

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья УДК 543.544.943.3.068.7

doi: 10.17308/sorpchrom.2023.23/11564

Применение TCX для оценки профиля флавоноидов листьев облепихи крушиновидной различных фаз заготовки

Ольга Валерьевна Тринеева[™], Наталья Александровна Ковалева, Елена Федоровна Сафонова, Алексей Иванович Сливкин

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, trineevaov@mail.ru[™]

Аннотация. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) – многолетний ветроопыляемый двудомный ягодный кустарник. Листья, по данным литературы, содержат флавоноиды, дубильные вещества, витамины, органические, полиненасыщенные жирные кислоты и аминокислоты и позиционируются как источник фенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества, фенолокислоты). Согласно литературным данным, листья облепихи крушиновидной содержат различные флавоноиды, извлекаемые в основном спирто-водными смесями. Так в составе комплекса флавоноидов установлены производные кверцетина, изорамнетина и кемпферола (рутин, кверцитрин, мирицетин, лютеолин, витексин, нарциссин и др.). По данным авторов, ежегодный запас листьев облепихи только на Большом Кавказе составляет 3-5 т. При этом листья являются ежегодно возобновляемым побочным продуктом при заготовке основного сырья — плодов, что определяет актуальность комплексных исследований фитохимического состава листьев в рамках ресурсосберегающих технологий производства ЛРП.

Целью исследования является обоснование выбора условий хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной методом TCX и изучение их состава на различных сроках заготовки.

Основываясь на параметрах эффективности хроматографирования, по совокупности способов визуальной оценки хроматограмм и их обработки при помощи компьютерной программы «Денситометр Сорбфил» подобраны оптимальные условия разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной в тонком слое сорбента: подвижная фаза этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода (5:1:1); проявитель – 5% спиртовый раствор алюминия хлорида при просмотре в УФ-свете; 7 мкл извлечения при использовании пластин типа ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см). Установлено наличие 18 биологически активных веществ флавоноидной природы. Установлено, что при заготовке листьев в период с начала июня по конец августа (фазы 1-3) качественный состав флавоноидов не меняется. Однако, при сборе листьев одновременно с плодами, в ТСХ-профиле извлечений зоны флавоноидов визуально характеризуются меньшей площадью и интенсивностью окраски, чем при заготовке их в период формирования плодов. В настоящее время исследования по обоснованию оптимальной фазы заготовки листьев с точки зрения их фитохимического состава и сохранения ценности плодов продолжаются. Тем не менее, разработанная в работе методика может быть рекомендована для включения в современную НД на облепихи крушиновидной листья любой фенологической фазы жизни растения для идентификации данного сырья по специфическому профилю флавоноидов. В дальнейших исследованиях также необходимо оценить влияние климатических условий произрастания растения, особенностей культивирования и сортового разнообразия на воспроизводимость полученного в данной работе ТСХ-профиля флавоноидов листьев.

Ключевые слова: профиль флавоноидов, листья облепихи крушиновидной, ТСХ.

Для цитирования: Тринеева О.В., Ковалева Н.А., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Применение ТСХ для оценки профиля флавоноидов листьев облепихи крушиновидной различных фаз заготовки // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 547-557. https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2023.23/11564



Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 547-557. Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy. 2023. Vol. 23, No 4. pp. 547-557.

ISSN 1680-0613

Original article

Application of TLC for the assessment of the flavonoid profile of sea buckthorn leaves during different phases of their preparation

Olga V. Trineeva[™], Natalya A. Kovaleva, Elena F. Safonova, Alexey I. Slivkin

Voronezh State University, Voronezh, Russia, trineevaov@mail.ru[™]

Abstract. Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) is a perennial wind-pollinated dioecious berry shrub. The leaves, according to the literature, contain flavonoids, tannins, vitamins, organic, polyunsaturated fatty acids and amino acids and are a source of phenolic compounds (flavonoids, tannins, phenolic acids). According to the literature, sea buckthorn leaves contain various flavonoids, extracted mainly by alcohol-water mixtures. Thus, the composition of the flavonoid complex contains derivatives of quercetin, isorhamnetin and kaempferol (rutin, quercitrin, myricetin, luteolin, vitexin, narcissin, etc.). According to the authors, the annual supply of sea buckthorn leaves in the Greater Caucasus is 3-5 tons. Moreover, the leaves are an annually renewable byproduct obtained during the procurement of the main raw material – fruits, which determines the relevance of comprehensive studies of the phytochemical composition of leaves within the framework of resource-saving technologies for the production of herbal medicines.

