

СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ВИТАМИННЫХ СБОРАХ

В.Ю. Жилкина¹, А.И. Марахова^{1*}, доктор фармацевтических наук,
А.А. Сорокина², доктор фармацевтических наук, профессор,
Е.В. Сергунова², доктор фармацевтических наук

¹Российский университет дружбы народов, Институт биохимической технологии и нанотехнологии;
Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6;

²Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет);

Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

Введение. Витаминные сборы широко используются в терапии различных заболеваний. Основной лекарственной формой сборов являются настои или отвары. Помимо витаминов, лекарственное растительное сырье – компоненты сбора – содержат флавоноиды.

Цель – разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в витаминных сборах.

Материал и методы. Объекты исследования – модельные образцы витаминных сборов №1 и №2, промышленные образцы плодов рябины обыкновенной, шиповника и смородины черной. Сумму флавоноидов определяли спектрофотометрически.

Результаты. Для образования комплекса флавоноидов витаминных сборов с алюминия хлоридом выявлены: оптимальное значение pH – 1,5–2,3, а также оптимальный экстрагент – 95% этиловый спирт. Установлено, что в плодах смородины черной и рябины обыкновенной пересчет суммы флавоноидов следует проводить на рутин, а в плодах шиповника – на лютеолин.

Заключение. Разработана спектрофотометрическая методика определения суммы флавоноидов в витаминных сборах №1 и №2 и их компонентах: плодах шиповника, рябины обыкновенной и смородины черной. Показано, что стандартизация витаминных сборов №1 и №2 и их компонентов по показателю «содержание суммы флавоноидов» не рациональна.

Ключевые слова: витаминные сборы, флавоноиды, спектрофотометрия.

Для цитирования: Жилкина В.Ю., Марахова А.И., Сорокина А.А., Сергунова Е.В. Содержание флавоноидов в витаминных сборах. Фармация. 2018; 67 (1): 14–18. DOI: 10.29296/25419218-2018-01-03

*E-mail: agentcat85@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

В практике фитотерапии широко используются сборы – смеси нескольких видов лекарственного растительного сырья (ЛРС). Комплекс биологически активных веществ ЛРС обуславливает высокую терапевтическую активность за счет большей биологической доступности. Сборы достаточно редко вызывают индивидуальную непереносимость и проявления лекарственной болезни. Приготовление таких лекарственных форм, как настои или отвары, характеризуется простотой. Стоимость сборов доступна для всех слоев населения.

В Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных к медицинскому применению в РФ, входит около 40 сборов. Среди них группа витаминных сборов – *Species vitaminicae*, в

состав которых входит ЛРС, содержащее различные витамины. Витаминный сбор №1 состоит из плодов шиповника и плодов черной смородины, витаминный сбор №2 – из плодов шиповника и плодов рябины обыкновенной в соотношении 1:1 [1].

Биологически активные соединения (БАС) витаминных сборов представлены в основном витаминами (аскорбиновая кислота, витамины группы В, каротиноиды, витамины Е, К), органическими кислотами и флавоноидами [2]. Основное соединение, которое содержится в значительном количестве во всех витаминных сборах, – аскорбиновая кислота (витамин С). Помимо собственной фармакологической активности, аскорбиновой кислоте присуще свойство повышения биодоступности флавоноидов и проявления ими капилляроукрепляющего действия [3]. Благоприятное влияние препаратов шиповника,

смородины черной и рябины обыкновенной на проницаемость сосудов связано с содержанием флавоноидов: рутина, кверцетина, мирицитина, изорамнетина, кемпферола, катехинов, лейкоцианов [4, 5]. Этой группой БАС обусловлено также противовоспалительное, желчегонное, диуретическое действие [4, 6].

Так как флавоноиды в витаминных сборах обуславливают ряд фармакологических эффектов, целесообразно производить стандартизацию витаминных сборов по содержанию этой группы БАВ.

Цель настоящего исследования – разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в витаминных сборах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили модельные образцы витаминных сборов №1 и №2, изготовленные в лабораторных условиях из промышленных образцов плодов рябины обыкновенной, плодов шиповника и плодов смородины черной (производство ОАО «Красногорсклексредства» и ЗАО «Здоровье»). Сборы готовили в соответствии с фармакопейной методикой ГФ РФ XIII [7]. Определение флавоноидов проводили на спектрофотометре «Lambda-950» PerkinElmer.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При разработке спектрофотометрической методики количественного определения флавоноидов в витаминных сборах рассматривали такие факторы, как выбор экстрагента – водно-спиртовой смеси с различной концентрацией этилового спирта и pH реакционной смеси флавоноидов с алюминия хлоридом. Извлечения получали водно-спиртовыми смесями с концентрацией спирта 95, 70, 50, 40%.

