

УДК 615.322:582.711.71:535.243

DOI: 10.34215/1609-1175-2020-2-64-67

## Оптические свойства извлечений из боярышника

В.М. Колдаев<sup>1</sup>, А.В. Кропотов<sup>2</sup><sup>1</sup> Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия;<sup>2</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

**Цель:** анализ оптических свойств и компонентов экстрактов из плодов боярышника перистонадрезанного (*Crataegus pinnatifida*) сравнительно с другими видами и оценка возможностей использования числовых показателей спектров поглощения как тестов фитопрепаратов. **Материал и методы.** Использовали извлечения из цветков и плодов боярышников перистонадрезанного, кроваво-красного (*Crataegus sanguinea*) и Максимовича (*Crataegus maximowiczii*). Спектрофотометрически определяли каротиноиды, содержание и устойчивость антоцианов, результаты статистически обрабатывали методом малой выборки. Извлечения, приготовленные в различных условиях, сопоставляли по числовым показателям спектров поглощения, используя непараметрический Z-критерий знаков. **Результаты.** Боярышник перистонадрезанный по содержанию и устойчивости антоцианов значительно превосходит фармакопейный боярышник кроваво-красный, а по количеству каротиноидов совпадает с ним. Вариации условий экстракции сопровождаются изменениями числовых показателей спектров поглощения. **Заключение.** Совокупность представленных данных дает основания считать произрастающий в Приморье боярышник перистонадрезанный перспективным сырьем для фитопрепаратов. Совокупность числовых показателей спектров поглощения можно использовать как тесты экстрактов из растений.

**Ключевые слова:** боярышник перистонадрезанный, спектрофотометрия, оценка качества фитопрепаратов

Поступила в редакцию 09.12.2019 г. Принята к печати 20.03.2020 г.

**Для цитирования:** Колдаев В.М., Кропотов А.В. Оптические свойства извлечений из боярышника. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;2:64–7. doi: 10.34215/1609-1175-2020-2-64-67

**Для корреспонденции:** Колдаев Владимир Михайлович – д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственных растений ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (690022, Владивосток, пр-т 100-летия Владивостоку, 159); ORCID: 0000-0002-6206-200X; e-mail: kolvm42@rambler.ru

## The optical properties of hawthorn's extracts

V.M. Koldaev<sup>1</sup>, A.V. Kropotov<sup>2</sup><sup>1</sup> Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences,Vladivostok, Russia; <sup>2</sup> Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

**Objective:** The study objective is to analyze optic properties and components of extracts from the fruits of hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) compared with other species and the assessment of the possibility of using numerical indicators of absorption spectra as herbal medicinal products tests. **Methods:** We used extracts from flowers and fruits of *Crataegus pinnatifida*, *Crataegus sanguinea* and *Crataegus maximowiczii*. Carotenoids, the content and stability of anthocyanins were determined spectrophotometrically, and the results were statistically processed using the small sample technique. Extracts prepared under various conditions were compared by numerical indicators of the absorption spectra using the nonparametric Z-sign test. **Results:** *Crataegus pinnatifida* significantly exceeds *Crataegus sanguinea* in anthocyanins concentration and stability, and coincides with it in carotenoids concentration. Variations in the extraction conditions are accompanied by changes in the numerical indicators of the absorption spectra. **Conclusions:** The presented data gives reason to consider *Crataegus pinnatifida* growing in Primorskiy territory to be a promising raw material for herbal medicinal products production. The set of numerical indicators of the absorption spectra can be used as tests of extracts from plants.

**Keywords:** *Crataegus pinnatifida*, spectrophotometry, herbal medicinal products quality control

Received: 9 December 2019; Accepted: 20 March 2020

**For citation:** Koldaev VM, Kropotov AV. The optical properties of hawthorn's extracts. *Pacific Medical Journal*. 2020;2:64–7. doi: 10.34215/1609-1175-2020-2-64-67

**Corresponding author:** Vladimir M. Koldaev, PhD, prof., leading researcher laboratory of medical plants, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (159 100-years Vladivostok Ave., Vladivostok, 690022, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-6206-200X; e-mail: kolvm42@rambler.ru

Фитопрепараты боярышника (*Crataegus* Tourn. ex L., сем. *Rosaceae*) усиливают сокращения миокарда, уменьшая его возбудимость [1], повышают чувствительность сердечной мышцы к действию сердечных гликозидов [2], устраняют дискомфорт в области сердца, применяются в комплексной сердечной терапии [3, 4] в виде настоек плодов и цветков в основном боярышников кроваво-красного (*C. sanguinea* Poll.) и колючего