The purpose of our study was to substantiate the choice of conditions for the chromatographic separation of flavonoids from sea buckthorn leaves using TLC and investigation of their composition at different harvesting times

Based on the parameters of chromatography efficiency, using a set of methods for visual assessment of chromatograms and their processing using the computer program "Densitometer Sorbfil", the optimal conditions were selected for the separation of flavonoids from sea buckthorn leaves in a thin layer of sorbent: mobile phase ethyl acetate-glacial acetic acid-water (5:1: 1); developer – 5% alcohol solution of aluminium chloride when observed under UV light; 7 µl of extraction using HPTLC plates "Silica gel 60 F254" (10x15 cm). The presence of 18 biologically active substances with a flavonoid nature has been established. It has been established that when leaves are harvested from the beginning of June to the end of August (phases 1-3), the qualitative composition of pigments does not change. However, when the leaves are collected simultaneously with the fruits, in the TLC profile of the extracts, the zones of flavonoids were visually characterized by a smaller area and colour intensity than when they were harvested during the period of fruit formation. Now, research to substantiate the optimal phase of harvesting leaves from the point of view of their phytochemical composition and preserving the value of the fruit is ongoing. However, the method developed in the study can be recommended for inclusion in modern ND for sea buckthorn leaves of any phenological phase of plant life for the identification of a specific flavonoid profile of this raw material. In further studies, it is also necessary to evaluate the influence of the climatic conditions of plant growth, cultivation characteristics and varietal diversity on the reproducibility of the TLC profile of leaf flavonoids obtained in this study.

Keywords: flavonoid profile, sea buckthorn leaves, TLC.

For citation: Trineeva O.V., Kovaleva N.A., Safonova E.F., Slivkin A.I. Application of TLC for the assessment of the flavonoid profile of sea buckthorn leaves during different phases of their preparation. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2023. 23(4): 547-557. (In Russ.). https://doi.org/10.17308/sorp-chrom.2023.23/11564

Введение

Дикорастущие виды растений особенно привлекательны для исследователей ввиду их перспективности в производстве лекарственных растительных препаратов (ЛРП) широкого спектра действия. Как правило, они содержат сбалансированный комплекс биологически активных веществ (БАВ). Облепиха крушиновидная (Hippophae rhamnoides L.) —

многолетний ветроопыляемый двудомный ягодный кустарник. Плоды облепихи достаточно хорошо изучены и являются фармакопейным сырьем для получения субстанции растительного происхождения — облепихового масла [1] и различных ЛРП на его основе. Другие же части растения (листья, почки, побеги, кора) активно изучаются как российскими, так и зарубежными исследователями, но в официнальной медицине используются пока



ограничено. Так листья, по данным литературы, содержат флавоноиды, дубильные вещества, витамины, органические, полиненасыщенные жирные кислоты и аминокислоты [2-4] и позиционируются как источник фенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества, фенолокислоты). На их основе получают ЛРП противовирусного действия «Гипорамин», представляющий собой очищенную фракцию полифенолов - мономерных гидролизуемых галло-эллаготанинов. Кроме того, в настоящее время во всем мире ведутся активные доклинические исследования по выявлению и других видов фармакологической активности экстрактов листьев [5]. Согласно литературным данным, листья облепихи крушиновидной содержат различные флавоноиды, извлекаемые в основном спирто-водными смесями. Так в составе комплекса флавоноидов установлены производные кверцетина, изорамнетина и кемпферола (рутин, кверцитрин, мирицетин, лютеолин, витексин, нарциссин и др.) [4, 6-9]. По данным авторов [6], ежегодный запас листьев облепихи только на Большом Кавказе составляет 3-5 т. Ресурсоведческие аспекты оценки сырьевых запасов листьев на территории РФ (в культуре и дикорастущем виде) пока в литературе не обсуждены. При этом листья являются ежегодно возобновляемым побочным продуктом при заготовке основного сырья - плодов, что определяет актуальность комплексных исследований фитохимического состава листьев в рамресурсосберегающих технологий производства ЛРП.

Поэтому целью нашего исследования является обоснование выбора условий хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной методом ТСХ и изучение их состава на различных сроках заготовки.

