

ФАРМАЦИЯ

УДК 615.322:1 582.711.71:581.144.2*1921 : 57.08(470.6)

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ ШИПОВНИКА (*ROSA CANINA L.*) ФЛОРЫ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

Н.Н. ВДОВЕНКО-МАРТЫНОВА
Н.В. КОБЫЛЬЧЕНКО
Т.И. БЛИНОВА

*Пятигорская
государственная
фармацевтическая
академия*

e-mail:rector@pgfa.ru

В статье изложены результаты проведенного фармакогностического исследования корней шиповника *Rosa canina L.* семейства *Rosaceae*, произрастающего в условиях Северного Кавказа. Установлены показатели подлинности и доброкачественности исследуемого сырья. В результате фитохимического анализа определено присутствие в исследуемом сырье органических кислот, пектиновых веществ, водорастворимых полисахаридов, тритерпеновых сапонинов, дубильных веществ, аминокислот, определен макро- и микроэлементный состав. Наличие достаточной сырьевой базы и полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования корней шиповника *Rosacanina L.* и получения лекарственных препаратов.

Ключевые слова: корни шиповника, макро-и микроскопический анализ, фитохимический анализ, качественный и количественный состав, биологически активные соединения.

Шиповник собачий *Rosacanina L.* семейства *Rosaceae*, широко произрастает в регионе Северного Кавказа: в Кабардино-Балкарии (Терский, Чегемский, Советский районы), Северной Осетии (Алагирский, Дигорский, Ирафский и Моздокский районы), Карачаево-Черкессии, Дагестане (Агульский, Ахтынский, Буйнакский, Кизил-Юртовский районы), в предгорных районах Ставропольского и Краснодарского краев, в Ингушетии и Чечне (по Терскому и Сунженскому хребтам, а также в Шалинском, Веденском и Ножай-Юртовском районах) [6, 7]. Плоды шиповника являются фармакопейным сырьем, которое используется в качестве витаминного средства. Получаемые препарат «Холосас» и масло шиповника обладают ранозаживляющим и желчегонным действием. Перспективным и важным направлением развития фармации является всестороннее изучение и рациональное использование всего растения. Подземная часть (корни) в официальной медицине не используется, хотя содержит ряд ценных биологически активных веществ и широко используется в народной медицине. Поэтому фитохимическое изучение корней шиповника собачьего является задачей весьма актуальной.

Целью наших исследований явилось фармакогностическое исследование корней шиповника для установления содержания биологически активных соединений и показателей подлинности, доброкачественности сырья.

Материал и методы. Корни шиповника *Rosa canina (L.)* для исследований заготавливались осенью в пределах естественного ареала. Исследование морфолого-анатомических признаков проводили в соответствии с фармакопейной статьёй «*Radices, rhizomata, bulbi, tubera, bulbotubera*» [3]. Шиповник *Rosacanina (L.)*: густой кустарник, с дугообразными ветвями, высотой 1,5-2 м. Шипы редкие, у основания весьма широкие, серповидно-изогнутые. Листья непарноперистые, 6-9 см длины, с 5-7 листочками продолговато-яйцевидной формы. Длина листочков 1,5-5 см, край зубчатый, снизу они серо-зелёного цвета. Плоды ягодообразные, сочные, светло-красного цвета. Чашелистики перисто-рассечённые, после цветения отгибаются вниз и опадают вниз, оставляя после себя пятиугольную площадку. Установлены внешние признаки цельного сырья: корневища узловатые, ветвистые, длиной 20-25 см, толщиной 10-12 см,



с гладкой, блестящей поверхностью, красновато-бурого цвета. Корни по форме цилиндрические, изогнутые и слабоветвистые, цвет - коричневатого-серый с бурым оттенком, на изломе желтовато-белый. Длина корней достигает 30 см, толщина - 0,3-1,0 см. Вкус вяжущий. Запах слабый, терпкий.