(*C. laevigata* (Poir.) DC) [5, 6]. В Приморье произрастают боярышники нескольких видов. Широко распространен как дикорос и в культуре боярышник перистонадрезанный (*C. pinnatifida* Bunge), препараты которого, по некоторым данным [7, 8], хотя и вызывают сходные кардиотонические эффекты, но в официальной медицине не используются. Его состав и оптические свойства изучены мало, что обычно восполняется

абсорбционной спектрофотометрией [9, 10]. Кроме того, поскольку спектры поглощения (СП) отображают в обобщенном виде компоненты экстракта [9], то, вполне вероятно, что числовые показатели спектров (ЧПС) могут характеризовать и его качество, однако спектрофотометрические методы оценки фитопрепаратов разработаны недостаточно полно.

Изучение оптических свойств экстрактов из боярышника перистонадрезанного сравнительно с другими видами и оценка возможностей использования ЧПС как тестов фитопрепаратов составили цель работы.

#### Материал и методы

Использовали приготовленные согласно фармакопее [11] извлечения из оболочек, мякоти, цельных плодов и цветков боярышника перистонадрезанного, а для сравнения – кроваво-красного и Максимовича (*S. taximowiczii* Scheid.). Абсорбционные спектры (АС) регистрировали спектрофотометром UV-2501PC (Shimadzu, Япония) в диапазоне 230–650 нм с шагом 1 нм. Каротины определяли стандартным способом [12], для обработки СП, определения антоцианов, их устойчивости применяли описанные ранее методы [13].

Для оценки ЧПС как тестов качества использовали настойку на 70 % этаноле (стандарт), водный настой и настойку на 40 % этаноле цельных плодов боярышника перистонадрезанного, приготовленные по требованиям фармакопее [11]. Сравнение фитопрепаратов боярышника аптечной сети проводили на продукции фармацевтических предприятий «Марбиофарм» (г. Йошкар-ола), «Синтез» (г. Курган) и «Флора Кавказа» (ст. Преградная), применяющих для настоек боярышник кроваво-красный. СП извлечений сравнивали по 17 числовым показателям (табл. 1 и 2). Поскольку сырьем других производителей, например, Хабаровской фармацевтической фабрики, служат боярышники даурский (*S. dahurica* Koente ex Schneid.), колючий или другие, то сопоставлять ЧПС производимых ими настоек нецелесообразно.

В каждое определение включали по 6–8 независимых проб, полученные данные обрабатывали статистически методом малой выборки [14]. Сопоставление ЧПС разных извлечений проводили с помощью непараметрического Z-критерия знаков в несколько модифицированном виде: при равенстве значений сравниваемых пар адекватных ЧПС присваивали Z-критерию значение «0», и эти пары исключали из дальнейшего анализа, при достоверных ( $p < 0,05$ ) или недостоверных ( $p > 0,05$ ) различиях присваивали «-» или «+», соответственно. Затем подсчитывали количество «-» или «+» и общепринятым способом [15] определяли состоятельность нулевой гипотезы при уровне значимости  $\alpha = 0,05$ .

#### Результаты исследования

Зарегистрированные СП экстрактов в 95 % этаноле цветков боярышников включают по два максимума (рис. 1). Первые максимумы ( $259 \pm 1$  нм) совпадают

по длинам волн во всех спектрах. Совпадение длин волн вторых максимумов обнаружено только в СП экстрактов из цветков боярышников кроваво-красного и перистонадрезанного, а в СП экстракта из цветков боярышника Максимовича второй максимум имеет длину волны на  $32 \pm 1$  нм меньше ( $p < 0,05$ ).

СП экстрактов в 70 % этаноле из цельных плодов боярышников имеют по одному максимуму, одной точке перегиба слева от него, по две точки перегиба справа и расположенную между ними ступеньку. Длины волн максимумов ( $280 \pm 1$  нм), левых ( $269 \pm 2$  нм) и правых ( $290 \pm 2$  и  $342 \pm 1$  нм) точек перегиба и ступенек ( $307 \pm 1$  нм), а также экстинкции максимумов, минимумов и левых точек перегиба ( $0,815 \pm 0,027$ ) совпадают. В СП экстракта из плодов боярышника Максимовича экстинкции правых точек перегиба в 1,25–1,32 и ступенек – в 1,64 раза меньше ( $p < 0,05$ ) соответствующих экстинкций СП экстрактов из плодов других исследованных боярышников (рис. 2).