Экспериментальная часть

Объект исследования – собранные на территории Воронежской области и высушенные воздушно-теневым способом

до остаточной влажности не более 10% облепихи крушиновидной листья трех фенологических фаз [10] жизни растения (I — фаза завязывания плодов, II — фаза единичного созревания плодов, III — фаза массового созревания плодов) в 2022 году. Заготовку вели от дикорастущих мужских и женских растений. Для дальнейших исследований отбиралась средняя проба высушенного сырья.

Для отработки условий хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной извлечение получали путем экстракции сырья на водяной бане с обратным холодильником в течение 45 минут с применением 70% спирта этилового в соотношении 1:50 [11-14].

В работе были использованы следующие растворители/реактивы: алюминия хлорид шестиводный, натрия гидроксид, ледяная уксусная кислота, этилацетат марок х.ч. и ч.д.а. (ЗАО «Вектон», СПб, Россия).

Качественный анализ на присутствие флавоноидов проводили методом ТСХ [15, 16]. Для хроматографирования использовались пластины марки «Silica gel 60 F254» на алюминиевой подложке (Germany) размером 20×20 см и марки «Sorbfil» (Россия, Краснодар) различных типов (ПТСХ-АФ-А-УФ; ПТСХ-АФ-В- $У\Phi$; ПТСХ-П-А-У Φ , ПТСХ-П-В-У Φ) размерами 10×10 и 10×15 см. Пробы наносили с помощью микрошприца МШ-10 (Россия, СПб, ЗАО «Вектон). Хроматографирование каждой пробы проводились не менее чем в пятикратной повторности, в работе приведены средние значения обсуждаемых величин.

В качестве элюентов были использованы наиболее часто рекомендуемые в литературе системы этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода в соотношениях (7.5:1.5:1.5) и (5:1:1) с близкими значениями полярности по Л. Снайдеру 5.31 и 5.25 соответственно [17, 18], а для идентификации полученных зон был использован УФ-свет после обработки пластин



10% спиртовым раствором NaOH и 5% спиртовым раствором алюминия хлорида.

Обсуждение результатов

Тип и размер пластин, как известно, существенным образом влияет на каче-

ство разделения зон БАВ на хроматограммах. Поэтому в работе проведена сравнительная характеристика различных пластин для ТСХ (таблица 1) на основе показателей эффективности с целью выбора наиболее предпочтительных.

Таблица 1. Параметры эффективности хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной на различных типах пластин для TCX (этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода в соотношениях (7.5:1.5:1.5); проявитель — 10% спиртовым раствором NaOH)

Table 1. Efficiency parameters for the chromatographic separation of flavonoids from sea buckthorn leaves on various types of TLC plates (ethyl acetate-glacial acetic acid-water in ratios (7.5:1.5:1.5); de-

veloper – 10% alcohol solution of NaOH)

veloper 10	% alcohol solut									
Моролия	ПТСХ-А	Ф-В-УФ (10×	ПТСХ-	№ зоны						
№ зоны	$R_f \pm 0.02$	α^*	R**	$R_f \pm 0.02$	α	R	№ 30ны			
1	0.29	2.45	2.45	0.24	3.17	2.60	1			
2	050	1.0	2.43	0.45	1.22	2.00	2			
3	0.58	0.72	3.40	0.55	0.82	1.49	3			
4	0.63	0.59	1.22	0.78	0.28	2.93	4			
5	0.69	0.45	1.31	0.93	0.08	3.73	5			
6	0.73	0.37	1.22	0.99	0.01	7.50	6			
7	0.80	0.25	1.48	_						
8	0.85	0.18	1.39							
9	0.90	0.11	1.64							
10	0.94	0.06	1.72							
11	0.99	0.01	6.40							
	ПТСХ-АФ-А-У	√Ф (10×10 см		ПТСХ-П-В-УФ (10×15 см)						
1	0.24	3.17	2.50	0.25	2.91	2.85	1			
2	0.44	1.27	2.30	0.50	1.02	2.83	2			
3	0.48	1.08	1.18	0.69	0.45	2.67	3			
4	0.52	0.92	1.17	0.88	0.14	3.21	4			
5	0.58	0.72	1.28	0.98	0.03	5.60	5			
6	0.68	0.47	1.53	0.99	0.01	3.13	6			
7	0.76	0.32	1.47							
8	0.93	0.08	4.27	_						
9	0.98	0.02	3.75							
ВЭТ	CX «Silica gel 6	10 см)	BЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см)							
1	0.07	13.93	3.70	0.02	44.45	3.35	1			
2	0.21	3.76	3.70	0.07	13.28	3.33	2			
3	0.26	2.85	1.32	0.10	9.00	1.48	3			
4	0.30	2.33	1.22	0.13	6.69	1.35	4			
5	0.38	1.63	1.43	0.19	4.26	1.57	5			
6	0.45	1.22	1.34	0.22	3.54	1.20	6			
7	0.52	0.92	1.33	0.25	3.00	1.18	7			
8	0.64	0.56	1.64	0.27	2.70	1.11	8			
9	0.88	0.14	4.00	0.30	2.33	1.16	9			
10	0.98	0.02	7.00	0.33	2.03	1.15	10			
				0.39	1.56	1.30	11			
			0.41	1.44	1.08	12				
			0.44	1.27	1.13	13				
			0.48	1.08	1.18	14				
	_		0.54	0.85	1.27	15				
				0.56	0.79	1.08	16			
				0.65	0.54	1.46	17			
				0.88	0.14	3.86	18			
				0.98	0.02	7.00	19			

