

# Стандартизация сухого экстракта сока мякоти тыквы, обладающего гиполипидемическим действием по содержанию $\beta$ -каротина

**Ландина Л. Н.**

*аспирант, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии*

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск, Российская Федерация*

**Автор для корреспонденции:** Ландина Людмила Николаевна; **e-mail:** llandina@mail.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Цель работы – стандартизация полученного оригинального средства, обладающего достаточной гиполипидемической активностью, по одному из главных действующих веществ – по содержанию  $\beta$ -каротина. Актуальным в современной фармации является поиск природных биологически активных веществ, обладающих гиполипидемическим действием. Большей частью исследования проводятся по отношению к индивидуальным веществам методами их выделения из растительного объекта. Нами предлагается к исследованию нативный фитокомплекс, полученный из мякоти тыквы – сухой экстракт сока мякоти тыквы. Использовались следующие материалы и методы: полученный в лабораторных условиях сухой экстракт сока мякоти тыквы и методики, применяемые для определения качественного и количественного содержания  $\beta$ -каротина по отношению к индивидуальному веществу. Удалось адаптировать методики, применяемые к анализу индивидуального вещества по отношению к полученному фитокомплексу, содержащему как липофильную, так и гидрофильную фракции. Произведена коррекция экспресс-методики количественного определения  $\beta$ -каротина, описанная в научной литературе. Оработана эффективная альтернативная методика спектрофотометрического определения  $\beta$ -каротина в составе фитокомплекса. Фитокомплексы, стандартизованные по основным действующим веществам, могут быть использованы для получения эффективных препаратов и биологически активных добавок, обладающих минимальным побочным действием. Кроме того, расширение поиска альтернативных природных объектов, содержащих комплексы, обладающие гиполипидемическим действием является актуальным в настоящее время. Опираясь на литературные данные, в дальнейшем планируется провести фармакологическое исследование по установлению противовоспалительного действия полученного комплекса на состояние сосудистой стенки.

**Ключевые слова:** выделение и индивидуализация, нативный фитокомплекс, стандартизация по активному веществу, специальная система растворителей, спектрофотометрия

**doi:** 10.29234/2308-9113-2021-9-1-79-92

**Для цитирования:** Ландина Л. Н. Стандартизация сухого экстракта сока мякоти тыквы, обладающего гиполипидемическим действием по содержанию  $\beta$ -каротина. *Медицина* 2021; 9(1): 79-92.

## Введение

В современной медицинской науке идет активный поиск природных биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих гиполипидемическим действием. Отечественными исследователями установлено, что ярко выраженным

гиполипидемическим эффектом обладает сумма тритерпеновых кислот облепихи и клюквы [5], а также фитокомплекс, выделенный из мякоти тыквы, содержащий каротиноиды [2].

Широкий спектр применения мякоти тыквы в восточной народной медицине был описан сотрудниками Бухарского государственного медицинского института [11].

Влияние и биодоступность каротиноидов достаточно широко исследуются зарубежными учеными. Например, А.М.В. Priyadarshani был составлен систематический обзор применения природных каротиноидов для профилактики онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний, профилактики катаракты и других заболеваний органов зрения [16].

Исключительно интересные и обширные исследования каротиноидов производятся в Японии. Японские исследователи вносят свой вклад в развитие науки, техники и коммерческого применения каротиноидов. Существующая в Японии индустрия красоты использует как природные каротиноиды, так и производящиеся промышленным способом. Также в Японии постоянно проводятся Международные симпозиумы по каротиноидам, на которых обсуждаются самые актуальные проблемы получения, биотрансформации и применения каротиноидов в профилактической медицине. Так, например, в 2020 году Takashi Маока доказал способность каротиноидов активировать иммунитет в организме животных и человека [13]. А. Nishino с соавт. исследовали накопление (инкорпорацию) каротиноида паприки в плазме крови и эритроцитах человека [15].

