

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175>
УДК 615.322:615.072



Оригинальная статья / Research article

Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации плодов шиповника

Д. А. Жданов*, В. А. Куркин, В. Б. Браславский, А. И. Агапов

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России), 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

*Контактное лицо: Жданов Дмитрий Александрович. E-mail: d.a.zhdanov@samsmu.ru

ORCID: Д. А. Жданов – <https://orcid.org/0000-0002-8285-6296>; В. А. Куркин – <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>; В. Б. Браславский – <https://orcid.org/0000-0002-6050-3377>; А. И. Агапов – <https://orcid.org/0000-0003-3592-7749>.

Статья поступила: 24.05.2021

Статья принята в печать: 06.08.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

Резюме

Введение. В настоящее время все большую популярность приобретают лекарственные средства растительного происхождения. В этом отношении определенный интерес представляют лекарственные растительные препараты на основе плодов шиповника, оказывающие общеукрепляющее, желчегонное и ренозаживляющее действие, обусловленное наличием аскорбиновой кислоты, флавоноидов и каротиноидов. Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания, определение основных групп биологически активных веществ (БАВ) методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) проводят только лишь по наличию аскорбиновой кислоты, при этом чувствительность метода не позволяет обнаружить ее в плодах шиповников низковитаминных видов.

Цель. Разработка новых подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов с использованием современных методов фармакогностического анализа.

Материалы и методы. Образцы плодов шиповника как культивируемые на территориях Самарской области и Республики Марий Эл, заготовленные в 2020 г., так и промышленные образцы различных производителей. Методы ТСХ, УФ/Вид-спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) применяли с целью определения основных групп БАВ.

Результаты и обсуждение. С целью подтверждения подлинности плодов шиповника обосновано определение флавоноидов в качестве одной из определяемых групп БАВ наряду с аскорбиновой кислотой. Разработана методика идентификации аскорбиновой кислоты методом УФ/Вид-спектроскопии (максимум поглощения 264 ± 2 нм), а также показана возможность определения данного вещества методом ВЭЖХ.

Заключение. В результате фитохимического исследования обоснована целесообразность использования современных подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов, заключающихся в качественном определении аскорбиновой кислоты методами УФ/Вид-спектроскопии и ВЭЖХ, а также рутин методом ТСХ.

Ключевые слова: шиповника плоды, *Rosae fructus*, лекарственное растительное сырье, аскорбиновая кислота, флавоноиды, рутин

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Д. А. Жданов занимался сбором и анализом литературных данных. Д. А. Жданов и В. А. Куркин разработали концепцию и методологию исследования. Д. А. Жданов, В. Б. Браславский и А. И. Агапов обработали результаты экспериментальных данных. В. А. Куркин руководил работой. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и подготовке рукописи.

Для цитирования: Жданов Д. А., Куркин В. А., Браславский В. Б., Агапов А. И. Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации плодов шиповника. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):167–175. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175>

Actual Aspects of Quality Control and Standardization of Rosehip Fruits

Dmitry A. Zhdanov*, Vladimir A. Kurkin, Valery B. Braslavsky, Al'bert I. Agapov

Samara State Medical University, 89, Chapaevskaya str., Samara, 443099, Russia

*Corresponding author: Dmitry A. Zhdanov. E-mail: d.a.zhdanov@samsmu.ru

ORCID: Dmitry A. Zhdanov – <https://orcid.org/0000-0002-8285-6296>; Vladimir A. Kurkin – <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>; Valery B. Braslavsky – <https://orcid.org/0000-0002-6050-3377>; Al'bert I. Agapov – <https://orcid.org/0000-0003-3592-7749>.

Received: 24.05.2021

Revised: 06.08.2021

Published: 25.08.2021

Abstract

Introduction. Currently, herbal medicines are becoming increasingly popular. In this regard, of particular interest are medicinal herbal preparations based on rosehip fruits, which have a tonic, choleric and wound healing effect due to the presence of ascorbic acid, flavonoids and carotenoids. According to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (SP RF) of the XIV edition, the determination of the main groups of biologically active substances (BAS) by thin-layer chromatography (TLC) is carried out only by the presence of ascorbic acid, while the sensitivity of the method does not allow it to be detected in rosehip fruits of low-vitamin species.

Aim. Aim is the development of new approaches to control quality and standardization of Rosehip fruits with using of modern pharmacognostic analysis methods.

Materials and methods. Prepared in Samara Region, the Republic of Mari El Rosehip fruits samples in 2020 and commercial samples from various manufacturers. TLC, UV/Vis-spectroscopy and high-performance liquid chromatography (HPLC) methods were used for determination the main BAS groups.

© Жданов Д. А., Куркин В. А., Браславский В. Б., Агапов А. И., 2021

© Zhdanov D. A., Kurkin V. A., Braslavsky V. B., Agapov A. I., 2021

Results and discussion. The introduction of flavonoids as one of the defined groups of BAS in rosehip fruits along with ascorbic acid was justified. A technique for the identification of ascorbic acid by UV/Vis-spectroscopy (wavelength 264 ± 2 nm) was developed and shown the determination possibility of this substance by HPLC.

Conclusion. So phytochemical study results the expediency of the using of modern approaches to quality control and standardization of rosehip fruits, consisting in the qualitative determination of ascorbic acid by UV/Vis-spectroscopy and HPLC, as well as rutin by TLC, was justified.

Keywords: Rosehip Fruits, *Rosae fructus*, Medicinal Plant Raw Materials, Ascorbic Acid, Flavonoids, Rutin

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Dmitry A. Zhdanov collected and analyzed the literature data. Dmitry A. Zhdanov and Vladimir A. Kurkin developed the concept and methodology of the study. Dmitry A. Zhdanov, Valery B. Braslavsky and Al'bert I. Agapov processed the results of the experimental data. Vladimir A. Kurkin supervised the work. All authors participated in the discussion of the results and the preparation of the article.

