



Оригинальная статья / Research article

Изучение химического состава плодов облепихи крушиновидной, произрастающей на территории Центрального Черноземья

О. В. Тринева✉

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (ВГУ), 394006, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

✉ Контактное лицо: Тринева Ольга Валерьевна. E-mail: trineevaov@mail.ru

ORCID: О. В. Тринева – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

Статья поступила: 10.01.2022

Статья принята в печать: 18.01.2023

Статья опубликована: 24.02.2023

Резюме

Введение. Химический состав растений является совокупностью всех первичных и вторичных метаболитов и может рассматриваться как результат реализации генетической информации, «связующее звено» между генотипом и фенотипом. Комплекс биологически активных веществ (БАВ) большинства лекарственных растений и получаемых на их основе лекарственных растительных препаратов представляет собой многокомпонентную систему, находящуюся во взаимодействии, состав которой не всегда известен полностью. Облепиха крушиновидная – одно из ценных растений, имеющее широкий ареал распространения. Плоды облепихи содержат большое количество классов различных БАВ. Исследования изменчивости химического состава в зависимости от климатических условий произрастания, заготовки и сушки с целью накопления и обобщения информации для выработки унифицированных научно обоснованных норм показателей качества сырья является актуальным направлением для изучения.

Цель. Целью настоящей работы являлось изучение химического состава плодов облепихи крушиновидной, произрастающей на территории Центрального Черноземья.

Материалы и методы. Сырьем для проведения анализа служили цельные свежие плоды облепихи крушиновидной, заготовленные на территории Центрального Черноземья РФ (Воронежская область). В работе методом ТСХ проведено исследование состава различных групп БАВ и их идентификация в извлечениях из изучаемого сырья. В процессе комплексного изучения химического состава плодов проведено определение каротиноидов, флавоноидов, дубильных веществ, аминокислот, гидроксикоричных кислот, антоцианов, органических кислот, сахаров, некоторых макроэлементов и витаминов.

Результаты и обсуждение. Плоды облепихи крушиновидной, произрастающей в условиях Центрального Черноземья, накапливают в значительных количествах свободные аминокислоты, дубильные вещества, органические кислоты и полисахариды. Методом капиллярного электрофореза в плодах облепихи крушиновидной исследован состав свободных водорастворимых простых сахаров, органических кислот, витаминов группы В, а также полный аминокислотный состав. Установлено значительное содержание рибофлавина и холина, а также яблочной и янтарной кислот. Результаты ВЭЖХ-анализа показали, что флавоноиды в плодах облепихи крушиновидной, произрастающей в условиях Центрального Черноземья представлены флавонолгликозидами – производными кверцетина, кемпферола и изорамнетина. В качестве хеомаркеров могут быть использованы минорные флавонолгликозиды 3-рутинозид-7-рамнозиды изорамнетина, кверцетина и кемпферола, 3-софорозид-7-рамнозиды кверцетина и кемпферола, рутин, 3-глюкозид и 3-рамнозид изорамнетина.

Заключение. Полученные данные о компонентном составе фенольной фракции плодов исследуемых образцов облепихи крушиновидной схожи с литературными данными об облепихе того же вида различных сортов, заготовленных в условиях Средней полосы РФ (Московская область).

Ключевые слова: облепиха крушиновидная, тонкослойная хроматография, химический состав, капиллярный электрофорез, ВЭЖХ-ДМД-МС

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

Вклад авторов. Автор осуществлял заготовку и сушку образцов сырья, пробоподготовку к проведению анализа, им проведены исследования состава БАВ анализируемых плодов с применением различных современных методов анализа, написал текст статьи, заключение и обсуждение результатов.

Для цитирования: Тринева О. В. Изучение химического состава плодов облепихи крушиновидной, произрастающей на территории Центрального Черноземья. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(1):84–94. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-84-94>

Study of the Chemical Composition of the Fruits of Sea Buckthorn Rockthroom, Growing in the Territory of the Central Black Earth Region

Olga V. Trineeva✉

Voronezh State University, 1, Universitetskaya sq., Voronezh, 394006, Russia

✉ Corresponding author: Olga V. Trineeva. E-mail: trineevaov@mail.ru

ORCID: Olga V. Trineeva – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

Received: 10.01.2022

Revised: 18.01.2023

Published: 24.02.2023

© Тринева О. В., 2023

© Trineeva O. V., 2023

Abstract

Introduction. The chemical composition of plants is a combination of all primary and secondary metabolites and can be considered as the result of the implementation of genetic information, a «link» between the genotype and phenotype. The complex of biologically active substances (BAS) of most medicinal plants and medicinal herbal preparations derived from them is a multicomponent system that is in interaction, the composition of which is not always fully known. Sea buckthorn is one of the valuable plants with a wide distribution area. Sea buckthorn fruits contain a large number of classes of various BAS. The study of the variability of the chemical composition depending on the climatic conditions of growth, harvesting and drying in order to accumulate and generalize information for the development of unified scientifically based standards for raw material quality indicators is an important area for study.

Aim. The purpose of this work was to study the chemical composition of the fruits of sea buckthorn, which grows in the Central Chernozem region.

Materials and methods. The raw materials for the analysis were whole fresh fruits of sea buckthorn, harvested in the territory of the Central black earth region of the Russian Federation (Voronezh region). In the work, the TLC method was used to study the composition of various groups of BAS and their identification in extracts from the studied raw materials. In the process of a comprehensive study of the chemical composition of fruits, the determination of carotenoids, flavonoids, tannins, amino acids, hydroxycinnamic acids, anthocyanins, organic acids, sugars, some macroelements and vitamins was carried out.

Results and discussion. The fruits of sea buckthorn, growing in the conditions of the Central black earth region, accumulate free amino acids, tannins, organic acids and polysaccharides in significant quantities. The composition of free water-soluble simple sugars, organic acids, B vitamins, as well as the complete amino acid composition was studied in the fruits of sea buckthorn using capillary electrophoresis. A significant content of riboflavin and choline, as well as malic and succinic acids has been established. The results of HPLC analysis showed that flavonoids in the fruits of sea buckthorn growing in the conditions of the Central black earth region are represented by flavonol glycosides – derivatives of quercetin, kaempferol and isorhamnetin. Minor flavoglycosides 3-rutinoside-7-rhamnosides of isorhamnetin, quercetin and kaempferol, 3-sophoroside-7-rhamnosides of quercetin and kaempferol, rutin, 3-glucoside and 3-rhamnoside of isorhamnetin can be used as chemomarkers.

Conclusion. The obtained data on the component composition of the phenolic fraction of the fruits of the studied samples of sea buckthorn are similar to the literature data on sea buckthorn of the same species of various varieties harvested in the conditions of the Central zone of the Russian Federation (Moscow region).

Keywords: sea buckthorn, thin layer chromatography, chemical composition, capillary electrophoresis, HPLC-DMD-MS

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. The author carried out the preparation and drying of samples of raw materials, sample preparation for analysis, he conducted studies of the composition of BAS of the analyzed fruits using various modern methods of analysis, wrote the text of the article, the conclusion and discussion of the results.

For citation: Trineeva O. V. Study of the chemical composition of the fruits of sea buckthorn rockthroom, growing in the territory of the Central Black earth region. *Drug development & registration*. 2023;12(1):84–94. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-84-94>

ВВЕДЕНИЕ

Химический состав растений является совокупностью всех первичных и вторичных метаболитов и может рассматриваться как результат реализации генетической информации, «связующее звено» между генотипом и фенотипом [1]. Комплекс биологически активных веществ (БАВ) большинства лекарственных растений и получаемых на их основе лекарственных растительных препаратов представляет собой многокомпонентную систему, находящуюся во взаимодействии, состав которой не всегда известен полностью.