Значение pH важно для проведения реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом. При правильном подборе концентрации кислоты возможно повышение селективности реакции по кето-

группе кольца С и гидроксильной группе кольца А, без участия соседних гидроксильных групп кольца В и мешающего влияния сопутствующих соединений, таких как простые фенолы, гидроксикоричные кислоты и фенолокислоты [8]. При анализе обзорных спектров поглощения извлечений из плодов рябины, смородины и шиповника в диапазоне длин волн 250–600 нм (рис. 1) на абсорбционном спектре в присутствии алюминия хлорида наблюдался небольшой батохромный сдвиг, что свидетельствует о вкладе в максимумы поглощения флавоноидов.

При определении суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии было изучено влияние pH на спектральные характеристики для отдельных компонентов сборов. Для этого снимали абсорбционные спектры без подкисления, с добавлением 30% уксусной кислоты и с добавлением ацетатного буферного раствора.

Результаты анализа спектральных характеристик дифференциальных спектров извлечений из отдельных компонентов сборов, полученные при разных значениях pH (табл. 1), позволяют предположить, что увеличение значения pH путем добавления ацетатного буфера в длинно-волновый максимум поглощения вносит вклад в комплекс

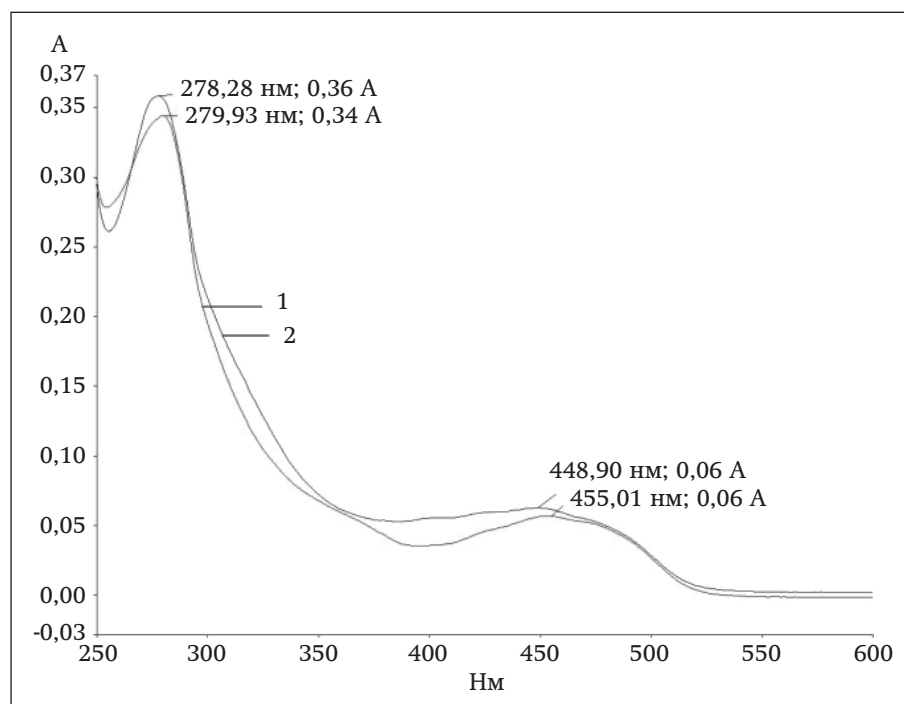


Рис. 1. Плоды шиповника. Обзорные спектры поглощения на фоне этилового спирта: 1 – спектр поглощения извлечения; 2 – спектр поглощения извлечения в присутствии алюминия хлорида

**СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ СПЕКТРОВ
ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПЛОДОВ РЯБИНЫ, ШИПОВНИКА
И СМОРОДИНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ЭКСПЕРИМЕНТА**