For citation: Zhdanov D. A., Kurkin V. A., Braslavsky V. B., Agapov A. I. Actual aspects of quality control and standardization of rosehip fruits. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):167–175. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175>

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на колоссальные успехи фармацевтической химии и фармакологии, использование лекарственных средств растительного происхождения не только не потеряло своей актуальности, но и, напротив, приобретает все большую популярность с каждым годом [1–4]. В этом отношении определенный интерес представляют лекарственные препараты на основе плодов шиповника. В химическом отношении плоды шиповника изучены достаточно хорошо, их состав разнообразен. В них содержатся водорастворимые витамины, среди которых особую ценность представляет аскорбиновая кислота, жирорастворимые витамины (каротиноиды, К₁, Е), флавоноиды, жиры, органические и фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, углеводы, аминокислоты и др. [5–8].

Большой популярностью в медицинской практике пользуются лекарственные растительные препараты (ЛРП) в расфасованном виде и в виде фильтр-пакетов, а также сироп, холосас, каротолин, масло шиповника и др., оказывающие витаминное, желчегонное и ранозаживляющее действие, обусловленное наличием аскорбиновой кислоты, флавоноидов и каротиноидов [5–8]. Однако, согласно Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания, определение основных групп биологически активных веществ (БАВ) методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) проводят только лишь по наличию аскорбиновой кислоты, хотя раздел «Количественное определение» предусматривает анализ по трем составляющим: аскорбиновой кислоте, сумме флавоноидов и сумме каротиноидов [9].

В ведущих зарубежных изданиях фармакопеи (Европейская и Британская) подлинность плодов шиповника подтверждают методом ТСХ с использованием стандартного образца (СО) аскорбиновой кислоты и дополнительным указанием на зону адсорбции желтого цвета в верхней трети части пластины,

соответствующей каротиноидам [10, 11]. Количественный анализ предусмотрен только для аскорбиновой кислоты методом УФ/Вид-спектроскопии (анализ метанольного извлечения после реакции с растворами дихлорфенолиндофенола и сернокислого динитрофенилгидразина при 520 нм) [10, 11]. В Фармакопее США плоды шиповника не представлены [12].

Таким образом, фармакопейная статья – ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды» ГФ РФ XIV издания, на наш взгляд, не позволяет в полной мере объективно оценить качество данного сырья. В источниках описан факт того, что аскорбиновую кислоту не удастся обнаружить в шиповниках низковитаминных видов [13]. Более того, в расчетной формуле методики количественного определения каротиноидов указан необоснованный коэффициент, завышающий результаты в десять раз [14].

Цель исследования заключалась в разработке новых подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов с использованием современных методов фармакогностического анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использованы 7 образцов шиповника плодов (*Rosae fructus*) как культивируемых на территориях Самарской области и Республики Марий Эл, заготовленных в 2020 г., так и промышленных образцов различных производителей, приобретенных в аптечных организациях г. Самары в период с 2020 по 2021 гг.:

1. Промышленный воздушно-сухой образец (Средне-Волжский филиал ФГБНУ ВИЛАР, Самарская обл., сентябрь 2020 г.).
2. Воздушно-сухие, заготовленные в Республике Марий Эл в сентябре 2020 г.
3. Биологически активная добавка к пище (АО «Ст.-Медифарм», Ставропольский край, дата изготовления 20.11.20 г.).

4. ЛРП (ООО Фирма «Здоровье», Московская обл., серия 040319, годен до 04.2021).
5. ЛРП [ПКФ «Фитофарм» (ООО), Краснодарский край, серия 041020, годен до 10.2022].
6. ЛРП (АО «Иван-Чай», Московская обл., серия 020420, годен до 05.2022).
7. Свежие, заготовленные нами в Самарской обл. в сентябре 2020 г.

Хроматографическими методами определяли наличие основных групп БАВ:

1. Для ТСХ-анализа пластины марки Sorbfil (ООО «ИМИД», Россия) типа ПТСХ-АФ-А-УФ размером 10 × 15 см предварительно активировали выдерживанием в сушильном шкафу при температуре 105–110 °С в течение 60 минут. В качестве подвижной фазы использовали систему растворителей: *n*-бутанол – уксусная кислота ледяная – вода очищенная в соотношении 4:1:2.

Детектирование веществ на хроматограммах осуществляли:

- при дневном свете и в монохроматическом УФ-свете при длинах волн 254 и 365 нм;
 - раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята 0,044%-м (аскорбиновая кислота);
 - раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК) в насыщенном растворе натрия карбоната (флавоноиды и другие фенольные соединения).
2. Высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводили на микроколоночном хроматографе «Милихром-6» (НПАО «Научприбор», Россия) с УФ-спектрофотометрическим детектором в следующих условиях: обращенная-фаза, изократический режим, колонка КАХ-6-80-4 (Сепарон С-18), подвижные фазы – различные соотношения ацетонитрила, воды, калия дигидрофосфата, скорость элюирования – 100 мкл/мин, объем элюента – 1000–2500 мкл, объем пробы 1–5 мкл. Аналитические длины волн – 242, 266, 290, 360 нм. Обработку результатов анализа проводили с помощью аппаратно-программного комплекса UniChrom (версия 5.0.19.1162, ООО «Новые аналитические системы», Беларусь).

Пробоподготовку водных извлечений из плодов шиповника для определения аскорбиновой кислоты методами ТСХ и ВЭЖХ проводили по фармакопейной методике с настаиванием в течение 2 часов [9]. Для подтверждения наличия веществ флавоноидной природы в плодах шиповника методом ТСХ подготовлены водно-спиртовые извлечения с нанесением СО рутина (3-О-рутинозид кверцетина) в соответствии с описанной методикой [13].

Метод прямой УФ/Вид-спектроскопии использован при исследовании образцов водных извлечений с целью идентификации аскорбиновой кислоты. Анализ выполнен на спектрофотометре «СФ-2000» (ООО «ОКБ Спектр», Россия) в кварцевых кюветах с толщиной светопоглощающего слоя 10 мм в диапазоне длин волн от 190 до 600 нм. Обработку результатов спектрофотометрического определения проводили с

помощью программного пакета производителя «Сканирование для СФ-2000» (версия 4.06).

Для количественного определения кислоты аскорбиновой в водных извлечениях плодов шиповника применяли методы титриметрического анализа, основанные на восстановительных свойствах кислоты аскорбиновой: индофенольный (титрант – раствор натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята 0,001 М) и йодатометрический (титрант – раствор калия йодата 0,001 М). Изготовление реактивов, титрованных растворов с последующей стандартизацией и количественное определение осуществляли по фармакопейным методикам ГФ РФ XIV издания [9].

