

РЯБИНА ОБЫКНОВЕННАЯ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТОЦИАНОВ В ПЛОДАХ

Н.В. Исайкина^{1*}, канд. фарм. наук, Г.И. Калинкина¹, докт. фарм. наук, профессор,
В.Ю. Андреева¹, канд. биол. наук, Е.Ю. Шерстобоев², докт. мед. наук,
Н.В. Масная², докт. мед. наук, А.Б. Шилова¹

¹Сибирский государственный медицинский университет;
634050, Томск, Московский тракт, 2

²НИИ фармакологии им. Е.Д. Гольдберга Сибирского отделения РАМН;
634028, Томск, пр. Ленина, д. 3

*E-mail: nadezhda.isaykina@gmail.com

Разработана методика количественного определения суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид в плодах рябины обыкновенной. Ошибка единичного определения не превышает $\pm 1\%$.

Ключевые слова: рябина обыкновенная, *Sorbus aucuparia* L., плоды, антоцианы, спектрофотометрия.

Рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) — многолетнее дикорастущее и культивируемое растение сем. розоцветных (*Rosaceae*), произрастающее по всей Европейской части России, на Урале, в горах Кавказа и в Сибири [8]. Плоды рябины применяются в медицинской практике как поливитаминное средство в составе лекарственных витаминных сборов [3, 4].

Экспериментальные исследования показали, что спиртовой экстракт плодов рябины и выделенный из него полифенольный комплекс (ПФК) способствуют восстановлению подавленной активности иммунной системы мышей. При этом экстракт и ПФК оказывают стимулирующее влияние на гуморальный, клеточный иммунный ответ и неспецифическую резистентность организма, стимулируя образование антител, фагоцитарную и бактерицидную активность иммунокомпетентных клеток и не уступают по своему действию настойке эхинацеи пурпурной [1, 7, 9]. Данное свойство зарубежные исследователи обосновывают наличием в плодах комплекса фенольных соединений, прежде всего, проантоцианидинов, обладающих антиоксидантным, иммуностропным, противовоспалительным и капилляроукрепляющим действием [11, 12]. Фенольные соединения рябины представлены антоцианами (цианидин-3-О-глюкозид), лейкоантоцианами, флавоноидами (кверцетин, рутин, гиперозид) и катехинами [8, 10]. Следует заметить, что на Западе плоды рябины приобрели большую популярность.

С учетом вышеизложенного возникла необходимость получения по рациональной технологии экстракта рябины, содержащего максимальное количество антоцианов, а также разработки методики количественного определения данной группы фенольных соединений в плодах рябины обыкновенной. Это и явилось целью настоящего исследования.

Экспериментальная часть

Для разработки методики количественного определения антоцианов использовали образцы сырья рябины, собранные в естественных местах произрастания растения в 2011–2013 гг. в различных областях Западной и Восточной Сибири в период созревания и высушенные до воздушно-сухого состояния, а также аптечные серийные образцы.

Электронные спектры поглощения измеряли на спектрофотометре СФ-2000 в кварцевых кюветках с толщиной поглощающего слоя 10 мм в диапазоне волн 200–1000 нм.

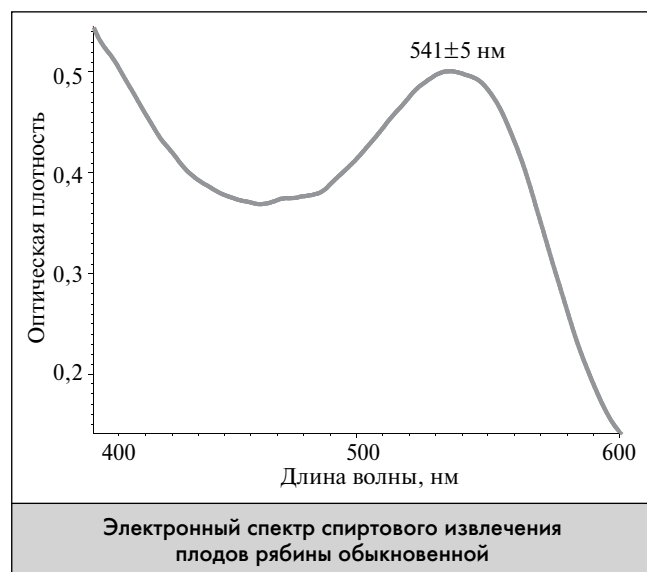
Количественное содержание антоцианов в исследуемых образцах определяли методом прямого спектрофотометрирования по собственному характерному поглощению антоцианов в диапазоне длин волн 490–550 нм [5, 6]. Стандартным образцом служил цианидин-3-О-глюкозид (ЕС № 208-438-6), который дает основной максимум поглощения при длине волны 544 ± 5 нм [5, 6]. Аналогичный максимум 541 ± 5 нм дает спиртовое извлечение плодов рябины обыкновенной, полученное 95% этиловым спиртом, содержащим 1% кислоты хлористоводородной (см. рисунок). Для расчета суммы антоцианов в плодах рябины использовали удельный показатель ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) цианидин-3-О-глюкозида, который при длине волны 546 ± 2 нм составляет $100,0 \pm 2,0$ [5, 6].