Международная исследовательская группа, состоящая из сотрудников университетов Коннектикута и Мичигана (США), а также Сеульского университета (Корея) изучали влияние пищевых каротиноидов на снижение факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [19].

Коллективом сотрудников Гентского университета (Бельгия) серией комплексных исследований на животных было доказано, что каротиноиды, помимо участия в различных биохимических процессах поддержания жизнедеятельности в покое, также способствуют формированию защитных реакций при стрессовых ситуациях [12].

Согласно работам Antonia J. Melendez-Martinez, каротиноиды и их производные являются универсальными изопреноидами, участвующими в разнообразных биохимических процессах, как растительных, так и животных организмов. Отмечено, что каротиноиды образуются из бесцветных каротинов фитоена и фитофлуена. Поэтому весьма перспективными являются биохимические исследования *in vitro* по биотрансформации данных веществ с целью создания каротин-каротиноидных комплексов для дальнейшего изучения *in vivo* [14].

Исследование веществ растительного происхождения традиционно проводится методом их выделения и индивидуализации из растительного объекта. Таким образом, изучается как биологическая активность каротиноидов [4], так и аспекты их стандартизации и фармтехнологии [9].

Зарубежными исследователями предложены два метода экспресс-анализа каротиноидов. S. Rivera, F. Vilaró, R. Canela разработали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии при сверхвысоком давлении для анализа каротиноидов [17]. А.М. Benitez-Gonzalez с соавторами создали комплексный метод микроэкстракции с дальнейшей быстрой жидкостной хроматографией для одновременного определения пищевых каротиноидов [18].

## Материалы и методы исследования

Нами предлагается в качестве полупродукта для получения фармпрепарата или биологически активной добавки сухой экстракт сока мякоти тыквы, обладающий эффективным гиполипидемическим действием, которое обусловлено тем, что в нем содержатся как липофильная, так и гидрофильная фракции. Липофильная фракция представлена каротином, перешедшим в сок после механического разрушения протопластов. Гидрофильная фракция содержит кислоту никотиновую, кислоту аскорбиновую и рибофлавин.

Технология получения сухого экстракта сока мякоти тыквы в лабораторных условиях описана нами ранее [10].

*Выделение и идентификация каротина.*

Для сравнения был использован препарат «Каролин» РОСКАРФАРМ (Россия), содержащий  $\beta$ -каротин 1,8 мг, растительное масло до 1 мл.

Для элементарного определения подлинности  $\beta$ -каротина в исследуемом объекте используются две цветные реакции:

- реакция с конденсированной серной кислотой дает сине-зеленое окрашивание;
- реакция с хлоридом сурьмы – появляется быстроисчезающее сине-зеленое окрашивание.

Указанные реакции были использованы для определения подлинности  $\beta$ -каротина в экстракте. Для этого методики предварительно отрабатывались на препарате «Каролин».

*Методика качественного анализа на β-каротин:* к 1 мл масляного раствора препарата «Каролин» прибавляли 3 капли концентрированной серной кислоты и перемешивали. Затем к 1 мл масляного раствора препарата «Каролин» прибавляли 0,5 мл хлорида сурьмы и перемешивали.

Анализ изучаемого объекта проводили следующим образом.

*Перевод в масляную фазу.* К навеске массой 0,5 г полученного экстракта прибавляли 2 мл хлороформа, взбалтывали – хлороформный слой окрашивался в желто-оранжевый цвет, затем добавляли к этому извлечению указанные выше реактивы. Прибавляли 3 капли концентрированной серной кислоты и перемешивали. Затем прибавляли 0,5 мл хлорида сурьмы и перемешивали.

Идентификацию β-каротина можно проводить по наличию оранжево-желтого цвета хлороформного экстракта, связанного с наличием в видимой области оптического спектра интенсивной полосы поглощения. Это обусловлено наличием сопряженных связей ненасыщенной цепи.

*Определение подлинности β-каротина в экстракте методом тонкослойной хроматографии.*

В фармацевтическом анализе для испытания подлинности лекарственных веществ используется метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Метод ТСХ также позволяет определить продукты разложения лекарственных веществ.