^{*} α – селективность разделения; **R – разрешение двух хроматографических зон [17,18].

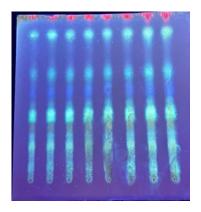


Рис. 1. Вид хроматограммы извлечений из высушенных листьев облепихи крушиновидной в УФ-свете после проявления 10% спиртовым раствором NaOH (слева направо: 2 мкл; 3 мкл; 4 мкл; 5 мкл; 6 мкл; 7 мкл; 8 мкл; 9 мкл)

Fig. 1. Chromatogram of extracts from dried sea buckthorn leaves in UV light after development with a 10% alcohol solution of NaOH (from left to right: 2 μl; 3 μl; 4 μl; 5 μl; 6 μl; 7 μl; 8 μl; 9 μl)

Предварительно установлено, что оптимальный объем пробы извлечения для всех изученных типов пластин составляет 7-10 мкл при нанесении в виде тонкой полосы длиной не более 5 мм, а не круглой зоны).

В использованных элюирующих системах наблюдается удовлетворительное разделение хроматографических зон флавоноидов на всех использованных пластинах, так как значение селективности сорбции (коэффициента разрешения двух рядом расположенных хроматографических зон), больше 1.0 (таблица 1). Однако, наибольшее количество разделяемых зон флавоноидов листьев в тонком слое удалось достичь только при использовании пластин типа ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см). Их использовали в дальнейшей работе.

На хроматограммах извлечения из листьев облепихи в УФ-свете при нанесении 7 мкл после проявления 10% спиртовым раствором NaOH или 5% спиртовым

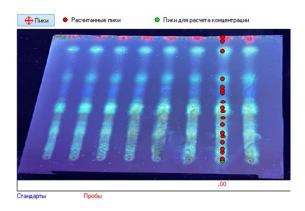


Рис. 2. Скрин данных результатов определения количества зон на треке извлечений из высушенных листьев облепихи крушиновидной в УФ-свете после проявления 10% спиртовым раствором NaOH (слева направо: 2 мкл; 3 мкл; 4 мкл; 5 мкл; 6 мкл; 7 мкл; 8 мкл; 9 мкл)

Fig. 2. Screenshot of the results of determining the number of zones on the track of extracts from dried sea buckthorn leaves in UV light after development with a 10% alcohol solution of NaOH (from left to right: 2 µl; 3 µl; 4 µl; 5 µl; 6 µl; 7 µl; 8 µl; 9 µl)

раствором алюминия хлорида наблюдали 19 зон. При сравнении величин R_f полученных хроматографических зон со стандартными образцами, были идентифицированы зоны рутина (R_f =0.54±0.02); кверцетина (R_f =0.78±0.02) и лютеолин-7-гликозида (R_f =0.76±0.02). Неидентифицированные зоны предположительно относятся к флавоноидам, так как имеют характерное свечение в УФ-свете [15, 16]. Зона co значением величины R_f =0.99±0.01 относится к хлорофилловым соединения (зеленая окраска в видимом свете и розовая – в УФ-свете). Полученный вид хроматограммы извлечений в УФ-свете из листьев облепихи крушиновидной представлен на рис. 1.

