacological activity of sea buckthorn leaves are carried out not only abroad, but also in Russia. Due to the diverse chemical composition (flavonoids, carotenoids, tannins, vitamins, triterpene compounds, tocopherols, fatty acids, etc.), sea buckthorn leaves have a wide range of pharmacological activity, and, therefore, are promising raw materials for research and development of medicinal herbal preparations. Simple and accessible titrimetric methods of analysis are the methods of choice for the primary assessment of the total content of components of a group of biologically active substances. Thus, the State Pharmacopoeia of the XIV edition of the Russian Federation recommends the use of such methods for the quantitative determination of such groups of biologically active substances as organic acids, tannins and ascorbic acid in plant raw materials and medicinal herbal preparations. The aim of the work was the primary assessment of the total content of some groups of biologically active substances (organic acids, tannins, ascorbic acid and antioxidant activity) in the leaves of sea buckthorn by titrimetric methods.

The object of the study was the dried leaves of sea buckthorn harvested on the territory of the Voronezh region from wild representatives of three phenological phases (harvesting periods).

The conducted primary screening quantitative determination of the content of the sum of various biologically active substances in the leaves of sea buckthorn of various phenological phases of plant development showed that the accumulation of organic acids in the raw materials of more than 2% and tannins of more than 10% is observed by the beginning of June and remains without a tendency to increase

until mass ripening and fruit harvesting. The content of ascorbic acid in the leaves gradually increases during the observation period. The accumulation of regenerating biologically active substances begins already from the end of May-beginning of June (harvesting phase I), persisting throughout the ripening period of fruits, and reaches a maximum by the end of August-beginning of September (harvesting phase III).

According to the experimental data, phase III (the period of technical maturity of fruits) should be recommended for harvesting as medicinal plant raw materials on an industrial scale.

Keywords: sea buckthorn leaves, *Hippophaë rhamnoides* L., antioxidant activity, organic acids, tannins, ascorbic acid.

REFERENCES

1. Registr lekarstvennykh sredstv Rossii. Available at: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_7320.htm (accessed 26.03.2022).
2. Murzakhmetova M. K., Utegalieva R. S., Aralbaeva A. N., Lesova Zh. T., Actualscience, 2015, Vol. 1, No 5(5), pp. 26-28.
3. Nilova L. P., Malyutenkova S.M., Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies, 2021, Vol. 83, No 1(87), pp. 108-114, doi: 10.20914/2310-1202-2021-1-108-114.
4. Jaroszewska A., Biel W., Chilean journal of agricultural research, 2017, Vol. 77, pp.155-162, doi:10.4067/S0718-58392017000200155.
5. Ji M., Gong X., Li X., Wang C., Li M., Molecules, 2020, Vol. 25(4), pp. 917, doi: 10.3390/molecules25040917.
6. Pop R. M., Weesepeel Y., Socaciu C., Pintea A., Vincken J. P., Gruppen H., Food chemistry, 2014, Vol. 147, pp. 1-9, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.083.
7. Saggi S., Divekar H. M., Gupta V., Sawhney R. C., Banerjee P. K., Kumar R., Food Chem Toxicol, 2007, Vol. 45(4), pp. 609-617, doi: 10.1016/j.fct.2006.10.008.
8. Chirkina T.F., Zolotareva A.M., Plastinina Z.A., Equipment and technology of food production, 2009, No 1(12), pp. 71-74.
9. Mezenova O. Ya., Merzel' I.-T., Vorontsov S. A., Vorontsov P. A., Journal International Academy of Refrigeration, 2020, No 3, pp. 44-51, doi: 10.17586/1606 4313 2020 19 3-44-51.
10. Mel'nikov O. M., Vereshchagin A. L., Koshelev Yu. A., Khimija Rastitel'nogo Syr'ja, 2010, No 2, pp. 113-116.
11. Chernyak D. M., Titova M. S., Tihookeanskij medicinskij žurnal, 2015, No 2(60), pp. 92-93.
12. Abdykalikova K.A., Nechiporenko L.P., Vestnik Kostanaiskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo instituta, 2008, No 4, pp. 104-107.
13. Aituarova A.Sh., Zhusupova G.E., Izvestiya nauchno-tekhnicheskogo obshchestva «KAKhAK», 2015, No 4(51), pp. 4-10.
14. Aituarova A.Sh., Zhusupova G.E., Bulletin of the Kazakh National Medical University, 2016, No 3, pp. 195-197.
15. Suryakumar G, Gupta A., J Ethnopharmacol, 2011, No 138(2), pp. 268-278, doi: 10.1016/j.jep.2011.09.024.
16. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. 14 izd.: v 4 t. M.: Ministerstvo zdravooхранeniya Rossijskoj Federacii, 2018, Available at: <https://femb.ru/femb/> (accessed 19.02.2022).
17. Pharmacopoeia article 38. Shipovnika plody. State Pharmacopoeia of the USSR 14 editions, 1987, Vol. 2, pp. 450-452.
18. Maksimova T.V. Patent RF, №2170930, 2000.
19. Kovaleva N.A., Trineeva O.V., Nosova D.K., Kolotneva A.I., "Ways and forms of improving pharmaceutical education. Topical issues of development and research of new medicines", proceedings of the 8th International Scientific and Methodological Conference "Pharmaceutical Education-2022", March 31 - April 02, 2022, Voronezh, 2022. pp. 270-279.
20. Trineeva O.V. Kompleksnoe issledovanie soderzhaniya i spetsificheskogo profilya biologicheskii aktivnykh veshchestv plodov oblepikhi krushinovidnoi. Voronezh, VSU Publishing House, 2016, 224 p.