Для проведения анализа были использованы:

- пластинки для тонкослойной хроматографии «Силуфор» и «Сорбфил»;
- системы растворителей смесь петролейного и диэтилового эфира (50:1), н-гексан – бензол (85:15), гексан – диэтиловый эфир (1:1).

Для разделения веществ подбирают специальную систему растворителей. Идентифицировать вещества можно по коэффициенту  $R_f$  или по расположению пятен исследуемого раствора и стандартного образца. Для проявления пятен используются специальные реактивы или свечение пятен в УФ-области оптического спектра. Можно элюировать образовавшиеся пятна соответствующим растворителем и проводить спектрофотометрическое исследование этого раствора.

Для идентификации β-каротина в экстракте методом ТСХ подбирали различные системы растворителей. Предварительно готовили исследуемый раствор экстракта и раствор стандартного образца в соответствующих растворителях. В качестве РСО использовали раствор препарата «Каролин». Для приготовления системы растворителей применяли

смесь петролейного и диэтилового эфира (50:1). Исследуемый раствор и стандартный образец готовили в хлороформе и наносили на линию старта хроматографической пластинки «Силуфол». Хроматограмму помещали в камеру с данной системой растворителей на определенное время. После хроматографирования отмечали линию финиша и сушили хроматограмму на воздухе. Пятна наблюдали в УФ-свете.

Также была использована система растворителей н-гексан – бензол (85:15), указанная в ВФС 42-2553-95 на препарат «Каролин».

Для этого 0,1 г экстракта растворяли в теплой воде (40-50°C), охлаждали, прибавляли хлороформ и экстрагировали β-каротин. Наносили хлороформный раствор на линию старта рядом со стандартным образцом и помещали в хроматографическую камеру с системой растворителей н-гексан – бензол (85:15). Пятна после высушивания хроматограммы рассматривали в УФ-свете.

Также была произведена смена фаз в системе растворителей н-гексан – диэтиловый эфир (1:1). РСО и экстракт готовили на хлороформе.

*Использование спектрофотометрии для качественного и количественного анализа β-каротина в экстракте.*

Для установления подлинности и количественного определения содержания каротина в экстракте измерены УФ-спектры β-каротина (препарат «Каролин») и экстракта каротина из препарата с помощью различных экстрагентов. Использовались спектрофотометры СФ-26 и СФ-56. Однолучевые спектрофотометры СФ-26 и СФ-56 предназначены для измерения коэффициентов пропускания жидких и твердых прозрачных веществ в спектральном диапазоне от 190 до 1100 нм.

Как известно из литературных источников, максимум поглощения раствора β-каротина в гексане наблюдается при длине волны 451 нм, для α-каротина максимум поглощения наблюдается при длине волны 445 нм. Также в пределах длин волн от 400 нм до 480 нм наблюдаются характерные точки с определенным численным значением поглощения [6]. Поэтому использование спектрофотометра типа СФ-56 с подключенным к нему графопостроителем позволяет провести экспресс-анализ извлечения на наличие характерной кривой и характерных «пику» – максимумов светопоглощения при определенных длинах волн.

Также была опробована экспресс-методика определения каротина, предложенная О.В. Евдокимовой с соавт. [7]. Около 5 г экстракта (точная навеска) помещали в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 100 мл. Приливали 25 мл н-гексана. Экстрагировали при постоянном помешивании в течение 2-х часов. Экстракт фильтровали через бумажный фильтр. 15 мл экстракта помещали в мерную колбу емкостью 25 мл, доводили до метки н-гексаном. Определяли оптическую плотность при длине волны 450

нм с толщиной слоя 10 мл. В качестве раствора сравнения использовали н-гексан. Параллельно определяли оптическую плотность раствора стандартного образца бихромата калия, приготовленного в соответствии с ФС 42-1730-86; в качестве раствора сравнения использовали дистиллированную воду.