Микроскопическим анализом установлены диагностические признаки исследуемого сырья. Срез корня выполнен в зоне проведения, где он имеет вторичное строение, характерное для всех магнолипсидов. На поперечном срезе корень имеет округлую форму и непучковое строение. Наблюдаются четко выраженные две системы тканей: покровной ткани и центрального цилиндра. Блок покровных тканей представлен вторичной покровной тканью – перидермой. Различимы опробковевшие клетки филлемы и неопробковевшие феллодермы. Внутреннюю часть центрального цилиндра занимает первичная ксилема. Она представлена полиархным проводящим пучком. Во вторичной ксилеме различимы первичные и вторичные сердцевидные лучи из не одревесневшей паренхимы, которые содержат от двух до шести рядов клеток. Проводящие элементы вторичной ксилемы выполнены мелкими и крупными сосудами. Можно различить годовые кольца. Древесинная паренхима представлена небольшими клетками. Камбий состоит из одного ряда тонкостенных клеток. Кнаружи от камбия залегают трапециевидные блоки - это вторичная флоэма, в которой различимы паренхима флоэмы и ситовидные элементы. Лучевая паренхима представлена крупными тонкостенными клетками. В перициклической зоне располагаются перициклические волокна. Это группы клеток с утолщенными вторичными стенками [1].

Для установления норм качества сырья определяли влажность, общую золу, золу нерастворимую в 10% растворе кислоты хлористоводородной, экстрактивные вещества по общепринятым методикам для растительного сырья [2, 3]. Результаты в пересчете на воздушно-сухое сырьё приведены в табл. 1.

Таблица 1

Товароведческие показатели корней *Rosa canina* L.

Числовые показатели	Содержание, %	Установленная норма, %
Влажность	9,63±0,12	Не более 10%
Зола общая	2,86±0,019	Не более 3%
Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl	0,95 ± 0,82	Не более 1%
Примеси органические	Не более 1%	Не более 1%
Примеси минеральные	Не более 1%	Не более 1%
Экстрактивные вещества (экстрагент- 40% спирт этиловый)	25,62±1,435	Не менее 25%

При фитохимическом исследовании проводили общий анализ качественного состава основных групп биологически активных соединений (БАС) и определяли их количественное содержание.

В водных извлечениях исследуемого сырья установили содержание полисахаридов, органических кислот, дубильных веществ, аминокислот и сапонинов. Полисахариды определяли по реакции осаждения спиртом этиловым 96%; дубильные вещества - с железозамонийными квасцами, 10% раствором свинца ацетата, с желатином и бромной водой. Наличие органических кислот устанавливали хроматографическим анализом на бумаге восходящим методом в системе n-бутанол-муравьиная кислота-вода (250:25:297) в присутствии достоверных образцов свидетелей. Проявляли хроматограммы 0,1%-ным раствором бромфенолового синего в 96% спирте этиловом (рН 6,7). При проявлении органические кислоты окрашиваются в ярко - желтый цвет на голубовато-синем фоне. Определение аскорбиновой кислоты проводили на пластинках с закреплённым слоем силикагеля Silufol UV 254 (Чехия) в системе растворителей: этилацетат-ледяная уксусная кислота (80:20), проявляя раствором 2,6 дихлорфенолиндофенолята натрия (R_f 0,42). Присутствие сапонинов подтверждали: реакцией пенообразования в щелочной и кислой среде, реакции Сальковского, 1% спиртовым раствором холестерина. Аминокислоты в растениях содержатся как в свободном, так и в связанном состоянии в виде полипептидов. Для качественного обнаружения аминокислот в сырье использовали водные извлечения. Наличие аминокислот определяли нингидриновой пробой по появлению красно-фиолетового окрашивания, усиливающегося при охлаждении, и хроматографически. Применяли метод тонкослойной хроматографии на пластинках "Silufol" в системах растворителей n-бутанол-уксусная кислота-вода (12:3:5) и n-бутанол-пиридин-вода (1:1:1) с достоверными



образцами аминокислот. Хроматограммы после высушивания обрабатывали 0,25% раствором нингидрина в ацетоне, выдерживали в течение 3-5 минут в сушильном шкафу при температуре 105°C. Аминокислоты в видимом свете проявлялись в виде розово-пурпурных пятен. Для подтверждения хроматографического анализа проводили качественное и количественное определение на аминокислотном анализаторе ААА-339 (колонка ОСТИ-ОН ЛГ АНБ, диаметром 8мм, длиной 35мм) [5]. При изучении микроэлементного состава сырья использовали метод спектрального анализа, основанный на полном испарении аналитической навески из кратера угольного электрода в плазме электрической дуги переменного тока (ДГ-2). Качественный состав и количественное содержание элементов устанавливали на приборе ДФС-8-1. Содержание макро- и микроэлементов определяли на спектрограммах с погрешностью не более 2% в пересчете на золу.