Содержание цианидин-3-О-глюкозида в плодах рябины было подтверждено методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей:

n-бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4:1:2), Rf 0,35–0,36 [5, 6].

При разработке методики исследовали влияние на выход антоцианов степени измельчения сырья, условий экстракции и экстрагента (табл. 1). Установлено, что максимальное количество антоцианов извлекается из сырья при измельчении сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. Экстрагирование антоцианов наиболее эффективно проводить 95% этиловым спиртом, содержащим 1% кислоты хлористоводородной, при соотношении сырья и экстрагента 1:30. Дальнейшее увеличение этого соотношения не приводит к повышению выхода антоцианов. Для наиболее полного извлечения антоцианов из плодов рябины целесообразно проводить двукратную экстракцию из сырья по 45 мин на кипящей водяной бане, дальнейшее увеличение времени экстракции не приводит к повышению содержания антоцианов в извлечении.

Методика определения. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 0,3 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл 95% этилового спирта, содержащего 1% кислоты хлористоводородной, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 мин. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры под струей холодной воды и экстракт фильтруют в мерную колбу вместимостью 25 мл. Фильтр с остатками сырья помещают в ту же колбу с сырьем и экстракцию повторяют еще 1 раз указанным выше способом; фильтр промывают 2 мл 95% этилового спирта, содержащего 1% кислоты хлористоводородной и доводят объем извлечения 95% этиловым спиртом, содержащим 1% кислоты хлористоводородной до метки (раствор А).



3 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем 95% этиловым спиртом, содержащим 1% кислоты хлористоводородной до метки (раствор Б – испытуемый раствор).

Оптическую плотность раствора Б измеряют относительно раствора сравнения на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 541 ± 5 нм. В качестве раствора сравнения используют 95% этиловый спирт, содержащий 1% кислоты хлористоводородной.

Содержание суммы антоцианов в сырье в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид и абсолютно сухое сырье (X) вычисляют в процентах по формуле:

$$x = \frac{D \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot 100}{m \cdot V_2 \cdot E (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; V₁ – объема раствора А, мл; V₂ – аликвота раствора А, мл; V₃ – объем раствора, Б, мл; W – потеря в массе при высушивании сырья, %; E – удельный показатель поглощения цианидин-3-О-глюкозида при длине волны 546 ± 2 нм (100,0±2,0).

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ПОЛНОТУ ИЗВЛЕЧЕНИЯ АНТОЦИАНОВ ИЗ ПЛОДОВ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Условия экстракции	Содержание антоцианов, % абс. – сухое сырье		
	1	2	3
Экстрагент			
95% спирт этиловый, содержащий 1% кислоты хлористоводородной	1,23	1,27	1,24
70% спирт этиловый, содержащий 1% кислоты хлористоводородной	0,76	0,77	0,79
40% спирт этиловый, содержащий 1% кислоты хлористоводородной	0,20	0,19	0,21
40% спирт этиловый, содержащий 1% кислоты хлористоводородной	0,03	0,03	0,03
Вода очищенная, содержащая 1% кислоты хлористоводородной	0,03	0,03	0,03
Измельченность сырья, мм			
цельное	0,16	0,17	0,17
5	0,33	0,34	0,34
3	0,48	0,49	0,49
1	1,15	1,20	1,19
Соотношение сырья и экстрагента			
1 : 30	1,21	1,21	1,22
1 : 60	0,67	0,68	0,69
Время экстракции, мин			
30	0,23	0,24	0,23
45	1,23	1,21	1,22
60	1,20	1,19	1,23
Количество экстракций (45 мин)			
однократная	0,78	0,76	0,79
двукратная	2,45	2,47	2,46
трехкратная	2,46	2,42	2,45