АС экстрактов из оболочек плодов боярышников перистонадрезанного и кроваво-красного в подкисленном соляной кислотой 95 % этаноле (рис. 3, кривые

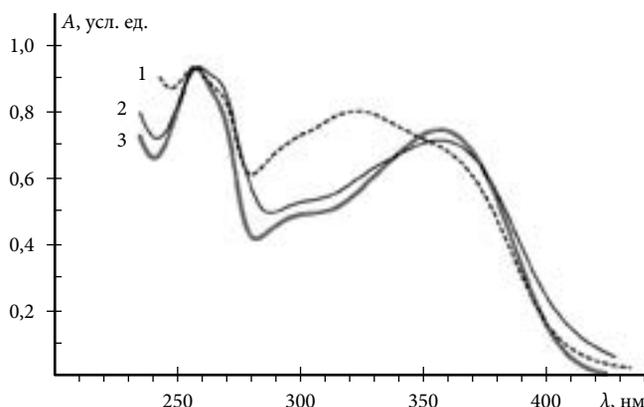


Рис. 1. АС экстрактов из цветков боярышников Максимовича (1), кроваво-красного (2) и перистонадрезанного (3). По вертикали – абсорбция (А), по горизонтали – длина волны (λ).

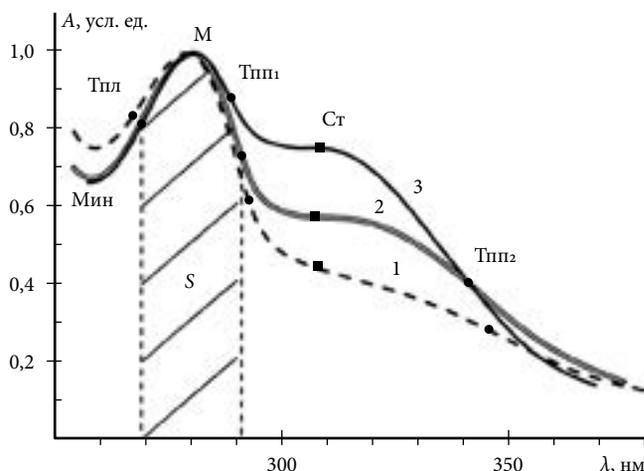


Рис. 2. АС экстрактов в 70 % этаноле плодов боярышников Максимовича (1), перистонадрезанного (2) и кроваво-красного (3). М – максимум; Мин – минимум; точки перегиба: Тпл – слева, Тпл1 – 1-я справа, Тпл2 – 2-я справа; Ст – ступенька; S – площадь полосы поглощения. По вертикали – абсорбция (А), по горизонтали – длина волны (λ).

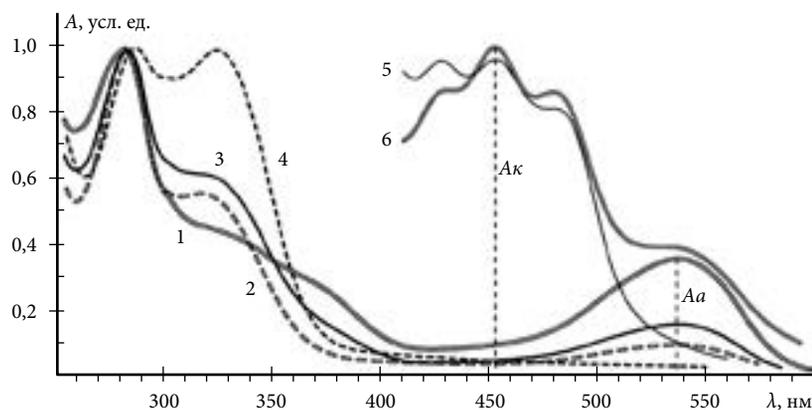


Рис. 3. АС экстрактов в закисленном 95% этаноле при pH1 из оболочки и мякоти плодов боярышников перистонадрезанного (1 и 2), кроваво-красного (3 и 4, соответственно) и экстрактов в нейтральном этаноле из мякоти плодов кроваво-красного (5) и перистонадрезанного (6) боярышников. По вертикали – абсорбция (A), по горизонтали – длина волны ( $\lambda$ ).