При визуальной оценке хроматограмм с большим количеством разделяемых зон с близкими значениями величин $R_{\rm f}$ возможны ошибки, поэтому полученные результаты сравнивали с данными обработки хроматограмм компьютерной программой «Денситометр Сорбфил» (ООО



Таблица 2. Сравнение параметров эффективности хроматографического разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной в различных системах (ВЭТСХ «Silica gel 60 F254» (10×15 см); проявитель – 5% спиртовый раствор алюминия хлорида) по данным программы «Денситометр Сорбфил» Table 2. Comparison of efficiency parameters for the chromatographic separation of flavonoids from sea buckthorn leaves in various systems (HPTLC "Silica gel 60 F254" (10×15 cm); developer – 5% alcohol solution of aluminium chloride) according to the Sorbfil Densitometer program

solution of aluminium chloride) according to the Sorbin Densitometer program										TT	
	этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода					этилацетат-ледяная уксусная кис-					Цвет
		(5:1:1)					лота-вода (7.5:1.5:1.5)				30НЫ В
Пик	R _f ±0.02	S мкм ²	%S	Н, мкм	%Н	$R_{ m f}$	S mkm ²	%S	Н, мкм	%Н	УФ- свет е
1	0.02	31700	2.8	2050	3.5	0	33850	1.8	3735	4.6	жел-
2	0.09	115800	10.2	2610	4.4	0.02	104300	5.5	4310	5.4	тый
3	0.19	41800	3.7	2073	3.5	0.09	217300	11.5	6250	7.8	ГО-
4	0.24	74500	6.6	3172	5.4	0.13	84200	4.5	4811	6	лу-
5	0.26	59200	5.2	3063	5.2	0.18	59100	3.1	3907	4.9	бо-
6	0.32	52800	4.7	2798	4.8	0.21	94060	5	4774	5.9	вато -зе-
7	0.36	113850	10	3843	6.5	0.24	108750	5.8	6557	8.1	ле-
8	0.41	79400	7	3858	6.6	0.26	139300	7.4	5831	7.2	ный
9	0.46	119000	10.5	5056	8.6	0.32	82400	4.4	4365	5.4	си-
10	0.50	11700	1	1307	2.2	0.36	70300	3.7	3023	3.8	ний
11	0.51	24000	2.1	1292	2.2	0.42	114400	6.1	6630	8.2	ярко
12	0.57	18700	1.6	952	1.6	0.45	241900	12.8	7948	9.9	-го- лу-
13	0.62	16700	1.5	941	1.6	0.50	60550	3.2	2693	3.3	бая
14	0.71	113600	10	2861	4.9	0.58	118300	6.3	3052	3.8	го-
15	0.76	18300	1.6	1247	2.1	0.68	166260	8.8	3423	4.3	лу- бо-
16	0.78	16400	1.4	1021	1.7	0.82	19450	1	1090	1.4	вато
17	0.84	19400	1.7	1114	1.9	0.84	7200	0.4	1032	1.3	-3e-
18	0.90	141800	12.5	4617	7.8	0.9	135300	7.2	5438	6.8	ле- ный
19	0.98	30750	2.7	3069	5.2	0.99	27700	1.5	1456	1.8	ро- зо- вый
Сум-	_	1134800	ı	58886		ı	1886000		80464		_

«Имид», Краснодар), расположенной в аудитории фитониринга им. проф. М. Поппа фармацевтического факультета ВГУ. Для чего полученные хроматограммы сканировались при помощи планшетного сканера с разрешением не менее 600 dpi, а изображения обрабатывались указанным выше программным обеспечением. В результате при использовании исследуемых систем и детектирующих реагентов обнаружено также 19 зон (рис. 2-3). Расчет значений величин $R_{\rm f}$

при помощи данной программы считается более правильным, так как центр зоны не всегда совпадает с визуальным (таблица 2).

Таким образом, разделение флавоноидов можно проводить в любой из исследованных систем. Однако, лучшей подвижной фазой с точки зрения высоты, эквивалентной теоретической тарелке, является система этилацетат-ледяная уксусная кислота-вода (5:1:1), которая далее использована в работе и может быть

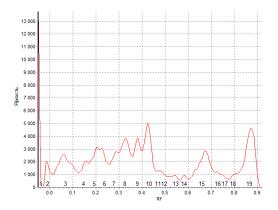


Рис. 3. Вид денситограммы трека разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной

Fig. 3. Densitogram of the track separation of flavonoids from sea buckthorn leaves

рекомендована для включения в современную нормативную документацию (НД).

Известно, что группа фенольных соединений (флавоноидов в частности) в растениях неоднородна, а их содержание вариабельно в зависимости от различных факторов внешней среды. Так, интересным представлялось изучить состав данных БАВ листьев в различные фенофазы (рис. 4) с целью научно обоснованного определения оптимального срока заготовки данного лекарственного растительного сырья (ЛРС).