Объект исследования	Спектральные характеристики при различных рН		
	рН=2,59 (без подкисления)	рН=2,25 (подкисление CH ₃ COOH)	рН=5,05 (ацетатный буфер)
Извлечение из плодов смородины	$\lambda_{\max 1}=421; A=0,19$ $\lambda_{\max 2}=302; A=0,16$	$\lambda_{\max 1}=413; A=0,26$ $\lambda_{\max 2}=298; A=0,36$	$\lambda_{\max 1}=421; A=0,16$ $\lambda_{\max 2}=316; A=0,05$
Извлечение из плодов рябины	рН=2,63 (без подкисления)	рН=2,23 (подкисление CH ₃ COOH)	рН=5,19 (ацетатный буфер)
	$\lambda_{\max 1}=407; A=0,11$ $\lambda_{\max 2}=354; A=0,30$	$\lambda_{\max 1}=409; A=0,24$ $\lambda_{\max 2}=357; A=0,16$	$\lambda_{\max 1}=371; A=0,68$ $\lambda_{\max 2}=305; A=0,20$
Извлечение из плодов шиповника	рН=2,60 (без подкисления)	рН=1,56 (подкисление CH ₃ COOH)	рН=5,17 (ацетатный буфер)
	$\lambda_{\max 1}=402; A=0,18$ $\lambda_{\max 2}=313; A=0,23$	$\lambda_{\max 1}=404; A=0,30$ $\lambda_{\max 2}=328; A=0,18$	$\lambda_{\max 1}=398; A=0,53$ $\lambda_{\max 2}=307; A=0,16$

Примечание. Указаны только максимумы поглощения комплекса флавоноидов и ближайший к нему.

флавоноидов, образующийся по кольцу Б, а также комплекс схожих по строению фенольных соединений с алюминия хлоридом. При добавлении кислоты максимум поглощения, ближайший к максимуму комплекса флавоноидов с алюминия хлоридом, со временем падает, в то время как флавоноидный – растёт (в табл. 1 представлены значения оптической плотности через 40 мин после начала реакции). Установлено оптимальное значение рН – 1,5–2,3.

Результаты анализа длин волн, соответствующих максимумам поглощения комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом и комплексов стандартных образцов флавоноидов с алюминия хлоридом, позволяют проводить пересчет суммы флавоноидов в плодах смородины и рябины обыкновенной на рутин, а в плодах шиповника – на лютеолин [9].

Методика. Около 2 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в термостойкую колбу со шлифом, заливают 50 мл 95% этилового спирта, присоединяют к обратному холодильнику и кипятят на плитке с закрытой спиралью в течение 30 мин (раствор А).

8 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 8 мл 30% уксусной кислоты, 8 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем до метки 95% этиловым спиртом. Через 40 мин снимают спектр поглощения в диапазоне длин волн 370–470 нм на фоне раствора сравнения. Параллельно измеряют оптическую плотность комплексов рутин и лютеолина с алюминия хлоридом.

Приготовление раствора сравнения. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 8 мл раствора А, добавляют 8 мл уксусной кислоты с концентрацией 30 % и доводят объем до метки 95% спиртом этиловым.

Таблица 2

**СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ВИТАМИННЫХ СБОРАХ
И ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТАХ СБОРА В ПЕРЕСЧЕТЕ
НА АБСОЛЮТНО СУХОЕ СЫРЬЕ (n=5; p=0,95)**

Объект исследования	Стандартный образец	Содержание суммы флавоноидов, %
Плоды рябины обыкновенной	Рутин	0,145±0,003
Плоды черной смородины	Рутин	0,160±0,004
Плоды шиповника	Лютеолин	0,047±0,001
Витаминный сбор №1	Рутин	0,064±0,002
Витаминный сбор №2	Лютеолин	0,028±0,001

Получение комплексов стандартных образцов флавоноидов с алюминия хлоридом. Около 0,05 г (точная навеска) предварительно высушенных до постоянной массы ГСО флавоноидов растворяли в мерных колбах вместимостью 100 мл в 95% этиловом спирте (раствор Б). 1 мл раствора Б каждого флавоноида помещали в мерные колбы объе-

мом 25 мл, добавляли по 1 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида, по 0,5 мл 30% уксусной кислоты и доводили до метки 96% этиловым спиртом. В качестве раствора сравнения использовали 1 мл раствора Б соответствующего ГСО флавоноида и 0,5 мл кислоты уксусной 30%, которые разбавляли 96% этиловым спиртом в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание флавоноидов рассчитывали по формуле:

$$X (\%) = \frac{A \cdot m_o \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{A_o \cdot V_a \cdot m_o \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_o – оптическая плотность раствора стандартного образца; V_a – объем аликвоты испытуемого раствора, мл; m_o – масса сырья, г; W – потеря сырья в массе при высушивании, %.

Содержание флавоноидов в отдельных компонентах витаминных сборов (табл.2) оказалось незначительным. Наибольшее количество флавоноидов обнаружено в плодах черной смородины – $0,160 \pm 0,004\%$.

При анализе флавоноидов в витаминных сборах использовали методику, описанную для отдельных компонентов. Оптимальным экстрагентом оказался 95% этиловый спирт; при снижении концентрации спирта комплекс флавоноидов с алюминия хлоридом был неустойчивым. При концентрации спирта менее 70% наблюдалось выпадение осадка.