СО рутина, соответствующий ФС 42-2508-87, получен нами из фармацевтической субстанции рутина (Merck, Германия) методом колоночной хроматографии с последующей перекристаллизацией из водного спирта. Степень чистоты СО рутина составила 98,1 %. В качестве рабочего стандартного образца (РСО) аскорбиновой кислоты нами использован лекарственный препарат «Аскорбиновая кислота» в виде порошка фасовкой 2,5 г (ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», Россия, серия 10320, годен до 03.2023).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученную хроматограмму просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм (II), где на светлом флуоресцирующем фоне четко обнаруживаются зоны адсорбции доминирующих веществ фиолетового цвета с $R_f \approx 0,5$, соответствующие аскорбиновой кислоте. Затем хроматограмму проявили раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята 0,044%-м. В результате аскорбиновая кислота обнаруживается в виде пятен белого цвета на розовом фоне (рисунок 1).

Однако несмотря на то, что образцы 5 и 6 являются ЛРП, наличие аскорбиновой кислоты в них не подтверждено. Следовательно, данные ЛРП не отвечают требованиям ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды» ГФ РФ XIV издания по наличию основной группы БАВ. Аналогичные результаты получены и в ходе ранее проведенных исследований [13].

Дело в том, что все виды шиповника, для удобства классификации, разделены на две секции: коричные (*Cinnatomeae* DC.) и собачьи (*Caninae* Среп.) [5–7, 13, 15–17].

Секция коричных шиповников наиболее богата витамином С (от 2 до 5,5 %) [5–7]. Для видов этой секции характерны цельнокрайние и направленные вверх чашелистики. Если чашечку удалить, то в зеве бокала остается характерное круглое отверстие. Форма плода эллиптической или яйцевидной формы, красно-оранжевого цвета. Секция собачьих видов шиповника содержит значительно меньше аскорбиновой кислоты [5–7]. Узнать виды этой секции достаточно легко: для них характерна чашечка с перисто-надрезанными чашелистиками вверху. После цветения отгибаются вниз и опадают задолго до созревания, оставляя после себя пятиугольную площад-

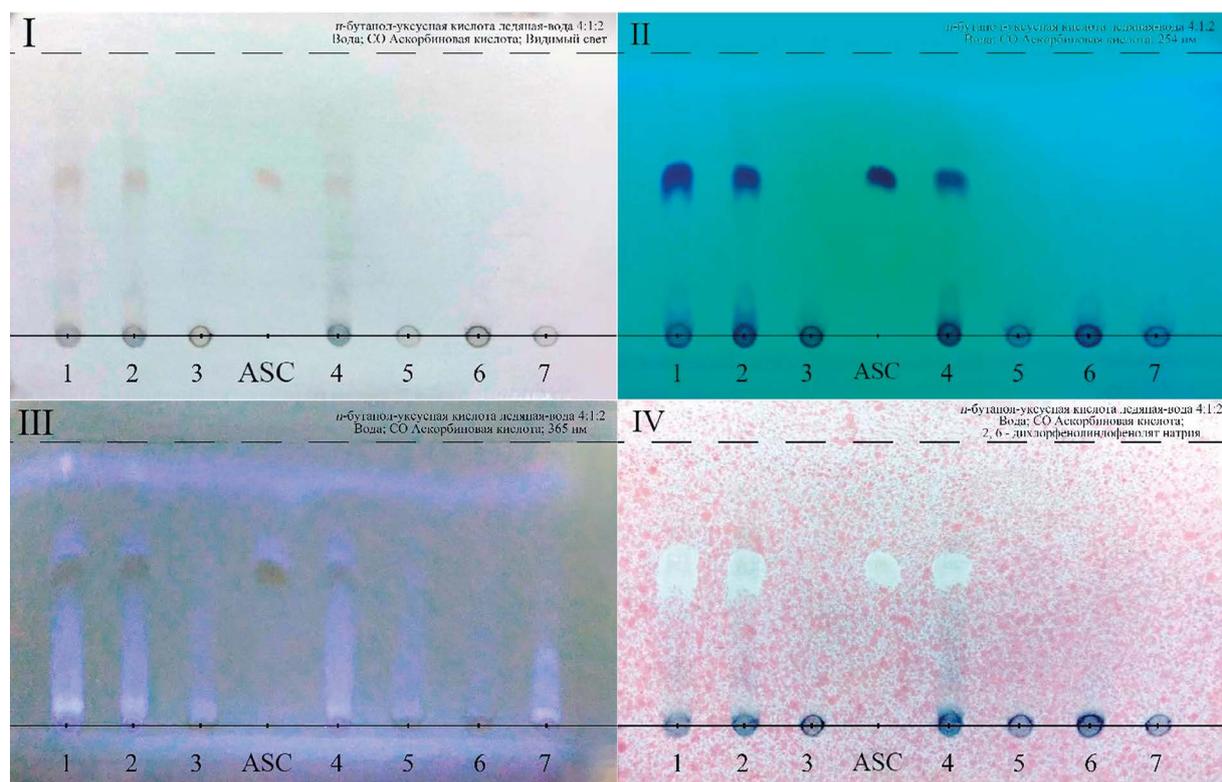


Рисунок 1. Хроматограмма водных извлечений из плодов шиповника:

I – детекция при дневном свете; II – детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; III – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; IV – детекция после обработки 0,044%-м раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята.

Обозначения: 1-7 – водные извлечения из образцов плодов шиповника; ASC – аскорбиновая кислота

Figure 1. Chromatogram of rosehip fruits water extract:

I – detection in daylight; II – detection in UV light at 254 nm; III – detection in UV light at 365 nm; IV – detection after 0,044 % 2,6-Dichlorophenolindophenol sodium salt solution spraying.

Designations: 1-7 – water extracts from rosehip fruits samples; ASC – ascorbic acid

ку. Форма плода более округлая, иногда шаровидная, цвет от темно-красного до коричневого.

Рассмотрев исследуемые образцы плодов шиповника невооруженным глазом видно, что по всем характерным признакам образцы, в которых обнаружена аскорбиновая кислота: 1, 2 и 4, являются высоковитаминными видами, а образцы 3, 5, 6 и 7 – низковитаминными. Результаты количественного анализа индофенольным и йодатометрическим методами свидетельствуют о доброкачественности анализируемых образцов (таблица 1).