Полученные данные показали, что при заготовке листьев в период с начала июня по конец августа (фазы 1-3) качественный состав пигментов не меняется. Однако, при сборе в период технической спелости плодов (конец августа — начало сентября — фаза 3), в ТСХ-профиле извлечений зоны флавоноидов визуально характеризуются меньшей площадью и интенсивностью окраски. Это может быть связано с тем, что флавоноиды в процессе развития растения подвергаются химиче-

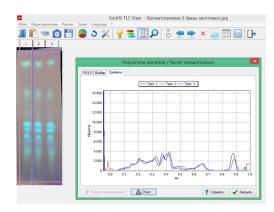


Рис. 4. Воспроизводимость величин R_f при оценке 3-х однотипных треков (трек 1 – фаза заготовки 1; трек 2 – фаза заготовки 2; трек 3 – фаза заготовки 3) на хроматограммах извлечений из листьев (скрин экрана)

Fig. 4. Reproducibility of R_f values when assessing 3 tracks of the same type (track 1- harvesting phase 1; track 2- harvesting phase 2; track 3- harvesting phase 3) on chromatograms of extracts from leaves (screen shot)

ским превращениям (окисление, гидролиз), что приводит к снижению их концентрации к окончанию вегетации.

Заключение

Таким образом, основываясь на параметрах эффективности хроматографирования, по совокупности способов визуальной оценки хроматограмм и их обработки при помощи компьютерной программы «Денситометр Сорбфил» подобраны оптимальные условия разделения флавоноидов листьев облепихи крушиновидной в тонком слое сорбента. Установлено наличие 18 БАВ флавоноидной природы, а также хлорофилл [19]. Установлено, что при заготовке листьев в период с начала июня по конец августа (фазы 1-3) качественный состав пигментов не меняется. Однако, при сборе листьев одновременно с плодами, в ТСХ-профиле извлечений зоны флавоноидов визуально характеризуются меньшей площадью и интенсивностью окраски, чем при заготовке их в период формирования плодов, что согласуется с опубликованными нами



ранее данными о количественном содержании суммы флавоноидов в листьях различных фаз заготовки [20]. В настоящее время исследования по обоснованию оптимальной фазы заготовки листьев с точки зрения их фитохимического состава и сохранения ценности плодов продолжаются. Тем не менее, разработанная в работе методика может быть рекомендована для включения в современную НД на облепихи крушиновидной листья любой фенологической фазы жизни растения для идентификации данного сырья по специфическому профилю флавоноидов. В дальнейших исследованиях также

Список литературы

- 1. Михеев А.М., Деменко В.И. *Обле- пиха*. М.: Росагропромиздат, 1990. 48 с.
- 2. Хасенова А.Б., Аралбаева А.Н., Утегалиева Р.С., Маматаева А.Т., Мурзахметова М.К. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) источник биоактивных веществ // *Вестник Алматинского технологического университета*. 2020. №1. С. 82-86.
- 3. Абдыкаликова К.А., Нечипоренко Л.П. Фитохимический состав надземной части облепихи крушиновидной // *Естественные науки*. 2008. № 4. С. 104-107.
- 4. Jaroszewska A., Biel W. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2017. no 77. P. 155-162. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000200155.
- 5. Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // *J Ethnopharmacol.* 2011. No 138(2). P. 268-278. https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.024.
- 6. Новрузов Э.Н., Мамедов З.Г., Мустафаева Л.А., Мирюсифова Х.М., Зейналова А.М. Состав и содержание флавоноидов листьев *Hippophae rhamnoides* L., произрастающих в Азербайджане // *Химия растительного сырья.* 2018. №3. С. 209-214.

необходимо оценить влияние климатических условий произрастания растения, особенностей культивирования и сортового разнообразия на воспроизводимость полученного в данной работе ТСХ-профиля флавоноидов листьев.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033772

- 7. Dharam P.A., Amrit K.S., Jyoti K., Tanveer N. Pharmacognostical Characterization and Preliminary Phytochemical Investigation of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Leaves // *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012. №2(2). C. 108-113. https://doi.org/10.35652/IGJPS.2012.13.
- 8. Criste A., Urcan A.C., Bunea A., Furtuna F.R.P., Olah N.K., Madden R.H. et al. Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Varieties // *Molecules*. 2020. №25(5). C. 1170. https://doi.org/10.3390/molecules25051170
- 9. Tkacz K., WojdyłoIgor A., Turkiewicz P., Nowicka P. Triterpenoids, phenolic compounds, macro- and microelements in anatomical parts of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries, branches and leaves // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021. №103. C. 104-107. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104107.
- 10. Исачкин А.В., Зубик И.Н., Потапова А.В., Ермаков М.А. Корреляционный анализ фенофаз и феноинтервалов у сортов облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) в коллекции ГБС РАН им. Н.В. Цицина // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2019. №2. С. 64-69.