Точную навеску экстракта массой около 0,3 г помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 13 мл хлороформа, перемешивали до растворения и доводили 95% этанолом до метки. Измеряли оптическую плотность на фотоэлектроколориметре КФК при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно спирто-хлороформной смеси (1:1). Расчет содержания  $\beta$ -каротина в экстракте проводили по значению  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  (удельного показателя поглощения), взятого из справочных данных.

## Результаты и обсуждение результатов

### *Выделение и идентификация каротина.*

При добавлении к масляному раствору препарата «Каролин» концентрированной серной кислоты появлялось сине-зеленое окрашивание, при добавлении хлорида сурьмы появлялось сине-зеленое окрашивание, которое быстро исчезало.

В случае анализа исследуемого объекта к навеске прибавляли хлороформ, хлороформный слой окрашивался в желто-оранжевый цвет, затем добавляли к этому извлечению указанные выше реактивы. Результаты анализа  $\beta$ -каротина в препарате «Каролин» и исследуемой лекарственной форме были идентичны.

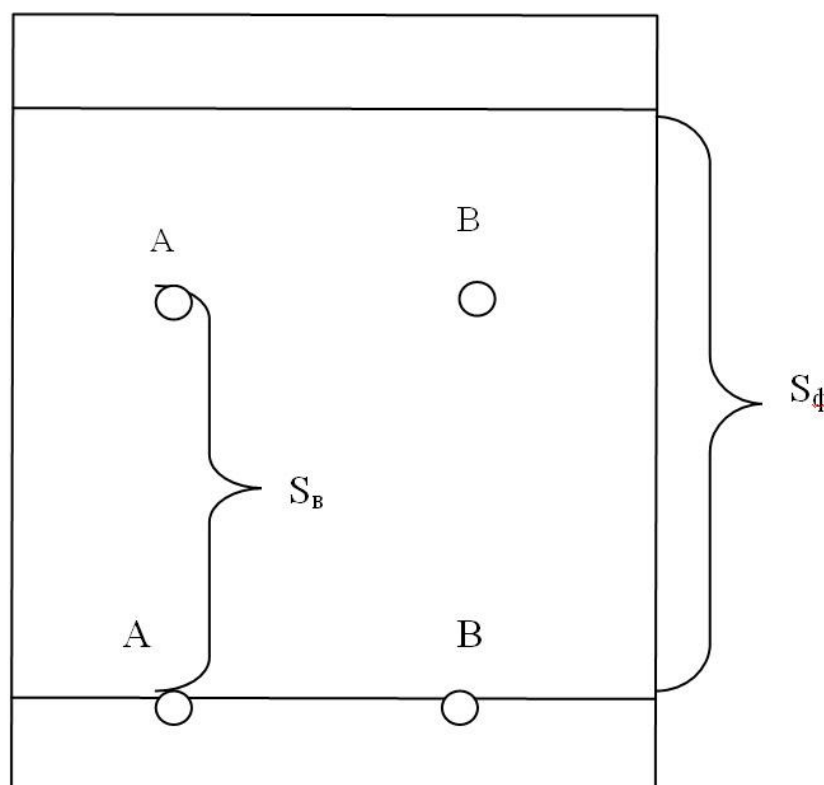
### *Определение подлинности $\beta$ -каротина в экстракте методом тонкослойной хроматографии.*

При добавлении системы растворителей смеси петролейного и диэтилового эфира (50:1), исследуемый раствор и стандартный образец готовили в хлороформе, значение  $R_f$  стандартного образца равнялось 0,71, а пятно  $\beta$ -каротина в исследуемом объекте осталось возле линии старта. При использовании петролейного эфира для приготовления исследуемого и стандартного растворов значение  $R_f$  стандартного образца с  $\beta$ -каротином было равно 0,53, пятно  $\beta$ -каротина в исследуемом объекте также осталось возле линии старта. При добавлении системы растворителей н-гексан – диэтиловый эфир (8:2), использовали растворы стандартного образца и анализируемого объекта в н-гексане, в УФ-свете просматривались пятна стандартного образца и исследуемого раствора фактически на одном уровне. Их значение  $R_f$  составило 0,91, что позволило провести визуализацию пятен растворов стандартного образца и исследуемого объекта.