1 и 3) имеют один максимум поглощения в ультрафиолетовом диапазоне ( $281 \pm 1$  нм) и другой в видимой зеленой области ( $537 \pm 1$  нм), который проявляется только в кислой среде (при pH1) и зачастую называется «антоциановым». Данные спектрофотометрии показывают, что экстинкция (рис. 3, Aa) «антоцианового» максимума в СП экстракта оболочки боярышника перистонадрезанного превышает таковую кроваво-красного в 2,28 раза ( $p < 0,05$ ).

АС экстрактов в подкисленном 95% этаноле мякоти плодов тех же растений (рис. 3, кривые 2 и 4) содержат три максимума: два в ультрафиолете ( $282 \pm 2$  и  $322 \pm 2$  нм) и один «антоциановый» в видимом диапазоне на той же длине волны, что и «антоциановые» максимумы в СП оболочек. При этом экстинкция «антоцианового» максимума в СП мякоти плодов перистонадрезанного превышает аналогичную экстинкцию кроваво-красного боярышника в 2,87 раза ( $p < 0,05$ ).

Суммарное содержание антоцианов в плодах боярышника кроваво-красного получено для оболочек  $395 \pm 27,6$  мг/100 г и для мякоти –  $24,06 \pm 1,42$  мг/100 г, а в плодах перистонадрезанного, соответственно, в 2,2 и 6,29 раза больше ( $p < 0,05$ ). При этом коэффициенты устойчивости антоцианов из оболочек кроваво-красного и перистонадрезанного боярышников составили  $0,71 \pm 0,03$  и  $0,83 \pm 0,04$ , а из мякоти –  $0,65 \pm 0,03$  и  $0,74 \pm 0,04$ , соответственно.

СП экстрактов из мякоти плодов боярышников в нейтральном 95% этаноле (рис. 3, кривые 5 и 6) включают «каротиноидную» триаду максимумов поглощения в видимом «синем» диапазоне на длинах волн  $427 \pm 1$ ,  $453 \pm 1$  и  $480 \pm 1$  нм, различие экстинкций этих максимумов статистически незначимо ( $p > 0,05$ ). При этом также получено, что суммарное содержание каротиноидов в мякоти плодов исследованных боярышников находится

в пределах от  $3,2 \pm 0,3$  до  $3,6 \pm 0,6$  мг/100 г, а в перикарпиях – в 8–12 раз меньше.

#### Обсуждение полученных данных

Из двух исследованных видов боярышника наиболее близок к фармакопейному кроваво-красному по спектральным характеристикам экстрактов из цветков и плодов боярышник перистонадрезанный. Количества каротиноидов, выявленные в плодах указанных растений, совпадают, что не противоречит литературным данным [1], а по содержанию и устойчивости антоцианов перистонадрезанный боярышник превосходит кроваво-красный. Последнее имеет немаловажное значение для производства, поскольку устойчивые

антоцианы меньше подвержены деградации в технологических процессах, например, при сушке сырья [13].

При сопоставлении СП «стандартного» экстракта и водного настоя получены равные длины волн для максимумов, аналогично и для минимумов (табл. 1), Z-критерию каждого этих двух ЧПС присвоено значение «ноль», и они из дальнейшего анализа исключены.

Среди оставшихся 15 показателей только длины волн 2-й точки перегиба сравниваемых СП совпадают ( $p > 0,05$ ), соответственно  $Z(+)=1$ . Остальные 14 показателей имеют статистически значимое различие ( $p < 0,05$ ), и  $Z(-)=14$ . При сопоставлении ЧПС «стандартного» и настойки в 40% этаноле оказались равными длины волн левых точек перегиба (табл. 1),  $Z(0)=1$ ;

Таблица 1

Показатели элементов спектрограмм экстрактов плодов боярышника перистонадрезанного при разном содержании этанола в экстрагентах