- 11. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск: Академическое изд-во «Тео». 2007. 232 с.
- 12. Лесовая Ж.С., Писарев Д.И., Новиков О.О., Романова Т.А. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве манжетки обыкновенной Alchemilla vulgaris L.S.L. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2010. №22(93). С. 145-149.
- 13. Дроздова И.Л., Лупилина Т.И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в траве икотника серого // Курский научнопрактический вестник Человек и его здоровье. 2016. №1. С. 106-112.
- 14. Тринеева О.В., Рудая М.А., Перова И.Б., Сливкин А.И., Эллер К.И. Изучение профиля флавоноидов плодов облепихи крушиновидной различных сортов // Биофармацевтический журнал. 2021. №13(3). С. 22-29.
- 15. Тринеева О.В., Рудая М.А., Сливкин А.И. Исследование профиля флавоноидов плодов облепихи крушиновидной различных сортов методом тонкослойной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2020. Т. 20. № 1. С. 79-86.
- 16. Тринеева О.В., Сафонова И.И., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Определение флавоноидов и исследование влияния условий хранения на их содержание в плодах облепихи методом ТСХ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2012. Т. 12. № 5. С. 806-813.
- 17. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. М.: Мир. 1999. 405 с.
- 18. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж: Изд-во «Водолей». 2004. 528 с.
- 19. Тринеева О.В., Сливкин А.И. Сравнительная характеристика пигментного состава сырья и масляного экстракта

листьев крапивы двудомной. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. №1(14). С. 142-148.

20. Ковалёва Н.А., Тринеева О.В., Чувикова И.В., Сливкин А.И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии. // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2023. Т. 13(2). С. 216-226 https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-531

References

- 1. Miheev A.M., Demenko V.I. Oblepiha. M.: Rosagropromizdat, 1990. 40 p. (In Russ.)
- 2. Hasenova A.B., Aralbaeva A.N., Utegalieva R.S., Mamataeva A.T., Murzahmetova M.K. Oblepiha krushinovidnaja (Hippophae rhamnoides L.) istochnik bioaktivnyh veshhestv. *Vestnik Almatinskogo tehnologicheskogo universiteta*. 2020; 1: 82-86. (In Russ.)
- 3. Abdykalikova K.A., Nechiporenko L.P. Fitohimicheskij sostav nadzemnoj chasti oble-pihi krushinovidnoj. *Estestvennye nauki*. 2008; 4: 104-107. (In Russ.)
- 4. Jaroszewska A., Biel W. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2017; 77: 155-162. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000200155 (In Russ.)
- 5. Suryakumar G., Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol.* 2011; 138(2): 268-278. https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.024
- 6. Novruzov Je.N., Mamedov Z.G., Mustafaeva L.A., Mirjusifova H.M., Zejnalova A.M. Sostav i soderzhanie flavonoidov list'ev Hippophae rhamnoides L., proizrastajushhih v Azerbajdzhane. *Himija rastitel'nogo syr'ja*. 2018; 3: 209-214.



https://doi.org/10.14258/jcprm.2018033772 (In Russ.)

