

УДК 615.45; 615.074

ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВИТАМИННОМ СБОРЕ КРАПИВЫ И РЯБИНЫ (ОБЗОР)

В.Ю. Жилкина^{1*}, И.А. Ефимова¹, А.И. Марахова¹, О.Н. Донцова²

Резюме. В статье представлен химический состав лекарственного растительного сырья поливитаминного сбора. Рассмотрены методы идентификации биологически активных соединений в зависимости от их природы: качественные реакции, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография. Приведены методы количественного определения как отдельных компонентов метаболома крапивы и рябины, так и суммарного содержания биологически активных соединений.

Ключевые слова: поливитаминный сбор, плоды рябины, листья крапивы, флавоноиды, органические кислоты, дубильные вещества, витамины, кумарины, эфирное масло, микроэлементы, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, экстракция, титриметрия.

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENTS IN MIXTURE OF MULTIVITAMIN RAW MATERIAL OF FOLIA URTICAE AND FRUCTUS SORBI (REVIEW)

V.Yu. Zhilkina^{1*}, I.A. Yefimova¹, A.I. Marakhova¹, O.N. Dontsova²

Abstract. The article presents the chemical composition of medicinal plants the mixture of the multivitamin raw material. The methods of identification biologically active compounds, depending on their nature, such as the qualitative of the reaction, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography are considered. Methods of quantitative definition as separate components of a metabolom of folia Urticae and fructus Sorbi, and total content of biologically active connections are given.

Keywords: the mixture of the multivitamin raw material, fructus Sorbi, folia Urticae, flavonoids, organic acids, tannins, vitamins, coumarins, essential oils, microelements, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, extraction, redox titration method.

1 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

2 – ООО «Натива», 123001, Россия, г. Москва, Ермолаевский пер., 25

1 – Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – LLC «Nativa», 25, Ermolaevsky lane, Moscow, 123001, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: vera20891@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Богатые растительные ресурсы России, многовековые традиции использования в медицине лекарственного растительного сырья (ЛРС) и препаратов на его основе обуславливают интерес к фитотерапии и, соответственно, к фитопрепаратам. Лекарственные растения продолжают оставаться источником получения лекарственных препаратов, которые составляют около 40% номенклатуры лекарственных средств, выпускаемых в нашей стране [1].

В настоящее время из-за неблагоприятной экологической обстановки, неправильного питания, постоянных стрессов и многих других факторов современное население страдает снижением иммунитета и гиповитаминозами. Для решения этих проблем необходимо обеспечить комплексное воздействие на организм путем сочетания различных компонентов лекарственных расте-

ний. Характерной особенностью лекарственных растений является разнообразие химического состава, позволяющее одновременно воздействовать на многие системы организма, вовлеченные в патологический процесс [2, 3].

Номенклатура витаминных лекарственных растительных сборов весьма обширна. Одним из источников, богатых биологически активными соединениями (БАС), является сбор листьев крапивы и плодов рябины в равных отношениях (сбор поливитаминный). В настоящее время выпуск этого сбора прекращен ввиду расслаивания компонентов. Однако высокая эффективность данного сбора обуславливает интерес к его химическому составу и методам стандартизации с перспективой создания новой лекарственной формы на основе его компонентов.

Лекарственные средства, в том числе и ЛРС, включены в список продукции, подлежащей обязательной сертификации, что подразумевает

проведение испытаний (контроля качества). Обеспечение надлежащего качества ЛРС во многом зависит от правильной организации контроля, его действенности и эффективности, а также от уровня требований, заложенных в нормативную документацию (НД), и используемых методов анализа [2]. Нормативная документация на поливитаминный сбор не обновлялась с 2004 года, поэтому актуальным является изучение БАС сбора и методов стандартизации сбора по фармакологически активным компонентам.

Все вышесказанное делает актуальным проведение информационно-аналитических исследований по химическому составу листьев крапивы и плодов рябины, а также по методам их качественного и количественного определения.

ОБСУЖДЕНИЕ И РЕЗУЛЬТАТЫ

Химический состав компонентов поливитаминного сбора

Химический состав крапивы двудомной очень разнообразен, она содержит витамины, флавоноиды, дубильные вещества и другие соединения (таблица 1) [5–10].

На сегодняшний день в литературе имеются данные о том, что листья крапивы двудомной содержат от 15 до 19% минеральных веществ [11–14], которые представлены как макро- (K, Ca, Mg, Fe), так и микроэлементами (Mn, Cu, Zn, Co, Mo, Cr, Al, Ba, Se, Ni, Sr, Pb). При изучении золы листьев крапивы двудомной были найдены K_2O – 15,2%, CaO – 36,5%, Na_2O – 2,0%, MgO – 8,4%, Fe_2O_3 – 6,3%, P_2O_5 – 10,3%, SO_3 – 10,6%, Cl_2 – 3,3%, SiO_2 – 8,0% [11].