Можно сделать вывод, что методика определения аскорбиновой кислоты методом ТСХ, представленная в ГФ РФ, не подходит для определения аскорбиновой кислоты в плодах низковитаминных видов шиповника.

Что касается флавоноидов, то представителями этой группы в плодах шиповника, обуславливающих желчегонное действие, являются: астрагалин, изофлавоноиды, тилирозид и рутин [5–8]. Для подтверждения наличия веществ флавоноидной структуры в аналогичных условиях проведено разделение извлечений, подготовленных по методике [13], однако вместо аскорбиновой кислоты использован СО рутина

(3-О-рутинозид кверцетина). Идентификацию веществ на хроматограмме проводили при дневном свете, УФ-свете при длинах волн 254 и 365 нм, а также обработкой щелочным раствором ДСК (рисунок 2).

Таблица 1. Содержание аскорбиновой кислоты в плодах шиповника, определенное методом титриметрии

Table 1. Ascorbic acid content in rosehip fruits, determined by titrimetry

Образец Sample	Содержание аскорбиновой кислоты, % Ascorbic acid content, %	
	Индофенольный метод Indophenol Method	Йодатометрия Iodometry
1	2,69 (±0,03)	2,69 (±0,01)
2	2,11 (±0,02)	2,11 (±0,02)
3	0,24 (±0,04)	0,26 (±0,03)
4	1,96 (±0,03)	1,96 (±0,04)
5	0,42 (±0,04)	0,43 (±0,02)
6	0,38 (±0,03)	0,39 (±0,03)
7	0,16 (±0,02)	0,16 (±0,01)

В результате анализа полученной хроматограммы отмечено, что наиболее информативными вариантами обнаружения флавоноидов является просмотр в видимом свете (I) и обработка щелочным раство-

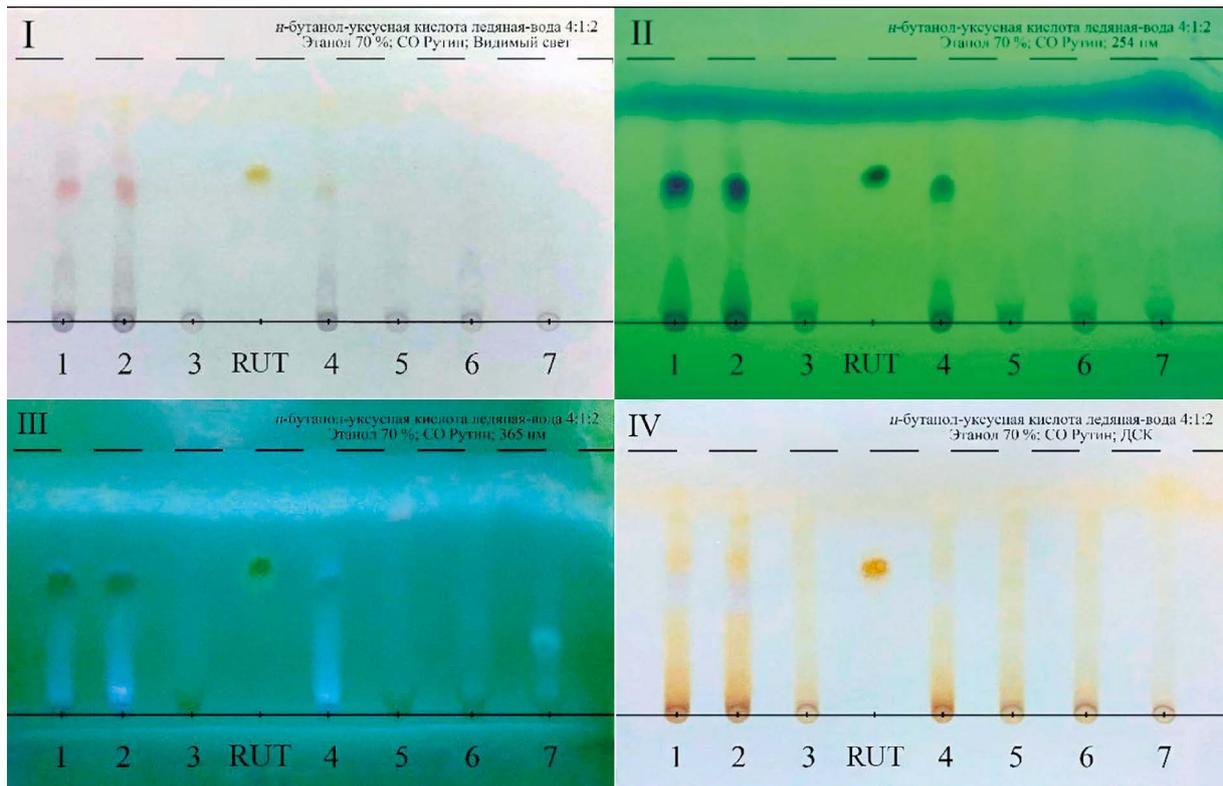


Рисунок 2. Хроматограмма водно-спиртовых извлечений из плодов шиповника:

I – детекция при дневном свете; II – детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; III – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; IV – детекция после обработки раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе натрия карбоната.

Обозначения: 1-7 – водно-спиртовые извлечения из образцов плодов шиповника; RUT – рутин

Figure 2. Chromatogram of rosehip fruits water-ethanolic extracts:

I – detection in daylight; II – detection in UV light at 254 nm; III – detection in UV light at 365 nm; IV – detection after diazobenzenesulfonic acid alkaline solution spraying.

Designations: 1-7 – water-ethanolic extracts from rosehip fruits samples; RUT – rutin

ром ДСК (IV). Зоны адсорбции флавоноидов находятся на одном уровне с зоной СО рутина, имеющей значение $R_f \approx 0,6$, и по-прежнему отчетливо видны пятна аскорбиновой кислоты на светлом флуоресцирующем фоне при 254 нм, находящиеся несколько ниже флавоноидов.

С целью оценки возможности совместного определения двух групп БАВ, а также пригодности метода ТСХ для определения аскорбиновой кислоты в образцах низковитаминных видов (*Caninae* Срег.) плодов шиповника (3, 5, 6 и 7) нами принято решение уменьшить объем экстрагента, тем самым получив извлечения в соотношениях 1:5. Водные и водно-спиртовые извлечения подготовлены по методикам, указанным выше, с нанесением РСО аскорбиновой кислоты и СО рутина.