Приготовление 95% этилового спирта, содержащего 1% кислоты хлористоводородной: в мерную колбу вместимостью 200 мл вносят 100 мл 95% этилового спирта, добавляют 5,5 мл кислоты хлористоводородной концентрированной; полученный раствор доводят 95% этиловым спиртом до метки.

По разработанной методике был проведен анализ различных образцов плодов рябины обыкновенной. Содержание суммы антоцианов в плодах рябины колеблется от 1,61 до 4,45% (табл. 2).

Статистическая обработка результатов анализа, проведенная по методике ГФ XI [2], показала, что ошибка единичного определения при доверительной вероятности 95% находится в пределах 1% (табл. 3).

Вывод

Разработана методика прямого спектрофотометрического определения суммы антоцианов в плодах рябины обыкновенной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борсук О.С., Масная Н.В., Шерстобоев Е.Ю., Исайкина Н.В., Калинин Г.И. Влияние полифенольных соединений растительного происхождения на развитие иммунного ответа. Вестник Уральской медицинской академической науки. Тематический выпуск по аллергологии и иммунологии; 2011; №2/2. (35): 9–10.
2. Государственная фармакопея СССР. XI изд., вып. 1. М.: Медицина, 1987; 208–223.
3. Государственная фармакопея СССР. XI изд., вып. 2. М.: Медицина, 1989; 297.
4. Государственный реестр лекарственных средств (Электронный ресурс): база данных. – Режим доступа: <https://www.grls.rosminzdrav.ru>.
5. Куркин В.А., Рязанова Т.К. Определение антоцианов в плодах черники обыкновенной. Фармация, 2012; 2: 10–13.
6. Андреева В.Ю., Калинин Г.И., Коломиец Н.Э. и др. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной. Фармация, 2013; 3: 19–21.
7. Борсук О.С., Масная Н.В., Шерстобоев Е.Ю. и др. Новые перспективные иммунокорректоры природного происхождения. Вестник РАМН, 2009; 11: 9–12.
8. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2. Семейства Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae. – СПб.: М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009; 243–245.

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТОЦИАНОВ В ПЛОДАХ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Образцы сырья. Серия	Содержание антоцианов, % абс. – сухое сырье
Окрестности Томска, 2012 г.	2,47±0,15
Окрестности Томска, 2013 г.	1,62±0,03
Иркутская обл., Ангарский р-н, берег р. Китой, 2013 г.	3,23±0,12
Томская обл., Бакчарский р-н, окрестности с. Бакчар, 2013 г.	3,02±0,10
Забайкальский край, окрестности Краснокаменска, 2013 г.	3,54±0,15
Аптечный образец, серия 21012	4,45±0,17
Аптечный образец, серия 20313	4,40±0,16

Таблица 3

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТОЦИАНОВ В ПЛОДАХ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

F	X	S ²	S	S _{x̄}	P, %	t (P, f)	±ΔX	E, %
2	2,46	0,0001	0,01	0,0058	95,00	4,30	0,0249	1,01

9. Борсук О.С., Масная Н.В., Шерстобоев Е.Ю., Исайкина Н.В., Калинин Г.И. Сравнительная характеристика влияния полифенольных и полисахаридных соединений, выделенных из растений Сибири и Дальнего востока, на систему иммунитета // Российский аллергологический журнал (Труды XI Международного конгресса «Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии» 5-8 июля 2011 г., Москва), 2011; 4. (1): 60–61.
10. Писарев Д.И., Новиков О.О., Сорокопудов В.Н. и др. Химическое изучение биологически активных полифенолов некоторых сортов рябины обыкновенной – *Sorbus Aucuparia*. Научные ведомости, 2010; 22 (93). 12/2: 123–128.
11. Olszewska M.A., Nowak S., Michel H., Banaszczak P., Kicel A. Assessment of the Content of Phenolics and Antioxidant Action of Inflorescences and Leaves of Selected Species from the Genus *Sorbus* *Sensu Stricto*. *Molecules*, 2010; 15: 8769–8783.
12. Olszewska M.A., Presler A., Michel P. Profiling of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Dry Extracts from the Selected *Sorbus* Species. *Molecules*, 2012; 17: 3093–3113.