Ценность плодов рябины по сравнению с крапивой также высока. Они содержат аскорбиновую кислоту, витамины P, K, каротин, органические кислоты (лимонную, яблочную, аскорбиновую), пектиновые соединения, горькие вещества, спирт сорбит, различные сахара. Семена содержат гликозид амигдалин и жирное масло (таблица 2) [4, 18, 19].

Идентификация биологически активных соединений сбора витаминного

Качественный анализ компонентов сбора витаминного основан на идентификации основных групп БАС, оказывающих фармакологический эффект, в компонентах сбора.

Полученное из сбора извлечение подвергают качественному анализу, который в основном представлен тонкослойной хроматографией (ТСХ) с использованием высокоэффективных пластинок Sorbfil ПТСХ-1ВЭ размером 10×10 см с размером частиц сорбента 8–12 мкм. В литературе есть данные по применению этого метода для исследования БАС лекарственных растений и сырья, содержащих витамины: шиповника, чёрной смородины, земляники лесной, ка-

лендулы лекарственной, облепихи крушиновидной, рябины обыкновенной, крапивы двудомной, калины обыкновенной, липы и душицы, а также сбора, состоящего из плодов шиповника, плодов рябины обыкновенной, плодов облепихи, листьев крапивы и травы мелисы лекарственной.

Таблица 1.

Химический состав листьев крапивы

Название вещества	Содержание, %
Азотсодержащие соединения (ацетилхолин, гистамин, 5-гидрокситриптамин, холин, бетаин)	0,01–0,03
Алкалоиды: • никотин	0,02–0,30
Аминокислоты Незаменимые аминокислоты: • лейцин • лизин • аргинин • фенилаланин • метионин • изолейцин • валин • треонин • гистидин	1,50 1,10 1,10 0,90 0,50 0,80 1,00 0,50 0,60
Заменимые аминокислоты: • аспарагиновая кислота • серин • глютаминовая кислота • пролин • глицин • аланин • цистеин • тирозин	1,60 0,80 2,20 0,90 1,00 1,10 0,30 0,60
Белки	25,0–30,0
Витамины: • филлохинон (витамин K_1) • аскорбиновая кислота (витамин C) • токоферол (витамин E) • никотиновая кислота (витамин PP) • тиамин (витамин B_1) • пантотеновая кислота (витамин B_3) • фолиевая кислота	0,003 0,150 0,004 0,001 0,001 0,001 0,0002
Гликозид уртицин	0,09
Дубильные вещества	2,5–3,1
Жирное масло	2,0
Каротиноиды: • β -каротин* • гидрокси- α -каротин • лютеоксантин • лютеин-эпоксид • виолоксантин • ксантофилл • ксантофилл-эпоксид и др.	0,57 0,06 0,0009 0,010 0,010 0,015
Клетчатка	20,0
Кумарины: • скополетин • кумарин • умбеллиферон	0,10
Лигнин	11,0
Органические кислоты: галловая, эллаговая, лимонная, линолевая, масляная, молочная, муравьиная, кофейная, п-кумаровая, хинная, хлорогеновая, щавелевая, феруловая, янтарная	2,0–5,0

Окончание табл. 1

Название вещества	Содержание, %
Минеральные элементы (мг/г):	
• калий	2,0
• кальций	1,0–2,0
• магний	0,5–1,0
• натрий	0,3–0,4
• железо	0,01
• цинк	0,003
• хром	
• медь	0,001
• алюминий	
• марганец	0,01
• кобальт	0,00019
• молибден	
• барий	
• селен	
• никель	0,00001
• стронций	
• свинец	
• бор	
Углеводы:	25,0
• крахмал	
• глюкоза	
• сахароза	
• фруктоза	
Флавоноиды:	1,90
• кверцетин	
• диосметин	
• лютеолин	0,65
• рутин	
• кемпферол	
• гиперозид	
• цинарозид	
• 3-О-метилкверцетин	
• 5-О-метиллютеолин	
Хлорофилл**:	2,0–3,9
• α-хлорофилл	
• β-хлорофилл	
Эфирное масло	следы

Примечание: *содержание каротина в листьях крапивы в период цветения составляет 48 мг% (в пересчете на абсолютно сухое вещество), в фазе появления семян – 46,7 мг%, в фазе созревания семян – 34,8 мг%. В.А. Сафинов установил, что содержание каротина в листьях крапивы двудомной, собранной в мае, составляет 60,6 мг%.

** – содержание α-хлорофилла составляет 75%, а β-хлорофилла – 25%.

Исследование фенольных соединений проводится в системе растворителей «этилацетат – метилэтилкетон – муравьиная кислота – уксусная кислота – вода» (50:30:7:3:10), проявитель – 5% раствор фосфорномолибденовой кислоты в 95% этаноле. Результат проявления – 7 зон, идентифицированных со стандартами: $R_f \approx 0,13$ (танин), $R_f \approx 0,57$ (рутин), $R_f \approx 0,69$ (хлорогеновая кислота), $R_f \approx 0,82$ (галловая кислота), $R_f \approx 0,95$ (розмариновая кислота) [3].