Результаты хроматографического разделения (рисунок 3) водно-спиртовых извлечений показали возможность совместной идентификации аскорбиновой кислоты и флавоноидов. Однако аскорбиновую кислоту в плодах низковитаминных видов по-прежнему обнаружить не удалось. При этом, на наш взгляд, в случае отсутствия СО рутина целесообразно использовать значение R_{st} около 1,24.

Разработка методики определения аскорбиновой кислоты в низковитаминных видах плодов шиповника методом УФ/Вид-спектроскопии

В связи с тем, что чувствительность метода ТСХ не позволяет обнаружить аскорбиновую кислоту в плодах низковитаминных (*Caninae* Срег.) шиповников очевидна необходимость использования инструментальных методов анализа. К наиболее распространенным, доступным и экспрессным методам относится УФ/Вид-спектроскопия.

Одним из факторов, определяющих устойчивость аскорбиновой кислоты в извлечениях, является pH. Однозарядный анион разрушается в водных растворах гораздо медленнее двухзарядного, поэтому растворы аскорбиновой кислоты более устойчивы при pH в пределах 5,0–8,0 [18, 19].

Поглощение УФ-света обусловлено системой сопряжения ендиольной, лактонной и карбонильной групп. Известно, что величина максимума поглощения в УФ-области зависит от pH раствора. В кис-

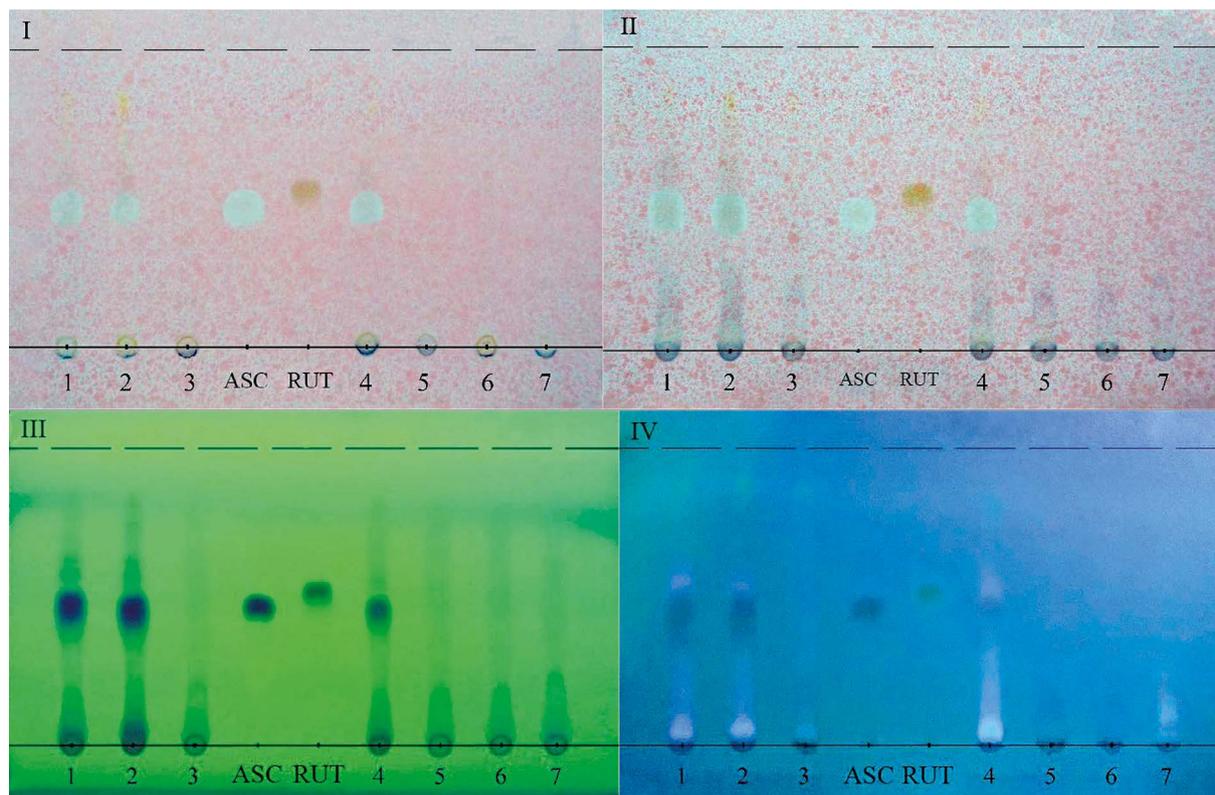


Рисунок 3. Хроматограмма извлечений из плодов шиповника:

I – водные извлечения, детекция после обработки 0,044%-м раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята; II – водно-спиртовые извлечения, детекция после обработки 0,044%-м раствором натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята; III – водно-спиртовые извлечения, детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм; IV – водно-спиртовые извлечения, детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Обозначения: 1-7 – образцы плодов шиповника; ASC – аскорбиновая кислота, RUT – рутин

Figure 3. Chromatogram of rosehip fruits extracts:

I – water extracts, detection after 0,044 % 2,6-Dichlorophenolindophenol sodium salt solution spraying; II – water-ethanolic extracts, detection after 0,044 % 2,6-Dichlorophenolindophenol sodium salt solution spraying; III – water-ethanolic extracts, detection in UV light at 254 nm; IV – water-ethanolic extracts, detection in UV light at 365 nm.

Designations: 1-7 – rosehip fruits samples; ASC – ascorbic acid, RUT – rutin

лой среде преобладает неионизированная форма с $\lambda = 242$ нм, а в нейтральной существует анионная форма с $\lambda = 264$ нм [18–22] (рисунок 4).

С помощью рН-метра рН-150МИ с электродом стеклянным комбинированным ЭСК-10603/7 (ООО «Измерительная техника», Россия) мы измерили значение реакции среды (рН) водного извлечения, которое составило $6,18 \pm 0,02$.

Определению аскорбиновой кислоты в извлечениях мешает оптическая активность фенольных соединений и сопутствующих веществ, присутствующих в них. В связи с этим мы предлагаем достаточно простой способ идентификации аскорбиновой кислоты в плодах низковитаминных видов шиповника. Сущность способа заключается в твердофазной экстракции (ТФЭ) водного извлечения на полиамиде.