Фракционное содержание полисахаридов определяли по методике Н.К. Кочеткова и М. Sinner [2]. Количественное определение органических кислот устанавливали титриметрическим методом, используя перманганатометрическое титрование, определяли содержание дубильных и легко окисляемых веществ [4]. Для определения танина в исследуемом сырье использовали микроколоночный жидкостный хроматограф «Милихром А-02», снабжённый колонкой из нержавеющей стали размером 2x75 мм, заполненной адсорбентом Prontosil 120-5CAQ. Анализ проводили методом изократического элюирования при комнатной температуре. В качестве подвижной фазы использовали систему растворителей кислота муравьиная 2% – ацетонитрил (60:40). При хроматографировании в предложенных условиях раствора РСО танина 0,1% фиксировались два симметричных пика со временем удерживания 1,85 и 2,45 мин, коэффициент разделения пиков составил 2,1. Для определения содержания сапонинов использовали гравиметрический метод. Количественное определение суммы аминокислот проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на аланин. Регистрацию спектров проводили на спектрофотометре СФ-56 при длине волны 570нм [2].

Результаты и обсуждение. Макро-и микроскопическим анализом установлены внешние и микродиагностические признаки корней шиповника *Rosa canina*(L.) При изучении элементного состава исследуемого сырья установлено наличие 30 макро-и микроэлементов, таких как кальций, магний, железо, кремний, цинк, марганец и др. Среди условно токсичных присутствуют: серебро 0,00005мг% (в пересчете на золу), олово 0,0006мг%, цирконий 0,002мг%, галлий 0,001мг%. В образце не обнаружены следующие элементы: ртуть, рений, висмут, мышьяк, сурьма, вольфрам, кадмий, индий, таллий, литий, церий, лантан, уран, торий, тантал, золото, гафний, гадолиний, платина.

Фитохимическим анализом определено присутствие органических кислот, полисахаридов, дубильных веществ (гидролизуемой группы), сапонинов, аминокислот. Идентифицированы органические кислоты: винная (R_f 0,41); лимонная (R_f 0,47); яблочная (R_f 0,37); щавелевая (R_f 0,49); янтарная (R_f 0,69). Идентификацию проводили по величинам R_f , сопоставляя с R_f аутентичными образцами. Количественное содержание суммы органических кислот составило 8,06±0,047%, аскорбиновой кислоты 0,26±0,004%. При анализе полисахаридов выделяли фракции: водорастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлозу (ГЦ). Установлено содержание водорастворимых полисахаридов – 5,29%, пектиновых веществ – 8,1%, гемицеллюлозы – 2,8%. Выделенные ВРПС по внешнему виду представляли собой буро-зеленоватый порошок, без запаха, хорошо растворим в воде; ПВ – светло-коричневый порошок со своеобразным запахом, растворим в воде с опалесценцией; ГЦ – порошок тёмно-коричневого цвета со специфическим запахом. Исследование фракционного состава полисахаридов свидетельствует о преобладании пектиновых веществ. Содержание дубильных и легко окисляемых веществ, определяемые фармакопейным методом, составило 10,77±0,03%. Относительная ошибка при доверительной вероятности не превышает ±0,28%. В связи с тем, что фармакопейный перманганатометрический метод позволяет определить в растительном сырье не только содержание дубильных веществ, а сумму всех легко окисляемых соединений, переходящих в водное извлечение, нами для стандартизации сырья был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, как более точный и информативный метод качественного и количественного анализа, которым определили содержание в сырье танина (1,46±0,026%). Метрологические характеристики количественного определения танина методом ВЭЖХ следующие: N=5; f=4; \bar{X} =1,46%; S=0,02645; S_x =0,011832; ΔX =0,0262942; ε =±1,80%. Качественным определением в корнях шиповника установ-