Элемент спектрограммы*	Показатель**	Содержание этанола в экстрагентах		
		70% (стандарт)	0 (водный настой)	40%
M	A, усл. ед.	$1,04 \pm 0,02$	$1,11 \pm 0,05$	$1,08 \pm 0,07$
	$\lambda$ , нм	$280 \pm 1$	$280 \pm 1$	$279 \pm 1$
Тпл	A, усл. ед.	$0,808 \pm 0,007$	$0,872 \pm 0,005$	$0,871 \pm 0,043$
	$\lambda$ , нм	$268 \pm 1$	$270 \pm 1$	$268 \pm 1$
	df, усл. ед.	$0,0232 \pm 0,0014$	$0,0186 \pm 0,0009$	$0,0211 \pm 0,0012$
Тпп1	A, усл. ед.	$0,739 \pm 0,064$	$0,698 \pm 0,052$	$0,577 \pm 0,034$
	$\lambda$ , нм	$289 \pm 1$	$306 \pm 1$	$311 \pm 1$
	df, усл. ед.	$-0,0485 \pm 0,0032$	$-0,0007 \pm 0,00003$	$-0,0013 \pm 0,0006$
Ст	A, усл. ед.	$0,429 \pm 0,016$	$0,408 \pm 0,012$	$0,349 \pm 0,009$
	$\lambda$ , нм	$309 \pm 1$	$323 \pm 1$	$327 \pm 1$
	df, усл. ед.	$-0,0027 \pm 0,0003$	$-0,0136 \pm 0,0022$	$-0,0102 \pm 0,0009$
Тпп2	A, усл. ед.	$0,361 \pm 0,021$	$0,098 \pm 0,008$	$0,162 \pm 0,008$
	$\lambda$ , нм	$344 \pm 1$	$346 \pm 1$	$374 \pm 1$
	df, усл. ед.	$-0,0061 \pm 0,0005$	$-0,0006 \pm 0,00002$	$-0,0041 \pm 0,0007$
ПП	S, усл. ед.	$28,82 \pm 2,7$	$31,26 \pm 2,6$	$31,86 \pm 2,9$
Мин	A, усл. ед.	$0,766 \pm 0,032$	$0,728 \pm 0,053$	$0,714 \pm 0,058$
	$\lambda$ , нм	$259 \pm 1$	$259 \pm 1$	$258 \pm 1$

\* M – максимум, Тпл – точка перегиба слева, Тпп1 – 1-я точка перегиба справа, Ст – ступенька, Тпп2 – 2-я точка перегиба справа, ПП – полоса поглощения, Мин – минимум.  
\*\* A – абсорбция,  $\lambda$  – длина волны, df – производная, S – площадь полосы поглощения.

Показатели элементов спектрограмм экстрактов плодов боярышника разных фармацевтических фабрик

Элемент спектрограммы*	Показатель**	Фирма-производитель		
		Флора Кавказа	Синтез	Марбиофарм
М	А, усл. ед.	1,012±0,056	1,022±0,034	1,026±0,028
	λ, нм	278±1	279±1	277±1
Тпл	А, усл. ед.	0,935±0,072	0,960±0,064	0,987±0,083
	λ, нм	268±1	267±1	267±1
	df, усл. ед.	0,0114±0,0053	0,0097±0,0061	0,0034±0,0019
Тпп1	А, усл. ед.	0,851±0,023	0,856±0,032	0,840±0,016
	λ, нм	289±1	289±1	289±1
	df, усл. ед.	-0,0295±0,0014	-0,0281±0,0019	-0,0241±0,0022
Ст	А, усл. ед.	0,619±0,051	0,638±0,042	0,587±0,033
	λ, нм	305±1	304±1	311±1
	df, усл. ед.	-0,0071±0,0005	-0,0073±0,0004	-0,0059±0,0003
Тпп2	А, усл. ед.	0,382±0,011	0,389±0,008	0,409±0,009
	λ, нм	347±1	346±1	339±1
	df, усл. ед.	-0,0083±0,0006	-0,0067±0,0005	-0,0070±0,0006
ПП	S, усл. ед.	23,42±2,29	22,25±2,01	22,17±2,32
Мин	А, усл. ед.	0,876±0,063	0,915±0,084	0,977±0,086
	λ, нм	260±1	260±1	263±1

\* М – максимум, Тпл – точка перегиба слева, Тпп1 – 1-я точка перегиба справа, Ст – ступенька, Тпп2 – 2-я точка перегиба справа, ПП – полоса поглощения, Мин – минимум.  
\*\* А – абсорбция, λ – длина волны, df – производная, S – площадь полосы поглощения.

среди оставшихся 16 ЧПС статистические совпадения имеют длины волн как минимумов, так и максимумов, Z(+)=2, а остальные ЧПС статистически различны (p<0,05), значит, Z(-)=14.

При сопоставлении ЧПС настоек производства ОАО «Флора Кавказа» (условно принято как «стандарт») и «Синтез» (табл. 2), выявлено, что статистически значимое различие имеют экстинкции левых точек перегиба, минимумов, а также значения производной во 2-й правой точке перегиба, Z(-)=3, остальные 14 показателей совпадают, соответственно Z(+)=14. Сопоставление ЧПС настоек производства ОАО «Флора Кавказа» и «Марбиофарм» показало, что статистически значимые различия имеют экстинкции левых точек перегиба, ступенек, минимумов, а также значения производных в левых точках перегиба, т. е. Z(-)=4, остальные показатели статистически совпадают: Z(+)=13.