Для этих целей мы использовали предварительно подготовленный полиамид марки «Thin-Layer Chromatography» (Woelm Pharma GmbH & Co., Германия). Подготовка заключается в очистке адсорбента

от низкомолекулярных соединений путем последовательной трехкратной обработки кипящим этанолом 96 % и водой очищенной. Контроль чистоты полиамида проводили фотометрируя промывную жидкость, при этом не должен наблюдаться максимум поглощения при $\lambda = 237$ нм.

Оценку подлинности ЛРС проводили следующим образом: около 1,0 г измельченных плодов шиповника, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, помещают в коническую колбу на 100 мл, прибавляют 30 мл воды очищенной и настаивают в течение 15 минут. Извлечение фильтруют во флакон темного стекла через бумажный складчатый фильтр (раствор А).

Твердофазную экстракцию раствора А проводят на полиамиде в стеклянном фильтре, отбрасывая первые порции.

1,0 мл полученного анализа переносят в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки водой очищенной и перемешивают.

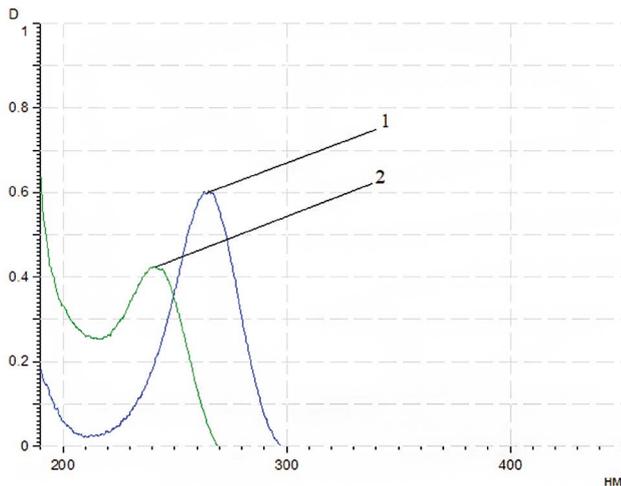


Рисунок 4. УФ-спектры поглощения водного раствора аскорбиновой кислоты:

1 – водный раствор с нейтральной средой; 2 – водный раствор, подкисленный ортофосфорной кислотой

Figure 4. UV spectra of ascorbic acid aqueous solutions:

1 – an aqueous solution with a neutral medium; 2 – an aqueous solution acidified with orthophosphoric acid

Оптическую плотность полученного раствора измеряют в диапазоне длин волн 190–500 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Примечание: Подготовка полиамида. В стеклянную воронку диаметром 2 см и впаивным фильтром Шотта 3-го класса пористости помещают достаточное количество полиамида для формирования слоя толщиной $\approx 1,5$ см (около 1 г). Затем последовательно промывают кипящим этиловым спиртом 96 % и водой очищенной. Процедуру повторяют 3 раза.

При изучении электронных спектров водных извлечений из всех исследуемых образцов плодов шиповника обнаруживается характерный для аскорбиновой кислоты максимум поглощения при длине волны 264 ± 2 нм (рисунок 5).

Определение аскорбиновой кислоты в низковитаминных видах плодов шиповника методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Из физико-химических методов анализа перспективной является ВЭЖХ, что связано с ее универсальностью, достаточно большой скоростью и эффективностью разделения.

В качестве подвижной фазы для проведения анализа была выбрана система ацетонитрил – вода в соотношении 1:9. Сравнение значений времени удерживания пиков на ВЭЖХ-хроматограмме извлечения плодов шиповника (2,133 мин) и времени удерживания пика РСО (2,016 мин) (рисунок 6) позволило идентифицировать аскорбиновую кислоту.

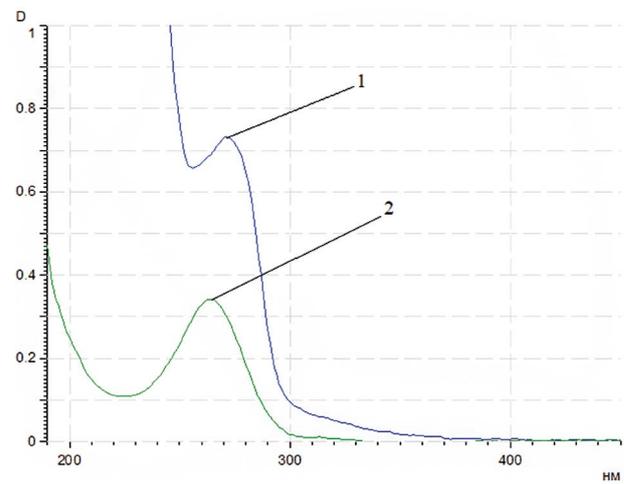


Рисунок 5. УФ-спектры поглощения водных извлечений плодов шиповника:

1 – раствор до твердофазной экстракции на полиамиде; 2 – раствор после твердофазной экстракции на полиамиде

Figure 5. UV spectra of rosehip fruits aqueous extracts:

1 – solution before solid-phase extraction on polyamide; 2 – solution after solid-phase extraction on polyamide

Результаты исследования, полученные с использованием метода ВЭЖХ, позволяют рекомендовать данный метод для подтверждения подлинности как высоковитаминных, так и низковитаминных видов плодов шиповника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате фитохимического исследования обоснована целесообразность использования современных подходов к контролю качества и стандартизации шиповника плодов, заключающихся в качественном определении аскорбиновой кислоты методами УФ/Вид-спектроскопии и ВЭЖХ, а также рутинным методом ТСХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хотим Е. Н., Жигальцов А. М., Аппаду К. Некоторые аспекты современной фитотерапии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2016;3(55):136–140.
2. Морозов С. В., Ткачева Н. И., Ткачев А. В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений. *Химия растительного сырья*. 2018;4:5–28. DOI: 10.14258/jscrpm.2018044003.
3. David B., Wolfender J.-L., Dias D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*. 2015;14(2):299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
4. Рыбалко М. В., Шмыгарева А. А., Саньков А. Н. Совершенствование методики количественного определения антраценпроизводных в корневищах и корнях марены красильной. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2019;5–6:143–147. DOI: 10.17816/2072-2354.2019.19.3.143-147.
5. Ермакова В. А., Зорин Е. Б., Ивашенко Н. В., Косенко Н. В., Самылина И. А., Сапронова Н. Н., Северцев В. А., Северцева О. В., Сорокина А. А. Лекарственные растения Государственной фармакопеи. Фармакогнозия. М.: ООО «АНМИ»; 2003. 534 с.