- 7. Dharam P.A., Amrit K.S., Jyoti K., Tanveer N. Pharmacognostical Characterization and Preliminary Phytochemical Investigation of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Leaves // Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences. 2012. №2(2). pp. 108-113. https://doi.org/10.35652/IGJPS.2012.13.
- 8. Criste A., Urcan A.C., Bunea A., Furtuna F.R.P., Olah N.K., Madden R.H. et al. Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Varieties. *Molecules*. 2020; 25(5): 1170. https://doi.org/10.3390/molecules25051170 (In Russ.)
- 9. Tkacz K., WojdyłoIgor A., Turkiewicz P., Nowicka P. Triterpenoids, phenolic compounds, macro- and microelements in anatomical parts of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries, branches and leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021; 103: 104-107. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104107
- 10. Isachkin A.V., Zubik I.N., Potapova A.V., Ermakov M.A. Korreljacionnyj analiz fenofaz i fenointervalov u sortov oblepihi krushinovidnoj (Hippophae rhamnoides L.) v kollekcii GBS RAN im. N.V. Cicina. Vestnik Kurskoj gosudarstvennoj sel'skoho-zjajstvennoj akademii. 2019; 2: 64-69. (In Russ.)
- 11. Korul'kin D.Ju., Abilov Zh.A., Muzychkina R.A., Tolstikov G.A. Prirodnye flavo-noidy. Novosibirsk: Akademicheskoe izd-vo «Teo», 2007, 232 p. (In Russ.)
- 12. Lesovaja Zh.S., Pisarev D.I., Novikov O.O., Romanova T.A. Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredelenija flavonoidov v trave manzhetki obyknovennoj Alchemilla vulgaris L.S.L. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Se-rija: Medicina. Farmacija.* 2010; 22(93): 145-149. (In Russ.)

- 13. Drozdova I.L., Lupilina T.I. Razrabotka i validacija metodiki kolichestvennogo opredelenija flavonoidov v trave ikotnika serogo. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik Chelovek i ego zdorov'e*. 2016; 1: 106-112. (In Russ.)
- 14. Trineeva O.V., Rudaja M.A., Perova I.B., Slivkin A.I., Jeller K.I. Izuchenie profilja flavonoidov plodov oblepihi krushinovidnoj razlichnyh sortov. *Biofarmacevticheskij zhurnal*. 2021; 13(3): 22-29. (In Russ.)
- 15. Trineeva O.V., Rudaja M.A., Slivkin A.I. Issledovanie profilja flavonoidov plodov oblepihi krushinovidnoj razlichnyh sortov metodom tonkoslojnoj hromatografii. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2020; 20(1): 79-86.
- 16. Trineeva O.V., Safonova I.I., Safonova E.F., Slivkin A.I. Opredelenie flav(In Russ.)onoidov i issledovanie vlijanija uslovij hranenija na ih soderzhanie v plodah oblepihi metodom TSH. Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy. 2012; 12(5): 806-813. (In Russ.)
- 17. Geiss F. Osnovy tonkosloinoi khromatografii. M., Mir, 1999, 405 p. (In Russ.)
- 18. Rudakov O.B., Vostrov I.A., Fedorov S.V. i dr. Sputnik khromatografista. Metody zhidkostnoi khromatografii. Voronezh: Izd-vo «Vodolei», 2004, 528 p. (In Russ.)
- 19. Trineeva O.V., Slivkin A.I. Sravnitel'naya kharakteristika pigmentnogo sostava syr'ya i maslyanogo ekstrakta list'ev krapivy dvudomnoi. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2016; 1(14): 142-148. (In Russ.)
- 20. Kovaleva N.A., Trineeva O.V., Chuvikova I.V., Slivkin A.I. Development and validation of a procedure for quantitative determination of flavonoids in sea buckthorn leaves by spectrophotometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023; 13(2): 216-226 https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-531 (In Russ.)



Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, № 4. С. 547-557. Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy. 2023. Vol. 23, No 4. pp. 547-557.

ISSN 1680-0613

Информация об авторах / Information about the authors

- О.В. Тринеева профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета, доктор фармацевтических наук, доцент, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия
- **Н.А. Ковалева** преподаватель, аспирант 2-ого года обучения кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия
- **Е.Ф. Сафонова** доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета, кандидат химических наук, доцент, Воронежский государственный медицинский университет, Воронеж, Россия
- **А.И.** Сливкин доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

- O.V. Trineeva grand Ph.D (pharmacy), professor, department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of the Pharmaceutical Faculty, Voronezh State University, Voronezh, Russia. e-mail: trineevaov@mail.ru
- N.A. Kovaleva teacher, 2nd year postgraduate student of the pharmaceutical faculty, department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of the Pharmaceutical Faculty, Voronezh State University, Voronezh, Russia. e-mail: na-tali-sewer@yandex.ru
- E.F. Safonova Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia. e-mail: safonova1962@yandex.ru
- **A.I. Slivkin** grand Ph.D (pharmacy), professor, manager. chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, Voronezh State University, Voronezh. e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

Статья поступила в редакцию 09.04.2023; одобрена после рецензирования 15.08.2023; принята к публикации 23.08.2023.

The article was submitted 09.04.2023; approved after reviewing 15.08.2023; accepted for publication 23.08.2023.