#### Заключение

Таким образом, при сравнении СП извлечений, приготовленных в стандартных и в отличающихся искусственно измененных условиях, полученные значения Z-критериев указывают на несостоятельность нулевой гипотезы и достоверное различие соответствующих ЧПС тех и других извлечений. Напротив, для СП настоек, приготовленных в определенных условиях промышленного производства, значения Z-критериев дают основания для принятия нулевой гипотезы, т.е. различие ЧПС для СП настоек недостоверно. Итак, использованные для сравнений ЧПС указывают на отклонение СП извлечений от стандарта или на совпадение с ним.

**Конфликт интересов:** автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования:** автор заявляет о финансировании проведенного исследования из государственных средств.

#### Литература / References

1. Лебеда А.Ф., Джуренко Н.И., Исайкина А.П., Собко В.Г. *Лекарственные растения*. М.: АСТ-Пресс, 2011. 496 с. [Lebeda AF, Dzhu-renko NI, Isajkina AP, Sobko VG. *Medicinal plants*. Moscow: AST-Press; 2011. (In Russ).]
2. Pittler MH, Schmidt K, Ernst E. Hawthorn extract for treating heart failure: Meta-analysis of randomized trials. *Am J Med*. 2003;114(8):665–8.
3. Мазнев Н.И. *Новейшая энциклопедия лекарственных растений*. М.: Дом 21 век, 2009. 621 с. [Maznev NI. *The latest encyclopedia of medicinal plants*. Moscow: Dom 21 vek; 2009. (In Russ).]
4. Dahmer S, Scott E. Health effect of Hawthorn. *American Family Physician*. 2010;81(4):465–8.
5. *Государственная фармакопея СССР*. X издание. М., 1968. 1080 с. [The State Pharmacopoeia of USSR. Publication 10. Moscow; 1968. (In Russ).]
6. Машковский М.Д. *Лекарственные средства*. М.: Новая волна, 2014. 1216 с. [Mashkovskij MD. *Medicinal drugs*. Moscow: Novaya Volna; 2014. (In Russ).]
7. Зориков П.С. *Основные лекарственные растения Приморского края*. Владивосток: Дальнаука, 2004. 129 с. [Zorikov PS. *The basic medicinal plants of Primorsky region*. Vladivostok: Dalnauka; 2004. (In Russ).]
8. *Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность*. Т. 2. М.: КМК, 2009. 513 с. [Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Vol. 2. Moscow: KMK; 2009. (In Russ).]
9. Колдаев В.М. *Числовые показатели спектров поглощения извлечений из листьев растений Приморья*. Владивосток: Дальнаука, 2018. 120 с. [Koldaev VM. *Numerical indexes of absorption spectra of extracts from leaves of Primorye plants*. Vladivostok: Dalnauka; 2018 (In Russ).]
10. Stuckey RE. Review article the applications of ultra-violet absorption spectrophotometry in pharmaceutical analysis. *J Pharm Pharmacol*. 2011;4(1):12–21.
11. *Государственная фармакопея СССР*. XI издание. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. М., 1990. 360 с. [The state Pharmacopoeia of USSR. Publication 11. Issue 2. The general Methods of analysis. Medicinal plant materials. Moscow; 1990. (In Russ).]
12. ГОСТ 13496.17–95. *Корма. Методы определения каротина*. М., 2011. 130 с. [GOST 13496.17–95. *The pet food. Methods of carotenoids definition*. Moscow, 2011. (In Russ).]
13. Колдаев В.М. Оптические свойства антоцианосодержащих извлечений из растительного сырья. *Тихоокеанский мед. журнал*. 2018;2:50–2. [Koldaev VM. The optical properties of including anthocyan extracts from plant's material. *Pacific Medical Journal*. 2018;2:50–2 (In Russ).]
14. Колдаев В.М., Кропотов А.В. *Основные приемы статистики в медико-биологических исследованиях*. Владивосток: Медицина ДВ, 2019. 104 с. [Koldaev VM, Kropotov AV. *Main techniques of statistics in biomedical researches*. Vladivostok: Medicina DV; 2019. (In Russ).]
15. McDonald JH. *Handbook of biological statistics*. 3<sup>rd</sup> ed. Baltimore: Sparky House Publishing; 2014.