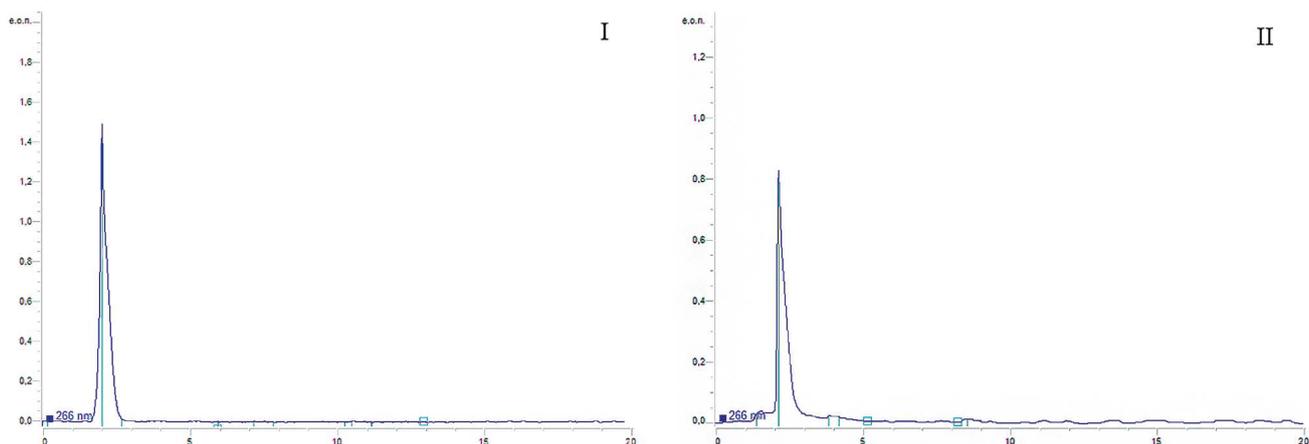


Рисунок 6. Хроматограмма рабочего стандартного образца аскорбиновой кислоты (I) и извлечения из плодов шиповника (II)

Figure 6. Chromatogram of ascorbic acid reference solution (I) and extract from rosehip fruits (II)

- Белодубровская Г. А., Блинова К. Ф., Вандышев В. В., Жохова Е. В., Клемпер А. В., Комарова М. Н., Маргна У. В., Пряхина Н. И., Селенина Л. В., Степаненко О. Г., Сыровежко Н. В., Теслов Л. С., Фомина Л. И., Харитоновна Н. П., Шатохина Р. К., Шевцова Е. Г., Яковлев Г. П. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия. СПб.: СпецЛит; 2004. 765 с.
- Муравьева Д. А., Самылина И. А., Яковлев Г. П. Фармакогнозия. М.: Медицина; 2002. 656 с.
- Новрузов А. Р. Содержание и динамика накопления аскорбиновой кислоты в плодах *Rosa canina* L. *Химия растительного сырья*. 2014;3:221–226. DOI: 10.14258/jcprm.1403221.
- Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Федеральная электронная медицинская библиотека. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 04.04.2021.
- The European Pharmacopoeia 10th Edition. European Directorate for the Quality of Medicines. Available at: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>. Accessed: 02.04.2021.
- The British Pharmacopoeia 2021. British Pharmacopoeia. Available at: <https://www.pharmacopoeia.com/BP2021>. Accessed: 02.04.2021.
- The United States Pharmacopoeia Online Edition. United States Pharmacopoeia. Available at: <https://login.usp.org/cas/login?service=https%3A%2F2Fonline.uspnf.com%2Fcas%2Flogin>. Accessed: 26.03.2021.
- Вершинина В. В., Куркин В. А. Определение подлинности плодов и сиропа шиповника с использованием тонкослойной хроматографии. *Медицинский альманах*. 2011;2(15):144–146.
- Куркин В. А., Шарова О. В., Афанасьева П. В. Совершенствование методики количественного определения суммы каротиноидов в сырье «Шиповника плоды». *Химия растительного сырья*. 2020;3:131–138. DOI: 10.14258/jcprm.2020036093.
- Юзепчук С. В. Роза (Шиповник) – *Rosa* L. В кн.: Флора СССР. Том 10. М.-Л.: Издательство Академии Наук СССР; 1941. С. 431–506.
- Хржановский В. Г. Розы. Филогения и систематика. Опыт и перспективы использования. М.: Советская наука; 1958. 497 с.
- Блинова К. Ф., Борисова Н. А., Гортинский Г. Б., Грушвицкий И. В., Забинкова Н. Н., Комарова М. Н., Мусаева Л. Д., Николаева Л. А., Регир В. Г., Селенина Л. В., Сыровежко Н. В., Теслов Л. С., Харитоновна Н. П., Шатохина Р. К., Яковлев Г. П. Ботанико-фармакогностический словарь. М.: Высшая школа; 1990. 272 с.
- Bandelin F. J., Tuschhoff J. V. The stability of ascorbic acid in various liquid media. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific edition)*. 1955;44(4):241–244. DOI: 10.1002/jps.3030440419.
- Голубицкий Г. Б., Будко Е. В., Басова Е. М., Костарной А. В., Иванов В. М. Устойчивость аскорбиновой кислоты в водных и водно-органических растворах для количественного определения. *Журнал аналитической химии*. 2007;62(8):823–828.
- Маркряян Ш. А., Саркисян А. Р. Электронные спектры поглощения аскорбиновой кислоты в водных и водно-диалкилсульфоксидных растворах. *Журнал прикладной спектроскопии*. 2011;78(1):11–15. DOI: 10.1007/s10812-011-9418-9.
- Ogata Y., Kosugi Y. Ultraviolet spectra of l-ascorbic acid and cupric ascorbate complex. *Tetrahedron*. 1970;26(20):4711–4716. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)93122-9.
- Shukla M. K., Mishra P. C. Electronic structures and spectra of two antioxidants: uric acid and ascorbic acid. *Journal of Molecular Structure*. 1996;377(3):247–259. DOI: 10.1016/0022-2860(95)09129-7.