лено присутствие тритерпеновых сапонинов, содержание которых составило $4,66 \pm 0,02\%$. Исследование аминокислотного состава позволило установить присутствие в корнях шиповника *Rosa canina* (L.) 15 аминокислот (аспарагиновая кислота, треонин, серин, глутаминовая кислота, глицин, аланин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, тирозин, фенилаланин, гистидин, лизин, аргинин), из которых семь являются незаменимыми. Спектрофотометрическое определение в сырье суммы аминокислот в пересчете на аланин составило $3,788 \pm 0,0153\%$.

Выводы. При фармакогностическом анализе корней шиповника *Rosa canina* (L.), произрастающего в условиях Северного Кавказа, были установлены товаро-ведческие показатели, определены внешние и выявлены микродиагностические признаки. В результате фитохимических исследований установлено присутствие и определено содержание биологически активных соединений: органических кислот, водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, аскорбиновой кислоты, дубильных и легко окисляемых веществ, танина, тритерпеновых сапонинов, аминокислот. Определен макро- и микроэлементный состав. Химический состав исследованного сырья достаточно интересен. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения корней шиповника *Rosa canina* (L.), с целью получения лекарственных препаратов.

Список литературы

1. Вдовенко-Мартынова, Н.Н. Морфолого-анатомическое изучение корневищ с корнями *Rosacandina*L. / С.Н. Пушкарский, Н.Н.Вдовенко-Мартынова, В.Н. Кисилёва // Университетская наука: теория, практика, инновации: сб. тр.73-й науч. конф. КГМУ и сессии Центрально-Черноземного научного центра РАМН. - Курск: ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2008. - С 48-50.
2. Вдовенко-Мартынова, Н.Н.Разработка показателей качества корней шиповника/ Н.Н.Вдовенко-Мартынова, Н.В.Кобыльченко, Т.И.Блинова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр.-Пятигорск, 2011.-Вып.66.-С.35-36
3. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное раст. сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.
4. Кисилёва, А.Н. Определение дубильных веществ сливы колючей *Prunus spinosa* (L.) в подземных органах / А.Н. Кисилёва, Н.Н. Вдовенко-Мартынова, Н.В. Кобыльченко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2009.-Вып.64.-С.62-63
5. Кисилёва, В.Н. Аминокислотный состав шиповника собачего корней/ В.Н. Киселева, Н.В. Кобыльченко, Н.Н. Вдовенко-Мартынова, А.Н. Сепп // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. -Пятигорск, 2009.-Вып.64.-С. 61-62.
6. Мелик-Гусейнов, В.В. Род *Rosa*L. флоры Ингушетии: распространение, ресурсы, химический состав/ В.В. Мелик-Гусейнов, З.У. Добриева. – Пятигорск: изд-во ГОУ ВПО ПятГФА Росздрава, 2010.-126с.
7. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. –Л.: Наука, 1987. -326с.

PHARMACOGNOSTIC RESEARCH OF THE DOGROSE (*ROSA CANINA* L.) ROOTS OF THE NORTH CAUCASUS FLORA

N.N. VDOVENKO-MARTYNOVA
N.V. KOBYLCHENKO
T.I. BLINOVA

*Pyatigorsk State
Pharmaceutical Academy*

e-mail: rector@pgfa.ru

In the article we showed the results of the pharmacognostic investigation of dogrose (*Rosa canina* L.) of the Families Rosaceae roots growing in the North Caucasus. Authenticity and high quality of investigated raw materials indicators were established. Due to the phytochemical analysis in investigated raw materials the presence of organic acids, pectinaceous substances, water-soluble polysaccharides, triterpene saponins, tannins, amino acids had been defined, we established makro- and microelement compounds. The presence of sufficient raw-material base and the received results testify about the further research of dogrose *Rosa canina* L. roots and medical products receptions perspectivity.

Key words: dogrose roots, makro- and microscopic analysis, the phytochemical analysis, qualitative and quantitative structure, biologically active compounds.