

УДК 615.322

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.77.36.002>

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛКАРБОНОВЫХ (ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ) КИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ ЧЕРЕМУХИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PRUNUS PADUS L.*) И ЧЕРЕМУХИ МААКА (*PRUNUS MAACKII RUPR.*)

Н.Е. Чувиров, кафедра химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)», nekish27@gmail.com

Н.В. Нестерова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)», nesterova_n_v_1@staff.sechenov.ru

О.В. Нестерова, доктор фарм. наук, профессор кафедры химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)», nesterova_o_v@staff.sechenov.ru

А.А. Прокопов, доктор хим. наук, профессор, заведующий кафедрой общей и биотехнологической химии ФГАОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», prokороваa1543@mail.ru

Д.А. Доброхотов, канд. фарм. наук, доцент кафедры химии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)», dobrokhotov_d_a@staff.sechenov.ru

Учитывая научный интерес к изучению состава биологически активных веществ листьев черемухи обыкновенной и маака, авторами проведена количественная оценка содержания фенолкарбонových кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую для листьев данных видов, собранных в Ботаническом саду ПМГМУ им. И.М. Сеченова в 2022 году, а также листьев черемухи обыкновенной, заготовленных от дикорастущих деревьев в смешанных лесах Московской и Тверской областей, и листьев черемухи маака сорта Amber Beauty, интродуцированных в Москве. В ходе проведенного анализа установлено содержание фенолкарбонových кислот, составившее максимально 5,53% для листьев черемухи маака и 5,14% для листьев черемухи обыкновенной. Для оценки влияния таких факторов, как концентрация экстрагента и степень

измельченности сырья, авторами были проведены анализы с использованием в качестве экстрагента спирта этилового разных концентраций и с разным измельчением исследуемых образцов.

Авторы отмечают наибольший выход фенолкарбонových кислот при использовании спирта этилового 70% для всех исследуемых образцов листьев черемухи.

Анализ влияния измельченности показал, что наибольший выход фенолкарбонových кислот может быть получен при размере частиц листьев черемухи 1 мм, незначительно уступают по выходу образцы, измельченные до размера частиц 2 мм и менее 1 мм. Однако, учитывая наличие в листьях черемухи легкоокисляемых веществ полифенольной природы, на наш взгляд, нецелесообразно столь тонкое измельчение. Оптимальным следует

признать степень измельчения сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм.

Ключевые слова: хлорогеновая кислота, количественное определение, спектрофотометрия, листья, черемуха обыкновенная, черемуха маака

В течение длительного времени черемуха рассматривалась ботаниками как отдельный род в семействе Розовые (Rosaceae) или подрод рода Слива (Prunus). В настоящее время в международном ботаническом сообществе виды черемухи относят к роду Слива. Черемухи видов обыкновенная и маака широко распространены в РФ в пределах своих ареалов. Так, черемуха обыкновенная произрастает в диком виде в лесной и лесостепной зонах европейской части страны, Западной и Восточной Сибири, на Кавказе, черемуха маака встречается на Дальнем Востоке, в Приморском крае, Амурской области. Оба вида легко культивируются, являются декоративными растениями, часто используемыми в аллейных посадках. Плоды и листья черемухи издавна используются в народной медицине в качестве вяжущего, противодиарейного, противовоспалительного, потогонного средства. Народы Закавказья использовали отвар листьев черемухи обыкновенной при болезнях легких [1].

В качестве лекарственного растительного сырья в РФ разрешено использование плодов черемухи обыкновенной, качество которых регламентируется ФС 2.5.0049.15 «Черемухи обыкновенной плоды». Однако в последние годы интерес исследователей вызывает изучение нефармакопейных видов черемухи, образующих в РФ значительные сырьевые массивы и содержащих существенное количество биологически активных веществ, что позволяет рассматривать данные виды в качестве потенциального растительного сырья,

позволяющего получать отечественные инновационные лекарственные средства [2–4]. На наш взгляд, интересным и перспективным направлением научных исследований является изучение состава биологически активных веществ и оценка перспективности использования листьев черемух видов, широко распространенных в РФ.