REFERENCES

- Khotsim E. N., Zhigaltsov A. M., Appadoo K. Some aspects of modern phytotherapy. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*. 2016;3(55):136–140. (In Russ.)
- Morozov S. V., Tkacheva N. I., Tkachev A. V. Problems of comprehensive chemical profiling of medicinal plants. *KhiKhimija rastitel'nogo syr'ja = Chemistry of plant raw material*. 2018;4:5–28. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2018044003.
- David B., Wolfender J.-L., Dias D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews*. 2015;14(2):299–315. DOI: 10.1007/s11101-014-9367-z.
- Rybalko M. V., Shmygareva A. A., Sankov A. N. Development of the method of quantitative determination of anthracen derivatives in rhizomes and roots of *Rubia tinctorum*. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2019;5–6:143–147. (In Russ.) DOI: 10.17816/2072-2354.2019.19.3.143-147.
- Ermakova V. A., Zorin E. B., Ivashenko N. V., Kosenko N. V., Samylyna I. A., Saponova N. N., Severtsev V. A., Severtseva O. V., Sorokina A. A. *Lekarstvennye rasteniya Gosudarstvennoy farmakopei. Farmakognoziya* [Medicinal plants of the State Pharmacopoeia. Pharmacognosy]. Moscow: LLC "Anmi"; 2003. 534 p. (In Russ.)
- Belodubrovskaya G. A., Blinova K. F., Vandyshev V. V., Zhokhova E. V., Klemper A. V., Komarova M. N., Margna U. V., Pryakhina N. I., Selenina L. V., Stepanenko O. G., Syrovezhko N. V., Teslov L. S., Fomina L. I., Kharitonova N. P., Shatokhina R. K., Shekhovtsova E. G., Yakovlev G. P. *Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. Farmakognoziya* [Medicinal plant raw materials. Pharmacognosy]. St. Petersburg: SpetsLit; 2004. 765 p. (In Russ.)
- Murav'eva D. A., Samylyna I. A., Yakovlev G. P. *Farmakognoziya* [Pharmacognosy]. Moscow: Meditsina; 2002. 656 p. (In Russ.)

8. Novruzov A. R. *Soderzhanie i dinamika nakopleniya askorbinovoy kisloty v plodakh Rosa canina L.* [Contents and dynamics of accumulation of the ascorbic acid in fruits of *Rosa canina L.*]. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya = Chemistry of plant raw material*. 2014;3:221–226. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.1403221.
9. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdanie Federal'naya elektronnyaya meditsinskaya biblioteka* [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV Edition. Federal Electronic Medical Library]. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 04.04.2021. (In Russ.)
10. The European Pharmacopoeia 10th Edition. European Directorate for the Quality of Medicines. Available at: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>. Accessed: 02.04.2021.
11. The British Pharmacopoeia 2021. British Pharmacopoeia. Available at: <https://www.pharmacopoeia.com/BP2021>. Accessed: 02.04.2021.
12. The United States Pharmacopoeia Online Edition. United States Pharmacopoeia. Available at: <https://login.usp.org/cas/login?service=https%3A%2F%2Fonline.uspnf.com%2Fcas%2Flogin>. Accessed: 26.03.2021.
13. Vershinina V. V., Kurkin V. A. *Opreделение podlinnosti plodov i siropa shipovnika s ispol'zovaniem tonkosloynoy khromatografii* [Identification of rosehip fruits and syrup with the use of TLC]. *Meditsinskiy al'manakh*. 2011;2(15):144–146. (In Russ.)
14. Kurkin V. A., Sharova O. V., Afanaseva P. V. Improving the method of quantitative determination of the amount of carotenoids in the raw material «Rosehip fruit». *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya = Chemistry of plant raw material*. 2020;3:131–138. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2020036093.
15. Yuzepchuk S. V. *Roza (Shipovnik) – Rosa L. V kn.: Flora SSSR* [Rose (Rosehip) – *Rosa L.* In: *Flora of the USSR*]. Volume 10. Moscow–Leningrad: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR; 1941. P. 431–506. (In Russ.)
16. Khrzhanovskiy V. G. *Rozy. Filogeniya i sistematika. Opyt i perspektivy ispol'zovaniya* [Roses. Phylogeny and taxonomy. Experience and prospects of use]. Moscow: Sovetskaya nauka; 1958. 497 p. (In Russ.)
17. Blinova K. F., Borisova N. A., Gortinskiy G. B., Grushvitskiy I. V., Zambinkova N. N., Komarova M. N., Musaeva L. D., Nikolaeva L. A., Regir V. G., Selenina L. V., Syrovezhko N. V., Teslov L. S., Kharitonova N. P., Shatokhina R. K., Yakovlev G. P. *Botaniko-farmakognosticheskiy slovar'* [Botanical and Pharmacognostic Dictionary]. Moscow: Vysshaya shkola; 1990. 272 p.
18. Bandelin F. J., Tuschhoff J. V. The stability of ascorbic acid in various liquid media. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific edition)*. 1955;44(4):241–244. DOI: 10.1002/jps.3030440419.
19. Golubitskii G. B., Budko E. V., Basova E. M., Kostarnoi A. V., Ivanov V. M. Stability of Ascorbic Acid in Aqueous and Aqueous-Organic Solutions for Quantitative Determination. *Zhurnal analiticheskoy khimii = Journal of Analytical Chemistry*. 2007;62(8):823–828 (In Russ.)
20. Markarian S. A., Sargsyan H. R. Electronic absorption spectra of ascorbic acid in water and water-dialkylsulfoxide mixtures. *Zhurnal prikladnoy spektroskopii*. 2011;78(1):11–15. (In Russ.) DOI: 10.1007/s10812-011-9418-9.
21. Ogata Y., Kosugi Y. Ultraviolet spectra of l-ascorbic acid and cupric ascorbate complex. *Tetrahedron*. 1970;26(20):4711–4716. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)93122-9.
22. Shukla M. K., Mishra P. C. Electronic structures and spectra of two antioxidants: uric acid and ascorbic acid. *Journal of Molecular Structure*. 1996;377(3):247–259. DOI: 10.1016/0022-2860(95)09129-7.