Поступила 5 марта 2014 г.

ROWAN (*Sorbus aucuparia* L.): DETERMINATION OF ANTOCYANS IN THE BERRIES

N.V. Isaikina^{1*}, PhD; Professor G.I. Kalinkina¹, PhD; V.Yu. Andreeva¹, PhD; E.Yu. Sherstoboev², MD; N.V. Massnaya, MD²; A.B. Shilova¹

¹Siberian State Medical University; 2, Moskovsky Road, Tomsk 634050

²E.D. Goldberg Research Institute of Pharmacology; Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences; 3, Lenin Pr., Tomsk 634028

SUMMARY

Alcoholic extract from rowan (*Sorbus aucuparia* L.) and its derived polyphenols stimulate a humoral and cell-mediated immune response and nonspecific resistance of the body. They increase the production of antibodies and the phagocytic and bactericidal activities of immunocompetent cells and are as effective as Echinacea purpurea tincture. This property is attributable to the presence of proanthocyanidins that have antioxidant, immunotropic, anti-inflammatory, and capillary-strengthening activities.

A procedure has been developed to quantify the total count of antocyanans calculated with reference to cyanidin-3-O-glucoside in the rowan berries by direct spectrophotometry.

Key words: rowan, *Sorbus aucuparia* L., berries, antocyanans, spectrophotometry.

REFERENCES

1. Borsuk O.S., Masnaya N.V., Sherstoboyev E.Yu., Isaykina N.V., Kalinkina G.I. Effect of polyphenolic compounds of plant origin on the development of immune response. Herald of Ural Medical Academic Science. Thematic issue of Allergy and Immunology, 2011; 2/2, (35): 9–10 (in Russian).
2. State pharmacopeia of the USSR. XI-ed., vol. 1. M.: Medicine, 1987; 208–223 (in Russian).
3. State pharmacopeia of the USSR. XI-ed., vol.2. M.: Medicine, 1990; 297 (in Russian).
4. State register of medicines (Electronic resource): database. – Access mode: <https://www.grls.rosminzdrav.ru>.
5. Kurkin V.A., Ryazanova T.K. Definition of anthocyanins in fruits of bilberry. Farmatsiya, 2012; 2: 10–13 (in Russian).
6. Andreeva V. Y., Kalinkina G. I., Kolomiyets N.E. etc. Methodology for determining anthocyanins in fruits *Aronia*. Farmatsiya, 2013; 3: 19–21.
7. Borsuk O.S., Masnaya N.V., Sherstoboyev E.Yu. etc. New promising immunocorrectors of natural origin. Vestnik of RAMN, 2009; 11: 9–12 (in Russian).
8. Plant Resources of Russia: Wild flowering plants, their component structure and biological activity. Vol. 2. Family Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae. St. Petersburg., M.: KMK, 2009; 243–245 (in Russian).
9. Borsuk O. S., Masnaya N.V., Sherstoboyev E. Yu., Isaikina N.V., Kalinkina G.I. Comparative characteristics influence of polyphenolic and polysaccharide compounds extracted from plants of Siberia and the Far East, on the immune system. Russian Journal of Allergology (Proceedings of the XI International Congress «Modern problems of immunology, allergology and immunopharmacology» 5th–8th July 2011, Moscow), 2011; 4. (1): 60–61 (in Russian).
10. Pisarev D.I., Novikov O.O., Sorokopudov V.N., etc. Chemical studying of biologically active polyphenols of some grades of a mountain ash ordinary – *Sorbus Aucuparia*. Scientific sheets, 2010; 22 (93). 12/2: 123–128 (in Russian).
11. Olszewska M.A., Nowak S., Michel P., Banaszczak P., Kicel A. Assessment of the Content of Phenolics and Antioxidant Action of Inflorescences and Leaves of Selected Species from the Genus *Sorbus* Sensu Stricto. Molecules, 2010; 15: 8769–8783.
12. Olszewska M.A., Presler A., Michel P. Profiling of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Dry Extracts from the Selected *Sorbus* Species. Molecules, 2012; 17: 3093–3113.