Абсорбционные дифференциальные спектры флавоноидов витаминных сборов №1 и №2 (рис. 2, 3) показали, что максимум поглощения

комплекса флавоноидов витаминного сбора №1 с алюминия хлоридом достигается при длине волны 409 нм. Поэтому содержание флавоноидов рационально проводить в пересчете на рутин. В случае витаминного сбора №2 максимум поглощения дифференциального спектра, характерный для флавоноидов, приходится на 404 нм, что позволяет использовать его в качестве стандартного образца лютеолин.

По разработанной методике были проанализированы экспериментальные образцы витаминных сборов (см. табл. 2). Содержание суммы флавоноидов в сборах также оказалось невелико (0,064 и 0,028%). Согласно полученным результатам, нецелесообразно проводить стандартизацию витаминных сборов №1 и №2 и их компонентов по показателю «содержание суммы флавоноидов».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика определения суммы флавоноидов в витаминных сборах №1 и №2 и их компонентах: плодах шиповника, рябины обыкновенной и смородины черной. Пересчет суммы флавоноидов целесообразно проводить на рутин для плодов смородины черной и рябины обыкновенной, и на лютеолин – для плодов шиповника. Показано влияние рН на характер дифференциальных спектров поглощения флавоноидов витаминных сборов и их компонентов. Анализ результатов исследования показал, что стандартизация витаминных сборов №1 и №2 и их компонентов по показателю «содержание суммы флавоноидов» не рациональна.

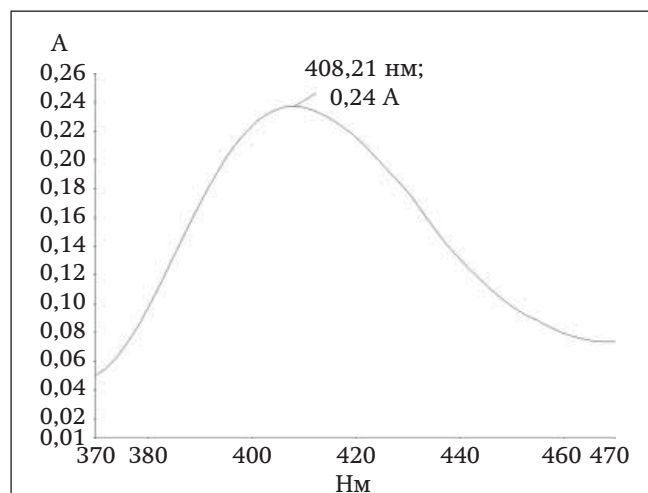


Рис. 2. Абсорбционный дифференциальный спектр поглощения флавоноидов витаминного сбора №1

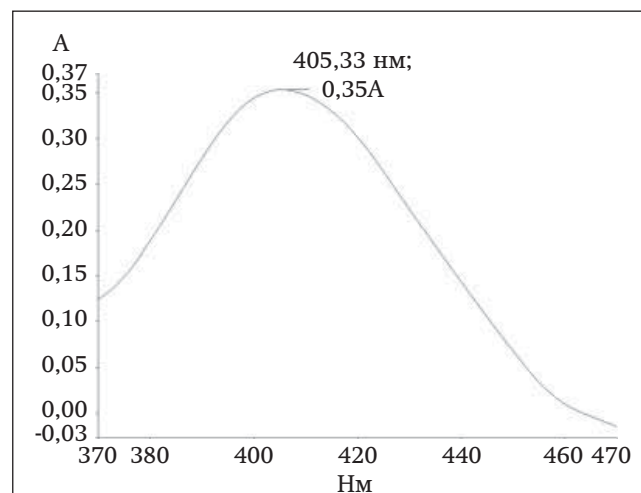


Рис. 3. Абсорбционный дифференциальный спектр поглощения флавоноидов витаминного сбора №2