Флавоноиды определяли в системе растворителей «этилацетат – метилэтилкетон – муравьиная кислота – вода» (50:30:10:10), в качестве стандартов используют 5 веществ, R_f которых соответствует: рутину (0,45), гиперозиду (0,68), лютеолин-7-гликозиду (0,74), лютеолину (0,82), кверцетину (0,87) [2].

Таблица 2.

Химический состав плодов рябины	
Название вещества	Содержание, %
Кислоты:	3,35
• аскорбиновая	0,121
• яблочная	до 2,8
Сахара:	
• глюкоза	до 3,8
• фруктоза	до 4,3
• сахароза	0,7
Витамины:	
• Р (кверцетин, изокверцетин, рутин)	2,6
• каротиноиды	0,027
• токоферол	0,0044
• рибофлавин	0,008
• антоцианы (в том числе цианидин)	0,795
Дубильные вещества	0,15–0,44
Флавоноиды	0,193
Полисахариды	3,32
Пектиновые вещества	2,0
Шестиатомный спирт сорбит	25,3
Пектиновые вещества	0,65–2,75
Редуцирующие вещества	4,20–6,05
В семенах:	
• амигдалин	до 22
• жирное масло	до 22

При идентификации БАС в крапиве двудомной флавоноиды обнаруживали в этанольной фракции, подвижная фаза – «н-бутанол – уксусная кислота – вода» (4:1:2). В качестве детекторов применяли: 5% спиртовой раствор алюминия хлорида, для сравнения использовали стандартные образцы флавоноидов, по собственной флуоресценции веществ в УФ-свете (при длинах волн 254 и 366 нм). Флавоноиды в УФ-свете обладают собственной флуоресценцией (от желтой, желто-зеленой до коричневой) [5].

Обнаружение оксикоричных и фенолкарбоновых кислот в листьях крапивы проводили методом ТСХ в этилацетатной фракции. Подвижная фаза – система растворителей «хлороформ – уксусная кислота ледяная» (3:1). Детектирование зон проводили по собственной флуоресценции в УФ-свете и после обработки хромогенными реактивами (аммиаком, 5% спиртовым раствором натрия гидроксида и раствором бромтимолового синего), сравнивая с соответствующими стандартными образцами. Оксикоричные и фенолкарбоновые кислоты обнаруживали по ярко-голубой, зеленовато-голубой, фиолетовой флуоресценции, которая становилась интенсивнее после обработки проявляющими реактивами. В листьях крапивы двудомной установлено присутствие кофейной ($R_f \approx 0,23$, светло-голубая флуоресценция) и хлорогеновой ($R_f \approx 0,55$, голубая флуоресценция) кислот [5].

При определении токоферолов экстракты элюируются смесью растворителей «петролейный эфир – диэтиловый эфир – уксусная кислота» (40:10:0,5). В ка-

честве стандарта используется раствор α -токоферола. Проявитель – реактив Эммери – Энгеля (α , α -диперидил – FeCl_3). Результат обнаружения – токоферолы – представлены в виде розовых пятен на белом фоне ($R_f=0,75-0,81$) [20, 21].

Стерины детектируют в системе растворителей «гексан – диэтиловый эфир» (1:1), идентифицируется β -фитостерин – зона, окрашенная в синий цвет, с $R_f \approx 0,47$ [3].

Для идентификации свободных сахаров применяют ТСХ в системе «пиридин – этилацетат – вода» (20:60:40). Результат хроматографирования представлен 8 красно-фиолетовыми зонами. Идентифицированы: $R_f \approx 0,26$ (галактоза), $R_f \approx 0,30$ (глюкоза), $R_f \approx 0,32$ (фруктоза), $R_f \approx 0,74$ (рамноза) [3].

Свободные аминокислоты анализируют в системе «*n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода» (40:40:10). Проявитель – 0,2% раствор нингидрина. Результат хроматографирования – 9 окрашенных зон. Идентифицированы: $R_f \approx 0,20$ (аспарагиновая кислота), $R_f \approx 0,48$ (глицин), $R_f \approx 0,55$ (глутаминовая кислота); $R_f \approx 0,67$ (метионин), $R_f \approx 0,70$ (фенилаланин), $R_f \approx 0,72$ (триптофан) [3].

Детекцию аскорбиновой кислоты проводят в УФ-свете при длине волны 254 нм, результат детектирования – фиолетовое пятно ($R_f \approx 0,5$); при обработке хроматограммы раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия результат – белое пятно ($R_f \approx 0,5$) на розовом фоне; при обработке хроматограммы раствором фосфорно-молибденовой кислоты результат – синее пятно на белом фоне ($R_f \approx 0,5$) [5].