Облепиха крушиновидная – одно из ценных растений, имеющее широкий ареал распространения [2–13]. Плоды облепихи пока не выпускаются в виде индивидуального лекарственного растительного сырья (ЛРС) в фильтр-пакетах и пачках различной расфасовки, однако масляный экстракт плодов является как самостоятельным препаратом, так и составной частью некоторых комплексных растительных препаратов регенерирующего действия. Плоды облепихи крушиновидной являются официальным ЛРС. Подготовленный проект ФС на данный вид сырья нахо-

дится в стадии публичного обсуждения и вывешен на сайте МЗ РФ [14].

Одним из ключевых вопросов является вопрос выбора группы БАВ для оценки качества ЛРС. Комплекс БАВ ЛРС облепихи включает большое количество классов различных веществ [2–13]. Известно также, что проявление территориальной вариативности в качественном и количественном составе БАВ может отразиться на качестве сырья, используемого для производства фитопрепаратов и БАД. Поэтому исследования изменчивости химического состава в зависимости от климатических условий произрастания, заготовки и сушки с целью накопления и обобщения информации для выработки унифицированных научно обоснованных норм показателей качества сырья является актуальным направлением для изучения [1].

Цель работы – изучение химического состава плодов облепихи крушиновидной, произрастающей на территории Центрального Черноземья.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сырьем для проведения анализа служили цельные свежие плоды облепихи крушиновидной, заготовленные на территории Центрального Черноземья

РФ (Воронежская область) в период с 2013 по 2020 гг. Сбор сырья осуществляли согласно требованиям ГФ РФ XIV, ОФС «Плоды»^{1,2}. В работе обобщены и систематизированы данные по результатам многолетнего исследования [15–34].

Идентификацию БАВ в изучаемом сырье проводили методом ТСХ по ранее разработанным и описанным методикам [15–18, 23, 25–27, 31–34] в трех повторностях в сравнении с достоверными стандартными образцами (эргокальциферол (ФСП 42-0008018000), β -каротин (ВФС 42-3128-98), токоферола ацетата (ФС 42-7843-97), ретинола ацетат (ФС 42-7811-97), а также чистые субстанции рутина, кверцетина, танина, галловой кислоты, аскорбиновой кислоты, глюкозы, фруктозы, ксилозы, рамнозы, аминокислот, органических кислот, представленные АО «ВЕКТОН» (Россия). Пробы на ТСХ-пластинки наносили с помощью микрошприцев объемом 1 и 10 мкл (МШ-10, МШ-1, Россия). Для приготовления элюентов использовали растворители марки х.ч. (АО «ВЕКТОН», Россия).

Приготовление реактивов, детектирующих реагентов, титрованных растворов проводили в соответствии с рекомендациями ГФ XIII–XIV^{3,4} изданий из субстанций марки х.ч. и ч.д.а. (АО «ВЕКТОН», Россия).

Антиоксидантную активность (АОА) определяли методом перманганатометрического титрования по известной методике Т. В. Максимовой [19].

Определение экстрактивных веществ проводили по ОФС ГФ РФ XIV изд. [21] по методике 1.

Количественное определение суммы различных БАВ в пересчете на тот или иной компонент проводилось спектрофотометрически (СФМ) и титриметрически по ранее разработанным методикам [20, 22, 24, 28–30].

Для определения состава свободных органических кислот, сахаров, витамина В₄ (холина), а также полного аминокислотного состава изучаемых объектов исследования проводили методом капиллярного электрофореза. Определение витаминов В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), В₃ (пантотеновая кислота) осуществляли в варианте капиллярного зонного электрофореза. Витамин В₅ (никотиновая кислота) определяли методом мицеллярной электрокинетической хроматографии на приборе «Капель®-105/105М» (ГК «Люмэкс», Россия) в стандартных рекомендованных условиях анализа [35].

¹ Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Доступно по: <http://www.femb.ru/feml>. Ссылка активна на 14.06.2022.

² Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 14.06.2022.

³ Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Доступно по: <http://www.femb.ru/feml>. Ссылка активна на 14.06.2022.

⁴ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 14.06.2022.

Анализ соединений фенольной фракции изучаемого ЛРС методом ВЭЖХ-ДМД-МС. Исследования проводились с использованием системы Agilent 1100 (Agilent Technologies, США), оснащенной бинарным насосом, дегазатором, термостатируемым автосемплером, термостатом колонок, ДМД спектрофотометрическим Agilent 1100 Series Diode Array (Agilent Technologies, США) и времяпролетным (TOF) МС-детектором Agilent 6200 TOF LC/MS (Agilent Technologies, США). Идентификацию и определение содержания БАВ проводили по методике, разработанной ранее [36].

Стандарты и растворители. В качестве стандартных образцов использовались коммерчески доступные индивидуальные вещества: рутин ($\geq 94\%$, Sigma-Aldrich, США), гиперозид ($\geq 95\%$, HWI ANALYTIK GmbH, Германия), изокверцитрин ($\geq 94\%$, HWI ANALYTIK GmbH, Германия), кемферол-3-глюкозид ($\geq 95\%$, Phytolab GmbH & Co. KG, Германия). В работе были использованы следующие растворители/реактивы: вода очищенная (получена с помощью системы Milli-Q Advantage A10, Millipore, США), ацетонитрил (UPLC/HPLC grade производства PanReac AppliChem, Германия), метанол (UPLC/HPLC grade производства J.T. Baker, Avantor™ Performance Materials, Inc. (США), муравьиная кислота 98–100 % (Merck, Германия).

Статистическую обработку результатов проводили по программе STATISTICA 7.0 и методике ОФС ГФ XIV изд.⁵

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования осуществляли разделение и идентификацию в извлечениях из изучаемого ЛРС различных групп БАВ методом ТСХ. Результаты изучения качественного состава БАВ плодов облепихи крушиновидной, полученных различными способами, представлены в таблице 1. Следует отметить, что вид хроматограмм извлечений из плодов различных годов заготовки в данном регионе, полученных в одинаковых условиях анализа и пробоподготовки [15–18, 23, 25–27, 31–34], не имел отличий в качественном составе.

Полученные результаты качественного фитохимического состава плодов облепихи крушиновидной, произрастающих в климатических условиях Воронежской области, важны с точки зрения накопления и обобщения информации о его вариабельности в зависимости от эколого-географических факторов места заготовки для выработки унифицированных требований к качеству данного сырья. Для выявления маркерных БАВ в составе комплекса требуется дополнительное сравнение с данными других регионов.

⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 14.06.2022.