Цель работы – анализ количественного содержания фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую в листьях черемухи обыкновенной и маака и оценка влияния ряда факторов на общий выход фенолкарбоновых кислот.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для количественного определения фенолкарбоновых кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую использовали листья черемухи обыкновенной и черемухи маака, собранные в Ботаническом саду ПМГМУ им. И.М. Сеченова в 2022 году. Также в исследовании использовались листья черемухи обыкновенной, заготовленные от дикорастущих деревьев в смешанных лесах Московской и Тверской области, и листья черемухи маака сорта Amber Beauty, интродуцированные в Москве. Спектрофотометрическое исследование было выполнено на приборе Specord в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн 240–500 нм. Статистическую обработку осуществляли по методике, описанной в ГФ РФ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По литературным данным, хлорогеновая (3-кофеилхинная) кислота, входящая в комплекс фенолкарбоновых кислот листьев черемухи, обладает выраженным антиоксидантным действием, превосходящим аналогичные показатели нарингенина в 27 раз. Способна

ингибировать биосинтез лейкотриенов вследствие инактивации липоксигеназ, окисляющих арахидоновую кислоту. Действие хлорогеновой кислоты проявляется в снижении концентраций малонового диальдегида в плазме крови в составе липопротеинов низкой плотности. Проявляет выраженную антимикробную активность в отношении штаммов кишечной палочки и золотистого стафилококка [5].

В связи с этим нами предприняты исследования по количественному определению фенолкарбоновых кислот в листьях черемухи обыкновенной и маака в пересчете на хлорогеновую методом прямой спектрофотометрии.

В процессе проводимого эксперимента нами изучены условия экстракции фенолкарбоновых кислот в зависимости от экстрагента,

степени измельченности, времени экстрагирования, соотношения сырья и экстрагента.

При выборе оптимальной концентрации экстрагента использовали этанол следующих концентраций: 20%, 45%, 70%, и 95%. Около 1 г (точная навеска) измельченных высушенных листьев черемухи исследуемых видов помещали в конического колбу емкостью 200 мл, прибавляли весь объем используемого экстрагента. Затем колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали при умеренном кипении на водяной бане в течение 30 минут. Извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу емкостью 100 мл так, чтобы избежать попадания частиц сырья на фильтр. Извлечения доводили до метки

Таблица 1

ВЫХОД ФЕНОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ИСПОЛЬЗУЕМОГО ЭКСТРАГЕНТА

Концентрация спирта, %		20%	45%	70%	95%
Содержание фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую, %	Листья черемухи обыкновенной, заготовленные в Ботаническом саду ПМГМУ им. И.М. Сеченова	3,24±0,17	3,65±0,13	3,98±0,21	2,99±0,16
	Листья черемухи маака, заготовленные в Ботаническом саду ПМГМУ им. И.М. Сеченова	3,55±0,12	3,94±0,16	4,29±0,218	3,08±0,11
	Листья черемухи обыкновенной, заготовленные от дикорастущих деревьев в Московской области	3,17±0,21	3,44±0,19	3,87±0,20	2,80±0,18
	Листья черемухи обыкновенной, заготовленные от дикорастущих деревьев в Тверской области	3,29±0,13	3,56±0,21	4,08±0,19	3,11±0,20
	Листья черемухи маака, заготовленные от сортовых деревьев Amber Beauty	3,62±0,17	4,13±0,21	4,42±0,18	3,19±0,16

этанолом соответствующей концентрации (раствор А). 1 мл раствора А помещали в колбу объемом 25 мл и доводили объем до метки соответствующим раствором этанола и перемешивали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре Specord при длине волны 330±2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали спирт используемой концентрации. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Содержание фенолкарбоновых кислот (в пересчете на хлорогеновую кислоту) рассчитывали по формуле:

$$X, \% = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность раствора Б; 100 и 25 – объемы мерных колб, используемых при анализе, мл; $A_{1\text{ см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при длине волны 330 нм, равный 507; а – навеска сырья, г; 1 – объем извлечения, взятый для анализа, мл; W – влажность сырья, %.