Для подтверждения присутствия скополетина (кумарина) в листьях крапивы двудомной применяли ТСХ в системе растворителей «толуол – эфир диэтиловый» (40:60), насыщенной раствором 10% уксусной кислоты. Детектор – 20% раствор аммиака, результат в УФ-свете (длина волны 360 нм) – синяя флуоресцирующая полоса ($R_f \approx 0,25$) [5].

Для получения более полных данных о составе БАС в сборе витаминном применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Этот метод успешно использовали при анализе сбора, состоящего из плодов шиповника, плодов рябины обыкновенной, плодов облепихи, листьев крапивы и травы мелисы лекарственной [3].

Для идентификации фенольных соединений в сборе в качестве подвижной фазы использовали систему «метанол – вода – фосфорная кислота (конц.)» (40:60:0,5). Установлено, что метод ВЭЖХ позволяет идентифицировать 18 соединений, в том числе такие, как аскорбиновая, галловая, цикориевая, хлорогеновая, кофейная, феруловая, неохлорогеновая, коричная, розмариновая кислоты, эпигаллокатехина галлат (ЭГКГ), дикумарин, апигенин, эпикатехин, лютеолин-7-гликозид, гесперидин, изорамнетин, рутин, лютеолин (рисунок 1) [3].

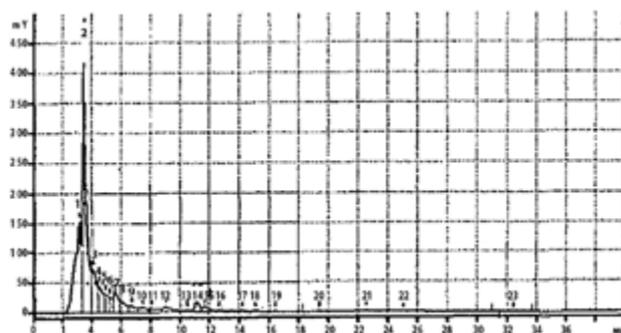


Рисунок 1. ВЭЖХ основных соединений в сборе витаминном (плоды шиповника, плоды рябины, плоды облепихи, листья крапивы, трава мелисы лекарственной)

1 – аскорбиновая кислота, 2 – галловая кислота, 3 – ЭГКГ, 4 – дикумарин, 5 – цикориевая кислота, 6 – не идентифицировано, 7 – хлорогеновая кислота, 9 – кофейная кислота, 10 – феруловая кислота, 11 – не идентифицировано, 12 – не идентифицировано, 13 – неохлорогеновая кислота, 14 – апигенин, 15 – эпикатехин, 16 – лютеолин-7-гликозид, 17 – гесперидин, 18 – изорамнетин, 19 – рутин, 20 – лютеолин, 21 – коричная кислота, 22 – не идентифицировано, 23 – розмариновая кислота

С применением метода ВЭЖХ проведена идентификация БАС, относящихся к следующим группам:

- органические кислоты, подвижная фаза – система «0,005 М раствор серной кислоты», результат – 9 органических кислот: щавелевая, лимонная, винная, аскорбиновая, яблочная, янтарная, фумаровая, хлорогеновая, розмариновая;
- сахара, подвижная фаза – «0,01 М раствор серной кислоты», результат детектирования – свободные сахара: мальтоза, глюкоза, фруктоза и рамноза, преобладающими компонентами являются глюкоза и рамноза [3].

Спектрофотометрический метод также применяют для идентификации БАС. Он позволяет провести качественный анализ некоторых групп соединений, содержащихся как в исходном растительном сырье, так и в экстракте из этого сырья.

В литературе встречаются результаты применения этого метода при анализе душицы обыкновенной, липы сердцевидной и крапивы двудомной. Фенольные соединения, в том числе флавоноиды, обнаруживаются при длине волны 250–270, 350–390 нм, оксикоричные кислоты – 310–325 нм, каротиноиды – 430–480 нм, хлорофиллы α и β – 640–670, 410–430 нм (рисунок 2) [20].

При изучении сухого экстракта из плодов рябины сибирской определение кетосахаров проводили по реакции Селиванова [25]: нагревание с хлороводородной кислотой в присутствии резорцина, приводящее к появлению продуктов, окрашенных в красный цвет, альдозы дают более слабую окраску только при длительном нагревании [26].

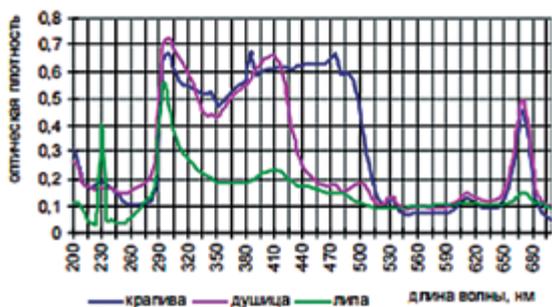


Рисунок 2. Спектры поглощения экстрактов липы, крапивы и душицы в органических растворителях (гексан, ацетон)

Для разделения фенолов применяли метод жидкостной колоночной хроматографии на катионите [27]. Хроматографирование проводили при комнатной температуре, длина колонки – 10 см, диаметр – 10 мм, элюент – 0,2 н. раствор ацетата натрия, скорость элюирования – 0,5 мл/мин, отбор проб проводили по 10 мл, детектировали фотометрически с 4-аминоантипирином при 490 нм [28].