Таблица 1. Результаты изучения качественного состава БАВ на хроматограммах извлечений из плодов облепихи крушиновидной [15–18, 23, 25–27, 31–34]

Table 1. Results of studying qualitative composition of biologically active substances on chromatograms of extracts from fruits of sea buckthorn [15–18, 23, 25–27, 31–34]

№ п/п No. p/p	Группа БАВ Group of BAS	Вид зон Type of zones	Идентифицированные БАВ в сравнении с достоверными стандартными образцами Identified BAS in comparison with reliable standard samples
1	Органические кислоты Organic acids	3 желтых пятна на синем фоне 3 yellow spots on a blue background	Щавелевая ($R_f = 0,13 \pm 0,02$), винная ($R_f = 0,35 \pm 0,02$), яблочная ($R_f = 0,78 \pm 0,02$) кислоты Oxalic ($R_f = 0.13 \pm 0.02$), tartaric ($R_f = 0.35 \pm 0.02$), malic ($R_f = 0.78 \pm 0.02$) acids
2	Флавоноиды Flavonoids	6 зон характерного свечения в УФ-свете ($0,08 \pm 0,02$; $0,19 \pm 0,02$; $0,32 \pm 0,02$; $0,54 \pm 0,02$; $0,64 \pm 0,02$; $0,80 \pm 0,02$) 6 spots of typical glow in UV-light (0.08 ± 0.02 ; 0.19 ± 0.02 ; 0.32 ± 0.02 ; 0.54 ± 0.02 ; 0.64 ± 0.02 ; 0.80 ± 0.02)	Рутин ($R_f = 0,54 \pm 0,02$), гиперозид ($R_f = 0,64 \pm 0,02$), кверцетин ($R_f = 0,80 \pm 0,02$) Rutin ($R_f = 0.54 \pm 0.02$), hyperoside ($R_f = 0.64 \pm 0.02$), quercetin ($R_f = 0.80 \pm 0.02$)
3	Свободные аминокислоты Free amino acids	7 зон от желто-оранжевых до розовых и малиновых на белом фоне ($0,26 \pm 0,02$; $0,32 \pm 0,02$; $0,35 \pm 0,01$; $0,42 \pm 0,02$; $0,46 \pm 0,005$; $0,58 \pm 0,005$; $0,68 \pm 0,02$) From yellow-orange to pink and crimson on a white background (0.26 ± 0.02 ; 0.32 ± 0.02 ; 0.35 ± 0.01 ; 0.42 ± 0.02 ; 0.46 ± 0.005 ; 0.58 ± 0.005 ; 0.68 ± 0.02)	Пролин ($R_f = 0,32 \pm 0,02$), глицин ($R_f = 0,35 \pm 0,01$), глутаминовая кислота ($R_f = 0,46 \pm 0,005$), лейцин ($R_f = 0,58 \pm 0,005$) Proline ($R_f = 0.32 \pm 0.02$), glycine ($R_f = 0.35 \pm 0.01$), glutamic acid ($R_f = 0.46 \pm 0.005$), leucine ($R_f = 0.58 \pm 0.005$)
4	Дубильные вещества гидролизующей группы Tannins of the hydrolyzable group	Серо-синяя зона на белом фоне слабой интенсивности Gray-blue zone on a white background of low intensity	Галловая кислота ($R_f = 0,83 \pm 0,02$) Gallic acid ($R_f = 0.83 \pm 0.02$)
5	Моносахара Monosugar	Желто-коричневая, розовая и желто-оранжевая зоны на белом фоне Yellow-brown, pink and yellow-orange zones on a white background	Глюкоза ($R_f = 0,28 \pm 0,02$), ксилоза ($R_f = 0,43 \pm 0,02$) и рамноза ($R_f = 0,52 \pm 0,02$) Glucose ($R_f = 0.28 \pm 0.02$), xylose ($R_f = 0.43 \pm 0.02$), ramnose ($R_f = 0.52 \pm 0.02$)
6	Лейкоантоцианы Leukoanthocyanins	1 красная ($R_f = 0,20 \pm 0,02$), 2 голубовато-синие ($R_f = 0,47 \pm 0,02$; $0,67 \pm 0,02$) и 1 желтая ($R_f = 0,83 \pm 0,02$) зоны на белом фоне 1 red ($R_f = 0.20 \pm 0.02$), 2 bluish-blue ($R_f = 0.47 \pm 0.02$; 0.67 ± 0.02) and 1 yellow ($R_f = 0.83 \pm 0.02$) zones on a white background	4 зоны БАВ антоциановой природы 4 zones of biologically active substances of anthocyanin nature
7	Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	Зона белые на розовом фоне Zone white on pink background	Аскорбиновая кислота ($R_f = 0,42 \pm 0,01$) Ascorbic acid ($R_f = 0.42 \pm 0.01$)
8	Жирорастворимые витамины Fat soluble vitamins	8 темно-синих зон на желто-зеленом фоне ($R_f = 0,01 \pm 0,005$; $0,06 \pm 0,02$; $0,11 \pm 0,02$; $0,17 \pm 0,02$; $0,19 \pm 0,02$; $0,63 \pm 0,02$; $0,78 \pm 0,02$; $0,99 \pm 0,01$) 8 dark blue zones on a yellow-green background ($R_f = 0.01 \pm 0.005$; 0.06 ± 0.02 ; 0.11 ± 0.02 ; 0.17 ± 0.02 ; 0.19 ± 0.02 ; 0.63 ± 0.02 ; 0.78 ± 0.02 ; 0.99 ± 0.01)	Витамин D ₂ ($R_f = 0,63 \pm 0,02$), витамин E ($R_f = 0,78 \pm 0,02$), β-каротин ($R_f = 0,99 \pm 0,01$) Vitamin D ₂ ($R_f = 0.63 \pm 0.02$), vitamin E ($R_f = 0.78 \pm 0.02$), β-carotene ($R_f = 0.99 \pm 0.01$)
9	Каротиноиды Carotenoids	7 желто-оранжевых зон на белом фоне ($R_f = 0,071 \pm 0,02$; $0,129 \pm 0,01$; $0,176 \pm 0,01$; $0,235 \pm 0,01$; $0,553 \pm 0,02$; $0,600 \pm 0,02$; $0,980 \pm 0,02$) 7 yellow-orange zones on a white background ($R_f = 0.071 \pm 0.02$; 0.129 ± 0.01 ; 0.176 ± 0.01 ; 0.235 ± 0.01 ; 0.553 ± 0.02 ; 0.600 ± 0.02 ; 0.980 ± 0.02)	β-каротин ($R_f = 0,98 \pm 0,02$) β-carotene ($R_f = 0.98 \pm 0.02$)

В процессе комплексного изучения метаболома исследуемого ЛРС (каротиноидов, флавоноидов, дубильных веществ (ДВ), аминокислот (АК), гидроксикоричных кислот (ГКК), антоцианов, органических кислот, сахаров, некоторых макроэлементов и витаминов) были разработаны и валидированы методики определения основных групп БАВ [20, 22, 24, 28–30]. Следует уточнить, что исследования проводились для каждой группы БАВ не менее 2 лет заготовки. Результаты имели сопоставимые значения (данных о различном содержании БАВ в разные года

заготовки, отличающиеся на порядок или в разы выявлено не было). Каждое определение проводили не менее 6 раз. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Параметры получения извлечений, использованные в количественном анализе, обеспечивающие полноту экстракции каждой группы БАВ, такие как степень измельченности сырья, соотношения сырья и экстрагента, время (мин) и кратность экстракции, обобщены и представлены в таблице 3.