Наибольший выход фенолкарбоновых кислот нами отмечен при использовании спирта этилового 70% для всех исследуемых образцов (данные табл. 1). При этом максимальное содержание фенолкарбоновых кислот при использовании экстрагента 70% спирта этилового выявлено в листьях черемухи маака, заготовленных от сортовых деревьев Amber Beauty, что на 12,44% выше выхода, полученного при использовании аналогичного

Таблица 2

ВЫХОД ФЕНОЛКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИЗМЕЛЬЧЕННОСТИ ЛИСТЬЕВ ЧЕРЕМУХИ

Размер частиц, мм		<1	1	2	4
Содержание фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую, %	Листья черемухи обыкновенной, заготовленные в Ботаническом саду ПМГМУ им. И.М. Сеченова	4,36±0,16	4,41±0,19	4,23±0,20	3,96±0,16
	Листья черемухи маака, заготовленные в Ботаническом саду ПМГМУ им. И.М. Сеченова	4,56±0,11	4,63±0,18	4,49±0,21	4,26±0,15
	Листья черемухи обыкновенной, заготовленные от дикорастущих деревьев в Московской области	4,41±0,21	4,53±0,19	4,39±0,20	3,88±0,18
	Листья черемухи обыкновенной, заготовленные от дикорастущих деревьев в Тверской области	4,89±0,13	5,14±0,21	4,88±0,19	4,11±0,20
	Листья черемухи маака, заготовленные от сортовых деревьев Amber Beauty	5,20±0,17	5,53±0,21	5,12±0,18	4,39±0,16

экстрагента для сырья листьев черемухи обыкновенной, заготовленных в смешанных лесах Московской области.

При определении оптимальной степени дисперсности листьев черемухи обыкновенной и маака измельчали, просеивали через сито, брали навески с размером частиц менее 1 мм, 1 мм, 2 мм, 4 мм. Для анализа использовалась приведенная выше методика количественного определения. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%, позволивший получить максимальный выход в предыдущем исследовании. Результаты исследований представлены в табл. 2.

В ходе эксперимента было обнаружено, что наибольший выход фенолкарбоновых кислот достигается при размере частиц листьев черемухи 1 мм, незначительно уступают по выходу образцы, измельченные до размера частиц 2 мм и менее 1 мм. Однако, учитывая наличие в листьях черемухи легкоокисляемых веществ полифенольной природы, на наш взгляд, нецелесообразно столь тонкое измельчение, увеличивающее удельную поверхность сырья и способствующее снижению сроков хранения вследствие процессов окисления (табл. 2). Оптимальным следует признать степень измельчения сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм.

Полученные данные могут быть использованы для корректировки методики количественного определения суммарного содержания фенолкарбоновых кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую для листьев черемухи с конкретизацией степени измельчения листьев на этапе пробоподготовки и использованием в качестве экстрагента спирта этилового 70%.

ВЫВОДЫ

В ходе исследования проведена количественная оценка содержания фенолкарбоновых кислот в пересчете на кислоту хлороге-

новую для листьев черемухи обыкновенной и черемухи маака, собранных в Ботаническом саду ПМГМУ им. И.М. Сеченова в 2022 году, а также листьев черемухи обыкновенной, заготовленных от дикорастущих деревьев в смешанных лесах Московской и Тверской области и листьев черемухи маака сорта Amber Beauty, интродуцированных в Москве. В ходе проведенного анализа выявлена сопоставимость количественного содержания фенолкарбоновых кислот в исследуемом сырье. Для оценки влияния таких факторов, как концентрация экстрагента и степень измельченности сырья, авторами были проведены анализы с использованием в качестве экстрагента спирта этилового разных концентраций и с разным измельчением исследуемых образцов.