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный реестр лекарственных средств. Т. 2, ч. 1. М.: Медицинский совет, 2009; 4.
2. Attonen M.J., Karjalainen R.O. High-performance liquid chromatography analysis of black currant (*Ribes nigrum*) fruit phenolics grown either conventionally or organically. J. Agric. Food Chem., 2006; 54:7530–8.
3. Borges G., Degeneve A., Mullen W. et al. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. J. Agric. Food Chem., 2010; 58: 3901–9.
4. Тенкерова И.Г. Эколого-фармакогностическое исследование некоторых лекарственных растений Кемеровской области. Дисс....канд.фарм.наук. Томск, 2002; 125.
5. Афанасьева Е.Г. Фармакогностическое исследование по разработке лекарственных растительных средств с противоаллергической активностью. Дисс....докт.фарм.наук. Пермь, 2013: 269.
6. Сергунова Е.В. Исследования по стандартизации плодов шиповника и лекарственных форм на его основе. Автореферат ...канд. фарм.наук. М.: 2002, 56.
7. Государственная фармакопея РФ XIII изд. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/feml>
8. Марахова А.И. и др. Спектрофотометрия в анализе сборов. Медицина и образование в Сибири. Электронный научный журнал. 2012; 2. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=706
9. Сорокина А.А., Марахова А.И., Станишевский Я.М., Ковалева Т.Ю. Фотометрические методы в анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе. М.: РУДН, 2015; 155.

Поступила 20 ноября 2017 г.

THE CONTENT OF FLAVONOIDS IN VITAMIN PREPARATIONS

V.Yu. Zhilkina¹; A.I. Marakhova¹, PhD; Professor A.A. Sorokina², PhD; E.V. Sergunova², PhD

¹Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, People's Friendship University of Russia; 6, Miklukho-Maklai St., Moscow 117198, Russian Federation;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 2, B. Pirogovskaya St., Build. 4, Moscow 119991, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. Vitamin preparations are widely used in the therapy of various diseases. The main dosage forms of the preparations include tinctures or decoctions. In addition to vitamins, medicinal plant raw materials, the components of the preparations, contain flavonoids.

Objective: to develop methods for quantification of flavonoids in vitamin preparations.

Material and methods. The investigation objects were model samples of vitamin preparations Nos. 1 and 2 and commercial samples of mountain ash (*Sorbus aucuparia*) berries, rose (*Rōsa*) hips, and black currants (*Ribes nigrum*). The amount of flavonoids was determined spectrophotometrically.

Results. Optimal pH values and an optimal extractant for flavonoid-aluminum chloride complexation in the vitamin preparations were found to be 1.5–2.3 and 95% ethanol, respectively. It was ascertained that the amount of flavonoids in black currants and mountain ash berries should be calculated with reference to rutin and that in rose hips to luteolin.

Conclusion. A spectrophotometric procedure was developed to determine the amount of flavonoids in vitamin preparations Nos. 1 and 2 and in their components: rose hips, mountain ash berries and black currants. Standardization of vitamin preparations Nos. 1 and 2 and their components was shown to be unreasonable in terms of the amount of flavonoids.

Key words: vitamin preparations, flavonoids, spectrophotometry.

For citation: Zhilkina V.Yu., Marakhova A.I., Sorokina A.A., Sergunova E.V. The content of flavonoids in vitamin preparations. Farmatsiya (Pharmacy). 2018; 67 (1): 14–18 (In Russian). DOI: 10.29296/25419218-2018-01-03

REFERENCES

1. State Register of Medicinal Products. vol. 2, part.1. Moscow: Meditsinskiy sovet; 2009: 4 (in Russian).
2. Attonen M.J., Karjalainen R.O. High-performance liquid chromatography analysis of black currant (*Ribes nigrum*) fruit phenolics grown either conventionally or organically. J. Agric. Food Chem., 2006; 54: 7530–8.
3. Borges G., Degeneve A., Mullen W. et al. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. J. Agric. Food Chem., 2010; 58: 3901–9.
4. Tenkerova I.G. Ecology-Pharmacognostic study of some medicinal plants in the Kemerovo region. Diss ... Ph.d. in pharm. sciences. Tomsk, 2002:125 (in Russian).
5. Afanaseva E.G. Pharmacognostic study on the development of medicinal vegetative means with protiwallergic activity. Diss ... Ph.d. pharm. sciences. Perm, 2013: 269 (in Russian).
6. Sergunova E.V. Study on Standardization of fruit trees and medicinal forms based on it. Abstract ... Ph.d. in pharm. sciences. Moscow: 2002, 56 (in Russian).
7. The State Pharmacopoeia of The Russian Federation, XIII-ed. [Electronic resource]. Access mode: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
8. Marakhova A.I. et al. Spectrophotometry in analysis fees. Medicina I obrazovanie v Sibiri. Jelektronniy nauchniy zhurnal, 2012; 2. [Electronic resource]. Access: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=706 (in Russian).
9. Sorokina A.A., Marakhova A.I., Stanishevskij Ja.M., Kovaleva T.Ju. Photometric methods in the analysis of medicinal plant raw materials and preparations on its basis. Moscow: RUDN, 2015:155 (in Russian).