Европейская Фармакопея для качественного обнаружения скополетина и хлорогеновой кислоты в листьях крапивы двудомной предлагает проводить тонкослойную хроматографию в системе растворителей «ангидрид муравьиной кислоты – вода – метанол – этилацетат» (2,5:4:4:50). Детектирование проводят путем нагревания пластинки при 100 °С в течение 5 мин. Результат представлен последовательностью зон на хроматограмме, полученной в результате исследования раствора и растворов сравнения. Слабые синие или желтые флуоресцентные зоны могут находиться в нижней части хроматограммы, полученной с исследуемым раствором (таблица 3).

По методике частной статьи ГФ XI, частной фармакопейной статьи «Листья толокнянки» проводили качественный анализ на дубильные вещества. Результат представлен появлением чёрно-синего окрашивания и осадка, что свидетельствует о присутствии дубильных веществ.

Количественное определение действующих веществ поливитаминного сбора

Определение содержания свободных органических кислот проводят по стандартной методике в соответствии с требованиями ГФ XI, частной фармакопейной статьи «Плоды шиповника» [5, 29].

Содержание аскорбиновой кислоты при исследовании листьев крапивы двудомной и плодов рябины определяют по методике частной фармакопейной статьи «Плоды шиповника» ГФ XI. При анализе субстанции и препаратов аскорбиновой кислоты используют методики йодатометрии и йодометрии и модифици-

рованные методы для анализа листьев крапивы [30–32]. Количественное определение аскорбиновой кислоты в листьях крапивы также проводят гравиметрическим методом по стандартной методике с краской Тильманса [21], но он занимает много времени и очень трудоёмкий. В основном используют метод йодометрии, так как он наиболее легкий в исполнении и воспроизводимый.

Таблица 3.

Результаты тонкослойной хроматографии (по Европейской Фармакопее)

№ пятна	Флуоресценция в УФ-свете		
1	Две красные зоны	1	
2	Интенсивная синяя флуоресцирующая зона (скополетин)	2	
3	Синяя флуоресцирующая зона	3	
4	Синяя флуоресцирующая зона (хлорогеновая кислота)	4	
5	Коричневато-желтая зона	5	
		Исследуемый раствор	Раствор сравнения (скополетин и хлорогеновая кислота)

Представляет интерес количественное содержание гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и хлорофилла в листьях крапивы. Хлорофилл обуславливает характерную зеленую окраску листьев крапивы и обладает определенными фармакологическими свойствами. Показатель содержания гидроксикоричных кислот введен в Европейскую Фармакопею для стандартизации листьев крапивы двудомной. Для подтверждения подлинности сырья проводят ТСХ со свидетелем – хлорогеновой кислотой.

Содержание данных веществ определяют по методике, разработанной Сибирским государственным медицинским университетом совместно с Первым Московским государственным медицинским университетом имени И.М. Сеченова [33]. Способ позволяет одновременно проводить определение подлинности и количественного содержания биологически активных веществ в листьях крапивы двудомной методом прямой спектрофотометрии и стандартизировать лекарственное растительное сырье и лекарственные препараты по содержанию хлорофиллов и гидроксикоричных кислот при совместном присутствии. Данный метод отличается доступностью, простотой выполнения, экономичностью и малой ошибкой определения.

Количественное содержание дубильных веществ в листьях крапивы двудомной и плодах рябины определяют по стандартной методике в соответствии с тре-

бованиями ГФ XI (статья «Определение содержания дубильных веществ в растительном лекарственном сырье»).

Для определения содержания полисахаридов и восстанавливающих моносахаров в лекарственном растительном сырье в настоящее время разработано множество физических, химических и физико-химических методов.

Сумму полисахаридов определяют по методике, приведенной в статье ГФ XI «Листья подорожника», методом гравиметрии.

Определение моносахаров в листьях крапивы двудомной осуществляют спектрофотометрическими методами, фиксируя измерение оптической плотности окрашенных растворов, образуемых при взаимодействии сахаров с соответствующим реактивом (антроновый, орциновый) или пикриновой кислотой [5, 18]. Содержание сахаров в плодах рябины также определяют по ГОСТ 8756.13-87 (титриметрия). Данный метод основан на способности карбонильных групп сахаров восстанавливать в щелочной среде оксид меди (II) до оксида меди (I) [34].