Информация

КОМПАНИЯ «ТАКЕДА РОССИЯ» ПОДДЕРЖАЛА ВСЕМИРНЫЙ ДЕНЬ БОРЬБЫ С ИНСУЛЬТОМ

28 октября 2014 г., в канун Всемирного дня борьбы с инсультом, компания «Такета Россия» организовала мероприятие, посвященное проблеме инсульта. Девизом Всемирного дня борьбы с инсультом в 2014–2015 гг. становится фраза «Мне не все равно». В этот день все специалисты, связанные с лечением и реабилитацией инсультных больных, родственники пациентов, перенесших инсульт, сами пациенты объединяются, чтобы противостоять этому грозному заболеванию.

Инсульт – это острое нарушение кровообращения головного мозга, которое характеризуется внезапным появлением неврологических симптомов, сохраняющихся в течение 24 ч и более или приводящих к смерти больного в более короткий промежуток времени. Инсульт обуславливает около 6 млн смертей в год во всем мире и как причина смерти уступает лишь ишемической болезни сердца. В России ежегодно переносят инсульт около 500 тыс. человек, примерно половина из них умирает. Смертность от инсульта в России одна из самых высоких в мире, на ее долю приходится 175 смертей на каждые 100 тыс. человек. Свыше 90% выживших после инсульта пациентов становятся инвалидами.

Очень важно вовремя распознать и диагностировать инсульт, чтобы успеть вызвать врача. **4 шага, помогающих распознать инсульт:** попросите человека улыбнуться; попросите человека сказать любое простое предложение; попросите человека поднять обе руки; попросите высунуть язык (если язык отклонен в сторону – это также может быть признаком). Если возникают проблемы даже с одним из этих заданий – необходимо позвонить в скорую помощь!

Другие признаки инсульта, которые определяют самым пострадавшим: 1) внезапное онемение конечности (руки, пальца, ступни, ноги, даже части лица или тела); 2) неожиданная потеря контроля: вы не можете понять, где находитесь и внятно говорить; 3) двоение в глазах или нечеткое зрение; 4) тошнота, рвота.

В сегодняшних условиях инсульт – это предупреждаемое и потенциально излечимое заболевание. При использовании эффективных методов первичной и вторичной профилактики, раннем выявлении группы пациентов высокого риска, применении эффективных в ранние сроки

после инсульта методов лечения и адекватных мер по медицинскому уходу можно ожидать более благоприятных показателей исхода острых нарушений мозгового кровообращения. В профилактике и лечении инсульта широко используются препараты нейропротекторного ряда.

В последние годы ситуация с профилактикой, диагностикой и лечением инсульта в России меняется в лучшую сторону, успешно реализуется программа, направленная на совершенствование медицинской помощи больным с сосудистыми заболеваниями. Определить степень риска инсульта можно в центрах здоровья во всех регионах страны за несколько минут, но, несмотря на это, цифры по заболеваемости остаются все еще высокими. Поэтому по-прежнему актуальной остается задача повышения информированности общества о проблеме инсульта, помощи людям, перенесшим инсульт, и их родственникам. Над решением этой задачи работают как государственные, так и благотворительные организации. К примеру, фонд ОРБИ – первый специализированный фонд помощи людям после инсульта и их семьям. В задачи фонда входит обучение родственников пациентов правильному уходу за больным, оказание психологической и юридической помощи, донесение до общественности информации о важности предотвращения и профилактики инсульта. В процессе реализации программ ОРБИ формируется национальная социальная сеть родственников пациентов, медицинских профессионалов и добровольцев, которые могут оказать поддержку, поделиться знанием и опытом. Благотворительные проекты фонда ОРБИ поддерживает фармацевтическая компания «Такета Россия». Будучи одним из мировых лидеров фарминдустрии, компания «Такета» обладает существенной экспертизой в области лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. В рамках программ корпоративной социальной ответственности «Такета» видит одну из своих задач в поддержке образовательных инициатив для врачей, пациентов и их семей, направленных на предотвращение роста заболеваемости и смертности от инсульта, а также на улучшение возможностей реабилитации и повышение качества жизни пациентов, перенесших инсульт.

nevrologia.info