Наибольший выход фенолкарбоновых кислот нами отмечен при использовании спирта этилового 70% для всех исследуемых образцов листьев черемухи.

Анализ влияния измельченности показал, что наибольший выход фенолкарбоновых кислот может быть получен при размере частиц листьев черемухи 1 мм, незначительно уступают по выходу образцы, измельченные до размера частиц 2 мм и менее 1 мм. Однако, учитывая наличие в листьях черемухи легкоокисляемых веществ полифенольной природы, на наш взгляд, нецелесообразно столь тонкое измельчение. Оптимальным следует признать степень измельчения сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кадаев Г.Н. *Лекарственные растения Карачаево-Черкесии*. – Черкасск. 1963, – 119 с.
2. Писарев Д.И., Новиков О.О., Безменова М.Д., Томчаковская Е.А. Скоропудов В.Н., Нетребенко Н.Н., Халикова М.А., Автина Н.В.

- Изучение черемухи поздней (*Padus serotina* (Ehrh) Agardn) как перспективного источника биологически активных полифенолов // Научные ведомости. Серия «Медицина. Фармация». 2010. №3, с. 45–49.
3. Кузьмичева Н.А., Михайлова И.В., Иванова Е.В., Филиппова Ю.В., Винокурова Н.В., Воронкова И.П., Шостак Е.И., Таренкова И.В. Полифенольные соединения черемухи виргинской (*Padus virginiana* Mill.) // Международный научно-исследовательский журнал 2021, №7(97), часть 1, с. 189–194.
 4. Царенко Н.А. Фенольные соединения плодов некоторых растений видов *Padus* и *Cerasus* (*Rosaceae*) // Вестник КрасГАУ, 2010, №3, с. 49–53.
 5. Левицкий А.П., Вертикова Е.К., Селиванская И.А. Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология // Мікробіологія і біотехнологія, 2010, №2, с. 6–20.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHENOLCARBOXYLIC (HYDROXYCINNAMIC) ACIDS IN THE LEAVES OF BIRD CHERRY (*PRUNUS PADUS* L.) AND BIRD CHERRY MAACK (*PRUNUS MAACKII* RUPR.)

N.E. Chuvirov¹, N.V. Nesterova¹, O.V. Nesterova¹, A.A. Prokopov², D.A. Dobrokhotov¹

¹ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

² A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Given the scientific interest in the study of the composition of biologically active substances in the leaves of bird cherry and maack, the authors carried out a quantitative assessment of the content of phenolcarboxylic acids in terms of chlorogenic acid for the leaves of these species, collected in the Botanical Garden of PMSMU named after I.M. Sechenov in 2022, as well as the leaves of bird cherry, harvested from wild trees in mixed forests of the Moscow and Tver regions and the leaves of bird cherry maack variety Amber Beauty, introduced in Moscow. In the course of the analysis, the content of phenolcarboxylic acids was established, which amounted to a maximum of 5.53% for bird cherry leaves and 5.14% for bird cherry leaves. To assess the influence of such factors as the concentration of the extractant and the degree of grinding of raw materials, the authors carried out analyzes using ethyl alcohol of different concentrations as an extractant and with different grinding of the studied samples.

The authors note the highest yield of phenolcarboxylic acids when using ethyl alcohol 70% for all studied samples of bird cherry leaves.

An analysis of the influence of grinding showed that the highest yield of phenolcarboxylic acids can be obtained with a particle size of bird cherry leaves of 1 mm, samples crushed to a particle size of 2 mm and less than 1 mm are slightly inferior in yield. However, taking into account the presence of easily oxidized substances of a polyphenolic nature in bird cherry leaves, in our opinion, such fine grinding is impractical. The degree of grinding of raw materials to the size of particles passing through a sieve with a hole diameter of 2 mm should be recognized as optimal.

Keywords: chlorogenic acid, quantitative analysis, spectrophotometry, herb, Canadian goldenrod, *Solidago canadensis* L.