Таблица 2. Определение комплекса БАВ в плодах облепихи крушиновидной (здесь и далее в пересчете на абсолютно сухое сырье) (n ≥ 6)

Table 2. Determination of the BAS complex in the fruits of sea buckthorn (hereinafter, in terms of absolutely dry raw materials) (n ≥ 6)

№ п/п No. p/p	БАВ BAS	Содержание БАВ, % BAS content, %	Метод анализа Method of analysis
1	Сумма органических кислот Sum of organic acids	12,874 ± 0,161	Титриметрия (в пересчете на кислоту яблочную) Titrimetry (in terms of malic acid)
2	Сумма гидроксикоричных кислот Sum of hydroxycinnamic acids	0,210 ± 0,011	СФМ (в пересчете на кислоту хлорогеновую) Spectrophotometry (in terms of chlorogenic acid)
3	Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	0,064 ± 0,003	Титриметрия Titrimetry
4	Антиокислительная активность, мг/г Antioxidant activity, mg/g	17,130 ± 0,130	Титриметрия (в пересчете на кверцетин) Titrimetry (in terms of quercetin)
5	Сумма каротиноидов The amount of carotenoids	51,190 ± 1,920 мг%	СФМ (в пересчете на β-каротин) Spectrophotometry (in terms of β-carotene)
7	Сумма антоциановых соединений The sum of anthocyanin compounds	2,831 ± 0,113	СФМ (в пересчете на цианидин-3-о-глюкозид) Spectrophotometry (in terms of cyanidin-3-o-glucoside)
8	Сумма дубильных веществ The amount of tannins	6,614 ± 0,487	Перманганатометрия Permanganatometry
		0,534 ± 0,015	СФМ (в пересчете на танин) Spectrophotometry (in terms of tannin)
9	Сумма свободных аминокислот The sum of free amino acids	4,860 ± 0,333	СФМ (в пересчете на кислоту глутаминовую) Spectrophotometry (in terms of glutamic acid)
10	Сумма флавоноидов The sum of flavonoids	1,085 ± 0,121	СФМ (в пересчете на рутин) Spectrophotometry (in terms of rutin)
11	Сумма полисахаридов и простых сахаров The sum of polysaccharides and simple sugars	20,901 ± 3,057	СФМ (Пикриновый метод, в пересчете на глюкозу) Spectrophotometry (Picric method, in terms of glucose)
12	Кальций Calcium	1,050 ± 0,092	Комплексометрия Complexometry
13	Танин и кислота галловая при совместном присутствии Tannin and gallic acid in the joint presence	0,202 (танина); 0,8999 (кислоты галловой) 0,202 (tannin); 0,8999 (gallic acid)	СФМ Spectrophotometry
14	Экстрактивные вещества Extractive substances	57,940 ± 3,320	ОФС ГФ XIV (методика 1) General pharmacopoeial monograph State pharmacopoeia of Russian Federation XIV (method 1)

Таблица 3. Оптимальные параметры выделения БАВ из плодов облепихи крушиновидной [20, 22, 24, 28–30]

Table 3. Optimal parameters of BAS isolation from fruits of sea buckthorn [20, 22, 24, 28–30]

№ п/п No. p/p	БАВ BAS	Результаты определения Results of determination			
		Экстрагент Extractant	ЛРС: экстрагент Medicinal plant raw materials: extractant	Время экстракции, мин Extraction time, min	Кратность экстракции Extraction rate
1	Кальций Calcium	разведенная HCl Diluted HCl	1:50	60	2
2	Сумма каротиноидов Amount carotenoids	95%-й этанол 95 % ethanol	1:100	90	1
3	Сумма антоциановых соединений Sum of anthocyanin compounds	подкисленный 80%-й этанол acidified 80 % ethanol	1:100	180	1
4	Сумма дубильных веществ Sum of tannins	вода water	1:200	30	1
5	Сумма свободных аминокислот Sum of free amino acids	вода water	1:70	60	2
6	Сумма флавоноидов Sum of flavonoids	70%-й этанол 70 % ethanol	1:30	45	1
7	Сумма полисахаридов и простых сахаров The sum of polysaccharides and simple sugars	вода: конц. HCl (10:1) water: conc. HCl (10:1)	1,5:80	90	2

Следует отметить, что плоды облепихи крушиновидной, произрастающей в условиях Центрального Черноземья, накапливают в значительных количествах свободные аминокислоты, каротиноиды, вещества полифенольной природы (флавоноиды, антоциановые и дубильные соединения), органические кислоты и полисахариды. Содержание суммы каротиноидов соответствует требованиям проекта ФС для ГФ РФ XIV издания [14].

В случае лекарственных растений выявление хеомаркеров имеет практическую значимость и может использоваться для отличия друг от друга морфологически сходных близких видов [1]. Поэтому для исследования полного состава и количественного содержания метаболома, изучаемое ЛРС анализировали селективными методами капиллярного электрофореза и ВЭЖХ-ДМД-МС. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты определения различных групп БАВ методом капиллярного электрофореза в плодах облепихи крушиновидной [35]

Table 4. Results of determination of various groups of biologically active substances by capillary electrophoresis in fruits of sea buckthorn [35]

№ п/п No. p/p	Группа БАВ BAS group	Содержание БАВ BAS content
<i>Органические кислоты, % Organic acids, %</i>		
1	Яблочная кислота Malic acid	8,92 ± 0,71
2	Янтарная кислота Succinic acid	0,37 ± 0,03
3	Масляная кислота Butyric acid	Менее 0,05 Less than 0,05
4	Молочная кислота Lactic acid	Менее 0,12 Less than 0,12
<i>Аминокислоты (* незаменимая аминокислота), % Amino acids (* essential amino acid), %</i>		
1	Аргинин Arginine	0,80 ± 0,06
2	Лизин* Lysine*	0,14 ± 0,01
3	Тирозин Tyrosine	0,36 ± 0,03
4	Фенилаланин* Phenylalanine*	0,43 ± 0,04
5	Гистидин Histidine	0,22 ± 0,02
6	Лейцин* Leucine*	0,43 ± 0,04
7	Изолейцин* Isoleucine*	0,22 ± 0,02
8	Метионин* Methionine*	0,07 ± 0,006
9	Валин* Valine*	0,22 ± 0,02

№ п/п No. p/p	Группа БАВ BAS group	Содержание БАВ BAS content
10	Пролин Proline	0,72 ± 0,06
11	Треонин* Threonine*	0,29 ± 0,02
12	Серин Serine	0,36 ± 0,03
13	Аланин Alanine	0,14 ± 0,01
14	Глицин Glycine	0,22 ± 0,02
15	Цистин Cystine	Менее 0,007 Less than 0,007
16	Глутаминовая кислота Glutamic acid	0,07 ± 0,006
17	Аспарагиновая кислота Aspartic acid	0,29 ± 0,02
<i>Витамины группы В, мг/кг Vitamins of group B, mg/kg</i>		
1	B ₁	Менее 0,086 Less than 0,086
2	B ₂	6,11 ± 0,49
3	B ₃	Менее 5,0 Less than 5,0
4	B ₄	39,72
5	B ₅	Менее 10 Less than 10
<i>Простые сахара, % Simple sugars, %</i>		
1	Фруктоза Fructose	1,096 ± 0,091
2	Глюкоза Glucose	0,234 ± 0,019
3	Сахароза Sucrose	9,521 ± 0,762

Таким образом, методом капиллярного электрофореза выявлено достаточное количество водорастворимых простых сахаров (фруктозы и сахарозы) в плодах облепихи крушиновидной (рисунок 3). В исследуемом сырье преобладают аргинин и пролин. Содержание свободных и связанных аминокислот в плодах составляет 4,99 % (в пересчете на абсолютно сухое сырье), в т. ч. и незаменимые аминокислоты. Установлено значительное содержание рибофлавина и холина, а также яблочной и янтарной кислот.