Наиболее доступным и простым в исполнении является гравиметрический метод, основанный на осаждении полисахаридов из водного извлечения 96% этанолом с последующим взвешиванием сухого остатка.

Определение количественного содержания пектиновых веществ в плодах рябины проводят в соответствии с методикой по ГОСТ 29059-91. Данный метод основан на титровании щелочью предварительно выделенных и подготовленных пектиновых веществ до и после гидролиза. Результаты титрования пропорциональны числу свободных и этерифицированных карбоксильных групп и при умножении на соответствующие эквиваленты дают содержание полиуронидов в пектиновых веществах продукта [34].

Сумму флавоноидов в сырье крапивы двудомной количественно определяют по методике, основанной на их способности образовывать окрашенный комплекс со спиртовым раствором алюминия хлорида, который вызывает батохромный сдвиг в длинноволновую область поглощения и при этом даёт основной максимум поглощения при длине волны 411 ± 2 нм [18, 35].

Для изучения аминокислотного состава растений используют аминокислотные анализаторы, позволяющие определять содержание каждой аминокислоты в исследуемом объекте, находящейся как в свободном, так и в связанном состоянии.

Количественное содержание аминокислот в траве крапивы двудомной проводят на аминокислотном анализаторе ААА-339 (Чехия) в стандартных условиях, используемых обычно для разделения белковых гидролизатов [36]. Внутренний стабилизатор – смесь из 12 аминокислот. Количественную оценку осуществляют по площади пиков удержания идентифицированных аминокислот [37].

Количественное определение кальция (Ca) и магния (Mg). Для определения кальция существует большой выбор методов, как химических, так и физико-химических.

Гравиметрическое определение кальция чаще всего проводят с применением органических осадителей, особенно оксалатов. В некоторых случаях используют и неорганические осадители, в частности серную кислоту и ее соли.

Для титриметрического определения кальция наиболее часто используется комплексометрия. С ионами кальция комплексон III образует прочное, растворимое в воде бесцветное соединение состава 1:1.

Комплексометрическое титрование кальция проводят в щелочной среде, при $pH=10$ определяют сумму кальция и магния, а при $pH=12,5$ – кальций в присутствии магния. Сумму кальция и магния также можно определять комплексометрически с индикатором эриохромом черным Т (Шварценбах и Бидерман, 1460, 1461). Также предложено титрование с индикатором кислотным хромовым темно-синим. В отличие от эриохрома черного Т кислотный хром темно-синий позволяет отчетливо фиксировать точку эквивалентности ($pH 10$) при определении кальция при отсутствии магния [394, 488] или при низких содержаниях последнего.

Для отдельного комплексометрического определения кальция и магния используют различие значений pH , при которых осаждаются их гидроксиды. Осаждение магния в виде гидроксида начинается при $pH=11$. Определение кальция в присутствии магния обычно проводят при $pH=12,5$, когда ионы магния практически полностью осаждаются в виде гидроксида.

При определении кальция методом потенциометрического титрования в качестве титрантов чаще всего используют комплексон III и соли щавелевой кислоты. Находят применение и другие комплексоны, а также соли фосфорной и фтористоводородной кислот, ферроцианид калия. Возможно прямое потенциометрическое титрование кальция комплексонами III с различными индикаторными электродами (мембранные, серебряные). С мембранными электродами кальций можно оттитровать в присутствии магния при $pH=12$, а с серебряным электродом – при $pH=9-10$.

По литературным данным, большинство методов амперометрического определения кальция основано на использовании в качестве титранта раствора комплексона III. Для индикации конечной точки титрования используют или «амперометрические индикаторы», в качестве которых применяют активные на электродах катионы, образующие с титрантом менее прочные комплексные соединения, чем кальций, или анодную волну окисления ртути в присутствии избытка комплексона III, также конечную точку определяют по диффузионному току восстановления и окисления титранта.

Благодаря тому, что кальций образует с небольшим числом реагентов окрашенные соединения, возможно его определение фотометрическими методами. Наибольший интерес представляют прямые методы, в которых используются оптические свойства окрашенных комплексов кальция с органическими реагентами, например с мурексидом. При анализе биологических объектов (кровь, моча) применяют нефелометрический метод определения кальция с олеатным реактивом и флуоресцентное определение кальция с флуорексоном. Также радиоактивационное определение кальция по изотопу ^{49}Ca используют при анализе биологических материалов.

Для определения кальция в различных объектах также подходят и спектральные методы. В их основе лежит использование внутренних стандартов, открываемый минимум – 0,02–0,03 мкг. Определение применимо для биологических объектов, ЛРС, почв и т.д.

Атомно-абсорбционная спектроскопия также применима для определения кальция, хотя затруднения создает возможная ионизация определяемого элемента [38].

Для определения содержания эфирного масла в плодах рябины используют метод 1 (метод Гинзберга) ГФ XI.