Исследование содержания и состава флавоноидов в изучаемом ЛРС проводилось с помощью метода ВЭЖХ-ДМД-МС (рисунки 1 и 2 и 3). Флавоноиды в плодах облепихи крушиновидной, произрастающей в условиях Центрального Черноземья представлены 13-ю флавонолгликозидами – производные кверцетина, кемпферола и изорамнетина, основными из которых были изорамнетин-3-рутинозид (18,2 % от суммы флавоноидов), изорамнетин-3-софорозид-7-рам-



Рисунок 1. Хроматограмма извлечения из плодов облепихи крушиновидной при $\lambda = 350$ нм

1 – кверцетин-3-софорозид-7-рамнозид; 2 – кверцетин-3-рутинозид-7-рамнозид; 3 – кемпферол-3-софорозид-7-рамнозид; 4 – кверцетин-3-рутинозид-7-глюкуронид; 5 – изорамнетин-3-софорозид-7-рамнозид; 6 – изорамнетин-3-рутинозид-7-рамнозид; 7 – неидентифицированный флавонолгликозид; 8 – изорамнетин-3-глюкозид-7-рамнозид; 9 – рутин; 10 – изорамнетин-3-рутинозид; 11 – изорамнетин-3-глюкозид; 12 – изорамнетин-3-рамнозид; 13 – изорамнетин

Figure 1. Chromatogram of sea buckthorn extract from fruits at $\lambda = 350$ nm

1 – quercetin-3-sophoroside-7-rhamnoside; 2 – quercetin-3-rutinoside-7-rhamnoside; 3 – kaempferol-3-sophoroside-7-rhamnoside; 4 – quercetin-3-rutinoside-7-glucuronide; 5 – isorhamnetin-3-sophoroside-7-rhamnoside; 6 – isorhamnetin-3-rutinoside-7-rhamnoside; 7 – unidentified flavonol glycoside; 8 – isorhamnetin-3-glucoside-7-rhamnoside; 9 – rutin; 10 – isorhamnetin-3-rutinoside; 11 – isorhamnetin-3-glucoside; 12 – isorhamnetin-3-rhamnoside; 13 – isorhamnetin

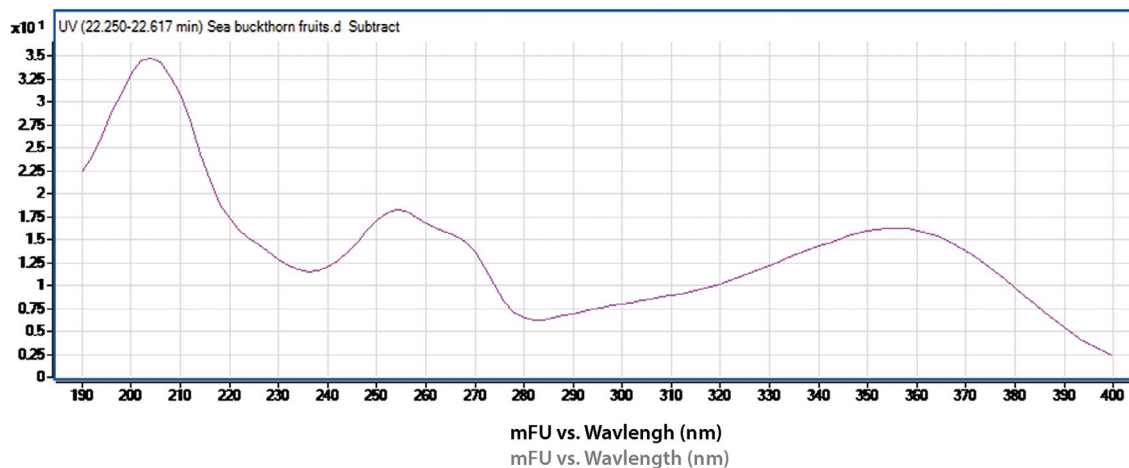


Рисунок 2. Спектр поглощения изорамнетин-3-рутинозида

Figure 2. Absorption spectrum of isorhamnetin-3-rutinoside

нозид (13,1 %) и изорамнетин-3-глюкозид-7-рамнозид (12,6 %). Среди минорных соединений идентифицированы 3-рутинозид-7-рамнозиды изорамнетина, кверцетина и кемпферола, 3-софорозид-7-рамнозиды кверцетина и кемпферола, рутин, 3-глюкозид и 3-рамнозид изорамнетина. Содержание флавоноидов в плодах облепихи крушиновидной представлены в таблице 5. Содержание суммы флавоноидов в исследуемых плодах по данным селективного ВЭЖХ-ДМД-

МС-анализа составило 2,217 мг/г. Присутствие кверцетин-3-рутинозид-7-глюкуронида в облепихе установлено впервые.

Полученные данные о профиле флавоноидов в плодах исследуемых образцов облепихи крушиновидной схожи с литературными данными о сортовой вариации накопления флавоноидов в сырье того же вида, заготовленных в условиях средней полосы РФ (Московская область).

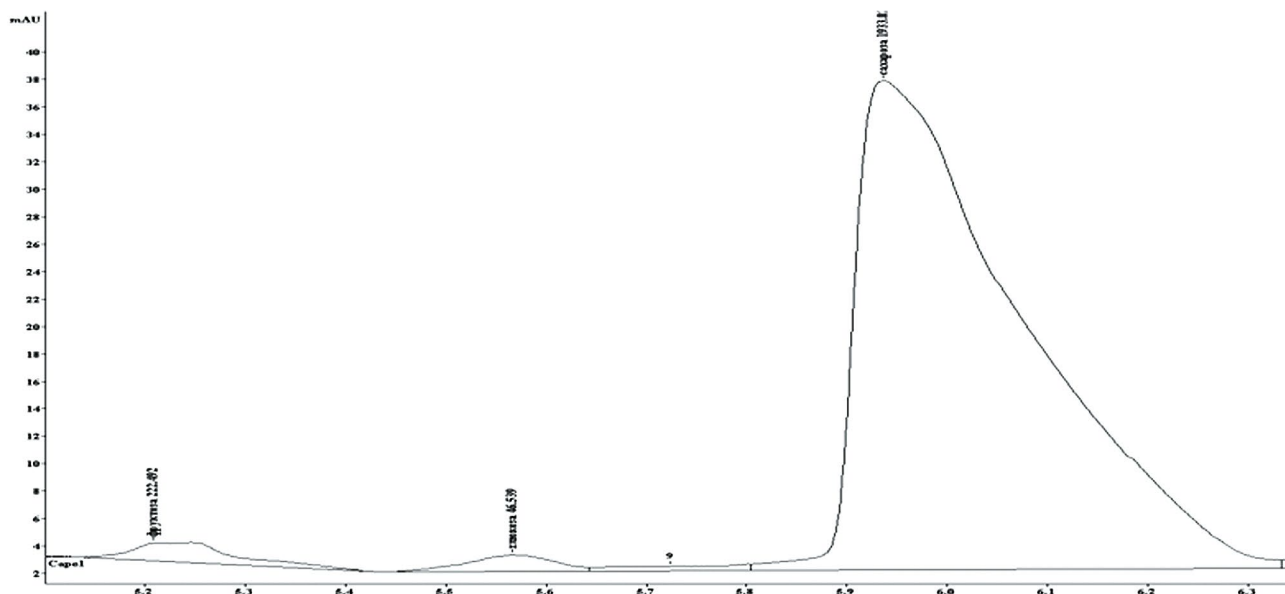


Рисунок 3. Электрофореграмма сахаров плодов облепихи крушиновидной (последовательность пиков: фруктоза, глюкоза, сахароза)

Figure 3. Electrophoregram of sugars of sea buckthorn fruits (sequence of peaks: fructose, glucose, sucrose)

Таблица 5. Результаты ВЭЖХ-ДМД-МС-анализа флавоноидов в плодах облепихи крушиновидной

Table 5. Results of HPLC-DMD-MS analysis of flavonoids in sea buckthorn fruits

№ п/п No. p/p	Флавоноиды Flavonoids	Содержание, мг/г Content, mg/g
1	Кверцетин-3-софорозид-7-рамнозид. Сирингетин-гликозид Quercetin-3-sophoroside-7-rhamnoside. Syringetin glycoside	0,21 ± 0,008
2	Кверцетин-3-рутинозид-7-рамнозид Quercetin-3-rutinoside-7-rhamnoside	0,14 ± 0,006
3	Кемпферол-3-софорозид-7-рамнозид Caempferol-3-sophoroside-7-rhamnoside	0,15 ± 0,006
4	Кверцетин-3-рутинозид-7-глюкуронид Quercetin-3-rutinoside-7-glucuronide	0,17 ± 0,007
5	Изорамнетин-3-софорозид-7-рамнозид Isoramnetin-3-sophoroside-7-rhamnoside	0,30 ± 0,012
6	Изорамнетин-3-рутинозид-7-рамнозид Isoramnetin-3-rutinoside-7-rhamnoside	0,11 ± 0,004
7	Неидентифицированный флавонолгликозид Unidentified flavonol glycoside	0,12 ± 0,005
8	Изорамнетин-3-глюкозид-7-рамнозид Isoramnetin-3-glucoside-7-rhamnoside	0,28 ± 0,011
9	Рутин Rutin	0,14 ± 0,006
10	Изорамнетин-3-рутинозид Isoramnetin-3-rutinoside	0,41 ± 0,016
11	Изорамнетин-3-глюкозид Isoramnetin-3-glucoside	0,14 ± 0,006
12	Изорамнетин-3-рамнозид Isoramnetin-3-rhamnoside	0,062 ± 0,002
13	Изорамнетин Isoramnetin	0,025 ± 0,001

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе методом ТСХ проведено исследование состава различных групп БАВ и их идентификация в извлечениях из изучаемого сырья. В процессе комплексного изучения фитохимического состава исследуемого ЛРС проведено определение каротиноидов, флавоноидов, дубильных веществ, аминокислот, гидроксикоричных кислот, антоцианов, органических кислот, сахаров, некоторых макроэлементов и витаминов. Плоды облепихи крушиновидной, произрастающей в условиях Центрального Черноземья, накапливают в значительных количествах свободные аминокислоты, каротиноиды, вещества полифенольной природы (флавоноиды, антоциановые и дубильные соединения), органические кислоты и полисахариды. Содержание суммы каротиноидов соответствует требованиям проекта ФС для ГФ РФ XIV издания.

Методом капиллярного электрофореза в плодах облепихи крушиновидной исследован состав свободных водорастворимых простых сахаров, органических кислот, витаминов группы В, а также полный аминокислотный состав. Установлено значительное содержание рибофлавина и холина, а также яблочной и янтарной кислот. Флавоноиды в плодах облепихи крушиновидной, произрастающей в условиях Центрального Черноземья представлены флавонолгликозидами – производными кверцетина, кемпферола и изорамнетина. В качестве хеомаркеров могут быть использованы минорные флавонолгликозиды 3-рутинозид-7-рамнозиды изорамнетина, кверцетина и кемпферола, 3-софорозид-7-рамнозиды кверцети-

на и кемпферола, рутина, 3-глюкозид и 3-рамнозид изорамнетины. Полученные данные о составе комплекса флавоноидов в плодах исследуемых образцов облепихи крушиновидной схожи с литературными данными о сортовой вариации накопления флавоноидов в сырье того же вида, заготовленных в условиях средней полосы РФ (Московская область). В различных зарубежных исследованиях [39–42] авторы выделили из плодов облепихи и идентифицировали флавоноиды 7-О- α -L-рамнозиды изорамнетины, кверцетина и кемпферола, содержащие в положении С-3 различные гликозидные остатки, в основном, софорозиды, рутинозиды и глюкозиды. Полученные данные о фитохимическом составе плодов облепихи крушиновидной, произрастающих в климатических условиях Центрального Черноземья (на примере Воронежской области), важны с точки зрения обобщения и систематизации информации о его вариативности в зависимости от эколого-географических факторов региона заготовки. Для выявления в составе комплекса БАВ плодов маркерных компонентов вида требуется дополнительное сравнение с подобными данными других регионов.