Методика количественного определения каротина. Согласно литературным данным, определение каротина в плодах рябины основано на его экстракции органическими растворителями (ацетон, бензин), очистке сопутствующих веществ методом хроматографической адсорбции. Количественно каротин в очищенном растворе определяют колориметрически путем сравнения интенсивности желтой окраски раствора с окраской раствора азобензола или раствора дихромата калия, который стандартизован по чистому каротину [39].

Определение каротиноидов в листьях крапивы проводят по методике, разработанной Сибирским государственным медицинским университетом совместно с Первым Московским государственным медицинским университетом имени И.М. Сеченова, которая была описана ранее [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные информационно-аналитические исследования показали, что методы идентификации и количественного определения БАС поливитаминного сбора весьма разнообразны. Для изучения химического состава наиболее часто используется метод ВЭЖХ, тогда как для стандартизации сырья обычно применяют спектрофотометрические и титриметрические методы. Это обусловлено тем, что, как правило, фармакологический эффект лекарственных растительных препаратов связан с действием суммы БАС. Следовательно, и стандартизацию в этом случае рационально проводить по сумме веществ. Поливитаминный

сбор богат разнообразными БАС, а также минеральными компонентами. В случае разработки настойки или жидкого экстракта из компонентов поливитаминного сбора можно рекомендовать стандартизацию данной лекарственной формы по содержанию кислоты аскорбиновой, например, йодометрическим титрованием, кальция – методом потенциометрии с кальцийселективным электродом и суммы флавоноидов – методом дифференциальной спектрофотометрии (таблица 4).

Таблица 4.

Количественное содержание БАС в компонентах сбора витаминного, полученное разными методами определения

Методика	Наименование БАС/вещества	Количественное содержание	
		Крапива	Рябина
ГФ XI	Органические кислоты	1,5031	1,2700
ГФ XI	Аскорбиновая кислота	0,0301	0,5200
Йодатометрия		0,0364	–
Йодометрия		0,0343	–
Гравиметрический метод с краской Тильманса		–	0,1853
СФ-метрия	Гидроксикоричные кислоты	2,4942	–
СФ-метрия	Хлорофилл	6,5015	–
ГФ XI	Дубильные вещества	3,5865	2,3700
ГФ XI	Полисахариды	5,6232	3,3200
СФ-метрия		5,3400	5,3400
ГОСТ 8756.13-87		–	5,0400
ГОСТ 29059-91	Пектиновые вещества	–	2,2900
Со спиртовым раствором алюминия хлорида	Флавоноиды	1,0879	–
Аминокислотные анализаторы	Свободные аминокислоты	0,5925	0,6700
Комплексонометрия	Ca	2,9655 (с мурексидом) 3,1278 (с хромовым темно-синим) 3,0739 (с эриохромом черным Т)	0,0020 (справочные данные)
	Mg	0,2266 (с пирокатехиновым фиолетовым)	0,3310 (справочные данные)
Потенциометрия	Ca	3,0111	–
ГФ XI	Эфирное масло	–	0,11
Справочная методика	Каротин	–	0,027
Дробная экстракция		0,2098	–