ЛИТЕРАТУРА

- Орлова А. А., Стругар Й., Штарк О. Ю., Жуков В. А., Лужанин В. Г., Повыдыш М. Н. Использование подходов метаболомики в анализе лекарственных растений и фитопрепаратов (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):97–105. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-97-105.
- Тринеева О. В. Теоретические и методологические подходы к стандартизации и оценке качества лекарственного растительного сырья и масляных экстрактов на его основе. Дис. ... д. фарм. наук. Москва. 2017. 441 с. Доступно по <https://www.dissercat.com/content/teoreticheskie-i-metodologicheskie-podkhody-k-standartizatsii-i-otsenke-kachestva-lekarstven>. Ссылка активна на 14.06.2022.
- Тринеева О. В. Комплексное исследование содержания и специфического профиля БАВ плодов облепихи крушиновидной: монография. Воронеж: Издательский дом ВГУ; 2016. 224 с.
- Kumar V., Sharma A., Bhardwaj R., Thukral A. T. Analysis of organic acids of tricarboxylic acid cycle in plants using GC-MS, and system modeling. *Journal of Analytical Science and Technology*. 2017;8:20. DOI: 10.1186/s40543-017-0129-6.
- Bayraktar V. Organic acids concentration in wine stocks after *Saccharomyces cerevisiae* fermentation. *Biotechnologia Acta*. 2013;6(3):97–106.
- Yadav A., Stobdan T., Chauhan O. P., Dwivedi S. K., Chaurasia O. P. Sea Buckthorn: A Multipurpose Medicinal Plant from Upper Himalayas. *Medicinal Plants*. 2019;1:399–426.
- Nour V., Panaite T. D., Corbu A. R., Ropota M., Turcu R. P. Nutritional and Bioactive Compounds in Dried Sea-Buckthorn Pomace. *Erwerbs-Obstbau*. 2021;63:91–98. DOI: 10.1007/s10341-020-00539-1.
- Kashyap P., Deepshikha, Riar C. S., Jindal N. Sea Buckthorn. Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits. 2020;2:201–225. DOI: 10.1007/978-981-15-7285-2_11.
- Wanchao C., Pengjuan C., Huaying S., Weiqing G., Chunwu Y., Hao J., Bin F., Decheng S. Comparative effects of salt and alkali stresses on organic acid accumulation and ionic balance of sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Industrial Crops and Products*. 2009;30(3):351–358. DOI: 10.1016/j.indcrop.2009.06.007.
- Скалий Л. П. Облепиха: Пособие для садоводов-любителей. М.: Изд-во «Ниола-Пресс»; 2007. 240 с.
- Heyen S., Scholz-Böttcher B. M., Rabus R., Wilkes H. Method development and validation for the quantification of organic acids in microbial samples using anionic exchange solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2020;412:7491–7503. DOI: 10.1007/s00216-020-02883-3.
- Raffo A., Paoletti F., Antonelli M. Changes in sugar, organic acid, flavonol and carotenoid composition during ripening of berries of three seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars. *European Food Research and Technology*. 2004;219:360–368. DOI: 10.1007/s00217-004-0984-4.
- Christaki E. *Hippophae rhamnoides* L. (Sea Buckthorn): a Potential Source of Nutraceuticals. *Food and Public Health*. 2012;2:69–72. DOI: 10.5923/j.fph.20120203.02.
- Тринеева О. В., Сливкин А. И., Самылина И. А. Исследования по разработке проектов фармакопейных статей на плоды и масло облепихи крушиновидной. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2016;3:126–133.
- Тринеева О. В., Сафонова И. И., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Идентификация органических кислот методом ТСХ в извлечениях из растительных объектов. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2013;6:896–901.
- Тринеева О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Определение жирорастворимых витаминов в растительных объектах методом ТСХ. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2014;14(1):144–149.
- Тринеева О. В. Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного сырья методом ТСХ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(2):69–79. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-69-79.
- Тринеева О. В., Синкевич А. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Исследование аминокислотного состава извлечений из растительных объектов. *Химия растительного сырья*. 2015;2:141–148.
- Тринеева О. В., Сафонова И. И., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Определение антиоксидантной активности извлечений из плодов облепихи крушиновидной. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2012;2:266–268.
- Тринеева О. В., Сафонова И. И., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Определение флавоноидов в плодах облепихи крушиновидной. *Фармация*. 2012;7:18–21.
- Тринеева О. В., Сливкин А. И., Карлов П. М. Определение экстрактивных веществ в некоторых видах лекарственного растительного сырья. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2013;2:220–224.
- Тринеева О. В., Сафонова И. И., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Органические кислоты в плодах облепихи крушиновидной. *Фармация*. 2013;7:7–10.
- Мальцева А. А., Тринеева О. В., Чистякова А. С., Брежнева Т. А., Сливкин А. И., Сорокина А. А. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов. *Фармация*. 2013;1:13–16.
- Тринеева О. В., Сливкин А. И., Казьмина М. А. Исследование спектральных характеристик антоциановых соединений облепихи крушиновидной. *Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация*. 2014;3:188–122.
- Тринеева О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Способ определения жирорастворимых витаминов А, D₂, Е и β -каротина при совместном присутствии методом ТСХ. Патент РФ на изобретение № RU 2530620. 10.10.2014. Доступно по https://www1.fips.ru/register-doc-view/fips_servlet/ Ссылка активна на 12.06.2022.
- Тринеева О. В., Синкевич А. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Определение аминокислот в лекарственном растительном сырье методом ТСХ (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной). *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(5):37–41.
- Тринеева О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Разделение жирорастворимых витаминов D₂ и Е при совместном присутствии методом ТСХ. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2015;15(1):42–50.
- Тринеева О. В., Самылина И. А., Сливкин А. И., Казьмина М. А. Разработка методики количественного определения антоциановых соединений в плодах облепихи крушиновидной. *Фармация*. 2015;7:9–7.

29. Тринеева О. В., Сливкин А. И. Определение кальция в плодах облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.). *Химия растительного сырья*. 2015;1:101–106.
30. Тринеева О. В., Шикунова Н. С., Сливкин А. И. Исследования по определению дубильных веществ в плодах облепихи крушиновидной. *Фармация*. 2016;3:16–21.
31. Тринеева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Выбор оптимальных параметров разделения аминокислот в тонком слое сорбента. *Химико-фармацевтический журнал*. 2016;50(1):47–52.
32. Тринеева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Разделение и определение жирорастворимых витаминов А, D₂, Е и β-каротина при совместном присутствии методом ступенчатого элюирования в тонком слое сорбента. *Химико-фармацевтический журнал*. 2016;50(2):51–56.
33. Тринеева О. В., Сафонова Е. Ф., Сафонова И. И., Сливкин А. И., Назарова А. А., Синкевич А. В. Способ идентификации и количественного определения аскорбиновой кислоты. Патент РФ на изобретение № RU 2581456. 20.04.2016. Доступно по: https://www1.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet/ Ссылка активна на 12.06.2022.
34. Тринеева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф., Назарова А. А., Шикунова Н. С. Способ определения полифенольных соединений методом ступенчатого элюирования в тонком слое сорбента. Патент РФ на изобретение № RU 2597661. 20.09.2016. Доступно по: https://www1.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet/ Ссылка активна на 12.06.2022.
35. Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». СПб.: ООО «Веда»; 2006. 212 с.
36. Zhogova A. A., Perova I. B., Samylina I. A., Ramenskaya G. V., Eller K. I. Identification and quantitative determination of the main biologically active substances in motherwort herb by HPLC–mass spectrometry. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2014;48(7):461–466. DOI: 10.1007/s11094-014-1132-5.
37. Rösch D., Krumbein A., Mügge C. Structural investigations of flavonol glycosides from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) pomace by NMR spectroscopy and HPLC-ESI-MS(n). *J. Agric. Food Chem.* 2004;52(13):4039–4046.
38. Gutzeit D., Wray V., Winterhalter P. Preparative isolation and purification of flavonoids from sea buckthorn juice concentrate (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) by high-speed counter-current chromatography. *Chromatographia*. 2006;65(12):1–7.
39. Arimboor R., Arumughan C. HPLC-DAD-MS/MS profiling of antioxidant glycosides in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012;63(6):730–738.
40. Kim J.-S., Yu C.-Y., Kim M.-J. Pharmacological effect and component of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Plant Biotechnol.* 2010;37:47–56. DOI: 10.5010/JPB.2010.37.1.047.
5. Bayraktar V. Organic acids concentration in wine stocks after *Saccharomyces cerevisiae* fermentation. *Biotechnologia Acta*. 2013; 6(3):97–106.
6. Yadav A., Stobdan T., Chauhan O. P., Dwivedi S. K., Chaurasia O. P. Sea Buckthorn: A Multipurpose Medicinal Plant from Upper Himalayas. *Medicinal Plants*. 2019;1:399–426.
7. Nour V., Panaite T. D., Corbu A. R., Ropota M., Turcu R. P. Nutritional and Bioactive Compounds in Dried Sea-Buckthorn Pomace. *Erwerbs-Obstbau*. 2021;63:91–98. DOI: 10.1007/s10341-020-00539-1.
8. Kashyap P., Deepshikha, Riari C. S., Jindal N. Sea Buckthorn. Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits. 2020;2:201–225. DOI: 10.1007/978-981-15-7285-2_11.
9. Wanchao C., Pengjuan C., Huaying S., Weiqing G., Chunwu Y., Hao J., Bin F., Decheng S. Comparative effects of salt and alkali stresses on organic acid accumulation and ionic balance of sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Industrial Crops and Products*. 2009;30(3):351–358. DOI: 10.1016/j.indcrop.2009.06.007.
10. Skalli L. P. Sea buckthorn: A guide for amateur gardeners. Moscow: Publishing house "Niola-Press"; 2007. 240 p. (In Russ.)
11. Heyen S., Scholz-Böttcher B. M., Rabus R., Wilkes H. Method development and validation for the quantification of organic acids in microbial samples using anionic exchange solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2020;412:7491–7503. DOI: 10.1007/s00216-020-02883-3.
12. Raffo A., Paoletti F., Antonelli M. Changes in sugar, organic acid, flavonol and carotenoid composition during ripening of berries of three seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars. *European Food Research and Technology*. 2004;219:360–368. DOI: 10.1007/s00217-004-0984-4.
13. Christaki E. Hippophae Rhamnoides L. (Sea Buckthorn): a Potential Source of Nutraceuticals. *Food and Public Health*. 2012;2:69–72. DOI: 10.5923/j.fph.20120203.02.
14. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Samylina I. A. Research on the development of draft pharmacopoeial articles on the fruits and oil of sea buckthorn. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2016;3:126–133. (In Russ.)
15. Trineeva O. V., Safonova I. I., Slivkin A. I., Safonova E. F. Identification of organic acids by TLC in extracts from plant objects. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2013;6:896–901. (In Russ.)
16. Trineeva O. V., Safonova E. F., Slivkin A. I. Determination of fat-soluble vitamins in plant objects by TLC. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2014;14(1):144–149. (In Russ.)
17. Trineeva O. V. Development of Theoretical Approaches to Determination of the Main Groups of Biologically Active Substances of Medicinal Plant Raw Materials by TLC Method. *Drug development & registration*. 2021;10(2):69–79. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-69-79.
18. Trineeva O. V., Sinkevich A. V., Slivkin A. I., Safonova E. F. Study of the amino acid composition of extracts from plant objects. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2015;2:141–148. (In Russ.)
19. Trineeva O. V., Safonova I. I., Safonova E. F., Slivkin A. I. Determination of antioxidant activity of extracts from sea buckthorn fruits. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2012;2:266–268. (In Russ.)
20. Trineeva O. V., Safonova I. I., Safonova E. F., Slivkin A. I. Determination of flavonoids in the fruits of sea buckthorn. *Farmatsiya*. 2012;7:18–21. (In Russ.)
21. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Karlov P. M. Determination of extractive substances in some types of medicinal plant materials. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2013;2:220–224. (In Russ.)
22. Trineeva O. V., Safonova I. I., Safonova E. F., Slivkin A. I. Organic acids in the fruits of sea buckthorn. *Farmatsiya*. 2013;7:7–10. (In Russ.)
23. Mal'tseva A. A., Trineeva O. V., Chistyakova A. S., Brezhneva T. A., Slivkin A. I., Sorokina A. A. Thin layer chromatography in the analysis of flavonoids of plant objects. *Farmatsiya*. 2013;1:13–16. (In Russ.)

REFERENCES

1. Orlova A. A., Strugar J., Shtark O. Yu., Zhukov V. A., Luzhanin V. G., Povydysh M. N. Use of Metabolomic Approaches in Analysis of Medicinal Plants and Phytopreparations (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(1):97–105. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-97-105.
2. Trineeva O. V. Theoretical and methodological approaches to standardization and quality assessment of medicinal plant materials and oil extracts based on it. [Dissertation.] Moscow. 2017. 441 p. Available at: <https://www.dissercat.com/content/teoreticheskie-i-metodologicheskie-podkhody-k-standartizatsii-otsenke-kachestva-lekarstven>. Accessed: 14.06.2022. (In Russ.)
3. Trineeva O. V. Comprehensive study of the content and specific profile of biologically active substances in fruits of sea buckthorn: monograph. Voronezh: VSU Publishing House; 2016. 224 p. (In Russ.)
4. Kumar V., Sharma A., Bhardwaj R., Thukral A. T. Analysis of organic acids of tricarboxylic acid cycle in plants using GC-MS, and system modeling. *Journal of Analytical Science and Technology*. 2017;8:20. DOI: 10.1186/s40543-017-0129-6.

24. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Kaz'mina M. A. Study of the spectral characteristics of anthocyanin compounds of sea buckthorn. *Vestnik VGU. Ser. Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2014;3:188–122. (In Russ.)
25. Trineeva O. V., Safonova E. F., Slivkin A. I. Method for determining fat-soluble vitamins A, D₂, E and β -carotene in the presence of TLC. Patent RUS № 2530620. 10.10.2014. Available at: https://www.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet/ Accessed: 06.12.2022. (In Russ.)
26. Trineeva O. V., Sinkevich A. V., Safonova E. F., Slivkin A. I. Determination of amino acids in medicinal plant materials by TLC (on the example of stinging nettle leaves and fruits of sea buckthorn buckthorn). *Pharmaceutical chemistry journal*. 2015;49(5):37–41. (In Russ.)
27. Trineeva O. V., Safonova E. F., Slivkin A. I. Separation of fat soluble vitamins D2 and E in co-presence by TLC. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2015;15(1):42–50. (In Russ.)
28. Trineeva O. V., Samylin A. I., Slivkin A. I., Kaz'mina M. A. Development of a method for the quantitative determination of anthocyanin compounds in the fruits of sea buckthorn. *Farmatsiya*. 2015;7:9–7. (In Russ.)
29. Trineeva O. V., Slivkin A. I. Determination of calcium in the fruits of sea buckthorn (*Hippophaes rhamnoides* L.). *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*. 2015;1:101–106. (In Russ.)
30. Trineeva O. V., Shikunova N. S., Slivkin A. I. Studies on the determination of tannins in the fruits of sea buckthorn. *Farmatsiya*. 2016;3:16–21. (In Russ.)
31. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Safonova E. F. Choice of optimal parameters for the separation of amino acids in a thin layer of sorbent. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2016;50(1):47–52. (In Russ.)
32. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Safonova E. F. Separation and determination of fat-soluble vitamins A, D₂, E and β -carotene in the presence of a step by step elution in a thin layer of sorbent. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2016;50(2):51–56. (In Russ.)
33. Trineeva O. V., Safonova E. F., Safonova I. I., Slivkin A. I., Nazarova A. A., Sinkevich A. V. A method for the identification and quantification of ascorbic acid. Patent RUS № 2581456. 20.04.2016. Available at: https://www1.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet/ Accessed: 12.06.2022. (In Russ.)
34. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Safonova E. F., Nazarova A. A., Shikunova N. S. Method for the determination of polyphenolic compounds by stepwise elution in a thin layer of sorbent. Patent RUS № 2597661. 20.09.2016. Available at: https://www1.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet/ Accessed: 12.06.2022. (In Russ.)
35. Komarova N. V., Kamencev Ya. S. A practical guide to the use of Capillary capillary electrophoresis systems. St. Petersburg: LLC "Veda"; 2006. 212 p. (In Russ.)
36. Zhogova A. A., Perova I. B., Samylin A. I., Ramenskaya G. V., Eller K. I. Identification and quantitative determination of the main biologically active substances in motherwort herb by HPLC–mass spectrometry. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2014;48(7):461–466. DOI: 10.1007/s11094-014-1132-5.
37. Röscher D., Krumbein A., Mügge C. Structural investigations of flavonol glycosides from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) pomace by NMR spectroscopy and HPLC-ESI-MS(n). *J. Agric. Food Chem*. 2004;52(13):4039–4046.
38. Gutzeit D., Wray V., Winterhalter P. Preparative isolation and purification of flavonoids from sea buckthorn juice concentrate (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) by high-speed counter-current chromatography. *Chromatographia*. 2006;65(12):1–7.
39. Arimboor R., Arumughan C. HPLC-DAD-MS/MS profiling of antioxidant glycosides in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012;63(6):730–738.
40. Kim J.-S., Yu C.-Y., Kim M.-J. Pharmacological effect and component of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Plant Biotechnol*. 2010;37:47–56. DOI: 10.5010/JPB.2010.37.1.047.