ЛИТЕРАТУРА

- Н.Г. Валиева. Лекарственные растения – источники биологически активных веществ // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2010. № 203. С. 44–48.
- И.А. Самылина, А.А. Сорокина, Н.В. Пятигорская. Лекарственные растительные сборы // Фарматека. 2010. № 10. С. 80–82.
- В.О. Решетова. Разработка и стандартизация сбора витаминного и экстракта сухого на его основе: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02. – Москва. 2013. 185 с.
- С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. Справочник по лекарственным растениям (фитотерапия). – М.: Недра. 1987. 458 с.
- Т.А. Скалозубова. Изучение метаболома сырья и лекарственных форм крапивы двудомной: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02. – Москва. 2013. 129 с.
- F. Bucar, D. Britzmann, D. Streit et al. LC-PDA-MS-profiles of phenolic compounds in extracts of aerial parts of *Urtica species* // *Planta Med.* 2006. V. 72(11). P. 983.
- J. Schomakers, D. Bolbach, H. Pagels. *Urticae folium* // *Deutsch. Apoth. Zeit.* 1998. V. 135(7), P. 578–584.
- N.S. Kavtaradze. Anthocyan glucosides from *Urtica dioica* // *Chem. Nat. Comp.* 2003. V. 39(3). P. 314.
- N.S. Kavtaradze, M.D. Alaniya, N. Aneli. Chemical Components of *Urtica dioica* Growing in Georgia // *Chem. Nat. Comp.* 2001. V. 37(3). P. 287.
- О.В. Сошникова. Изучение химического состава и биологической активности растений рода крапива: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02. – Курск. 2006. 16 с.
- П.А. Кюосев. Полный справочник лекарственных растений. – М.: Эксмо-пресс, 2000. 992 с.
- Л.П. Лежнева. Фармакотехнические исследования по расширению области применения крапивы двудомной в медицине: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук: 15.00.02. – Пятигорск. 1986. 23 с.
- С.А. Листов. О содержании тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье // *Фармация.* 1990. № 2. С. 19–25.
- С.А. Листов. Содержание тяжелых металлов в настоях и отварах из лекарственного растительного сырья // *Фармация.* 1992. № 4. С. 37–41.
- P.N. Krstic-Pavlovic, R. Dzamic, L. Le-maic. Zastupljenost adstrin-gentnih I mineralnih materija u listu samonikle koprive (*Urtica dioica* L.) raznih prirodnih stanista // *Agrohemijska.* 1985. V. 3. P. 191–198.
- S. Kulevanova, T. Ristov. Determination of some macroelements in propolis by atomic absorption spectrometry // *Acta Pharm.* 1995. V. 45(3). P. 481–486.
- В.С. Пецуха, В.П. Чебыкин, Г.М. Федосеева. Изучение элементного состава крапивы коноплево́й // *Сиб. мед. журн.* 2008. № 6. С. 88–90.
- А.С. Аврач. Сравнительное изучение биологически активных веществ плодов (боярышника, рябины, шиповника, малины) различных способов консервации и лекарственных препаратов на их основе: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02. – Москва. 2015. 145 с.
- И.А. Сафонова. Рябина обыкновенная. Химический состав и аспекты применения в медицине и народном хозяйстве // Труды 4-й международной научной конференции «Актуальные проблемы регионоведения», 28–29 декабря 2009 г. – Курск: VIP, 2009. С. 183–188.
- С.М. Лупинская, С.В. Орехова, О.Г. Васильева. Изучение биологически активных веществ липы, крапивы и душицы и сывороточных экстрактов на их основе // *Химия растительного сырья.* 2010. № 3. С. 143–145.
- В.А. Тутельян, Б.П. Суханов. Биологически активные добавки к пище: современные подходы к обеспечению качества и безопасности // *Вопросы питания.* 2008. № 4. С. 4–15.
- И.М. Коренская, Н.П. Ивановская, О.А. Колосова. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырьё, содержащие витамины, полисахариды, жирные масла. – Воронеж: ВГУ, 2008. 32 с.
- Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье // МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. 398 с.
- Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье // МЗ СССР. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. 1080 с.
- Ю.Б. Филиппович. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение, 1982. 305 с.
- Г.Л. Рыжова. Получение сухого экстракта из плодов рябины сибирской и изучение его химического состава // *Химия растительного сырья.* 1997. № 2. С. 37–41.
- В.А. Даванков, Дж. Навратил, Х. Уолтан. Лигандообменная хроматография. – М.: Мир, 1989. 296 с.
- Р. Полюдек-Фабини, Т. Бейрил. Органический анализ. – Л.: Химия. 1981. 622 с.
- О.В. Тринеева. Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной // *Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация.* 2013. № 2. С. 215–219.
- А. Артемов. Крапива исцеляющая и омолаживающая. – СПб.: Дила, 2001. 160 с.
- Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. – Л.: Наука. 1976. 248 с.
- Г.К. Барашков. Основы медицинской бионеорганики. – М.: ЧеРо, 2007. 516 с.
- О.В. Тринеева, А.И. Сливкин, Е.Ф. Сафонова. Определение гидроксикоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*Urtica Dioica* L.) // *Химия растительного сырья.* 2015. № 3. С. 105–110.
- Л.А. Остроумов, О.В. Кригер, К.В. Карчин, М.П. Щетинин. Исследование химического состава плодов рябины обыкновенной (*Sorbus Aucuparia*), произрастающей в Кемеровской области // *Техника и технология пищевых производств.* 2014. № 4. С. 38–41.
- Т.А. Скалозубова, А.М. Марахова, А.А. Сорокина. Содержание суммы флавоноидов в листьях и настое крапивы двудомной // XXI Московская международная гомеопатическая конференция «Развитие гомеопатического метода в современной медицине»: тезисы докладов. Москва, 2011 г. – М.: ГЦ «Здоровье и реабилитация». 2011. С. 196–198.
- Y.R. Benson. Some recent advances in amino acid sequence analysis // *Instrumentation in amino acid sequence analysis.* – London; New-York; San-Francisco. 1975. P. 1–40.
- В.Я. Яцюк, Г.А. Чалый, О.В. Сошникова. Биологически активные вещества травы крапивы двудомной // *Российский медико-биологический вестник имени академика Павлова И.П.* 2006. № 1. С. 25–29.
- А.А. Сорокина, Т.А. Скалозубова, А.И. Марахова. Определение кальция и магния в листьях и настое крапивы двудомной // *Фармация.* 2013. № 2. С. 5–8.
- Е.А. Ладыгина, Л.Н. Сафронич, В.Э. Отрященко и др. Химический анализ лекарственных растений. – М.: Высшая Школа. 1983. 176 с.