При использовании системы растворителей н-гексан – бензол (85:15), указанной в ВФС 42-2553-95 на препарат «Каролин», РСО и экстракт готовили на хлороформе. Пятна после высушивания хроматограммы рассматривали в УФ-свете. Они имели желтую окраску и фактически одинаковое значение  $R_f$ , равное 0,85.

При смене фаз в системе растворителей н-гексан – диэтиловый эфир (1:1), значение  $R_f$  в этом случае составило 0,69. (рис. 1).

*Рис. 1. Хроматограмма исследуемого раствора и стандартного образца  $\beta$ -каротина.*



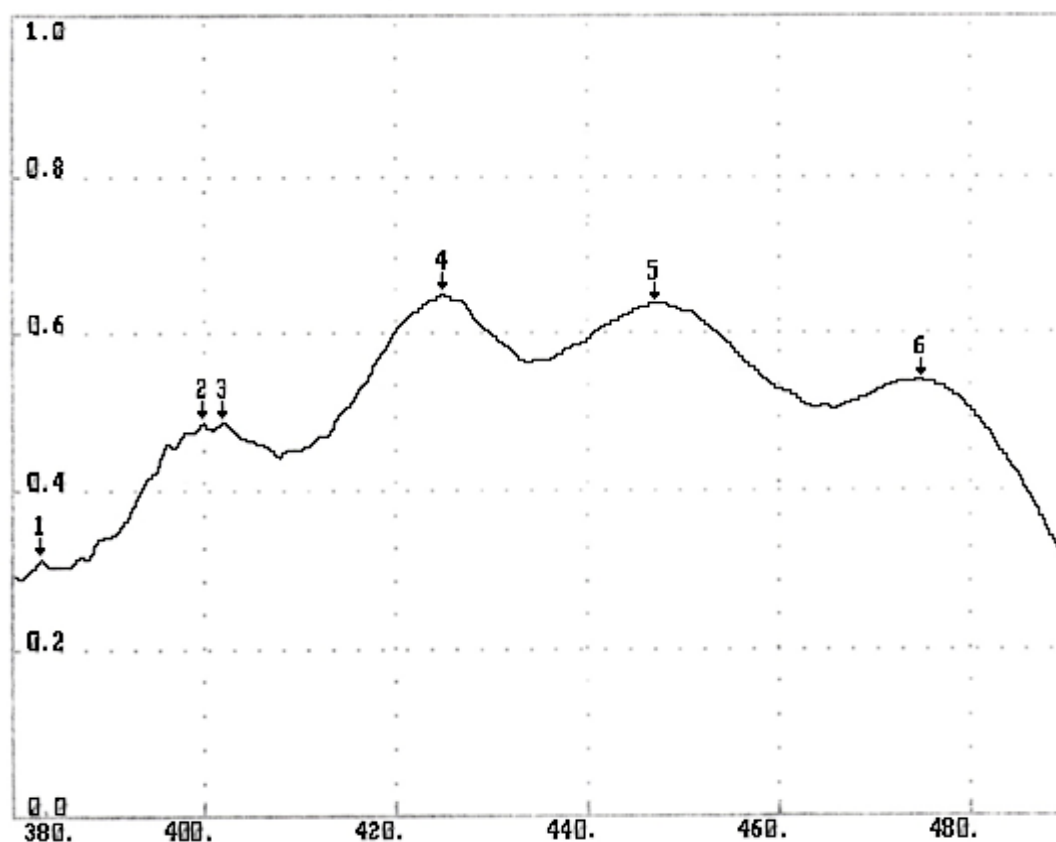
A – пятно стандартного раствора, B – пятно исследуемого раствора,  $S_Ф$  – фронт растворителя, см,  $S_B$  – фронт, пройденный веществом.  $R_f = S_B / S_Ф$

Исследования показали, что метод ТСХ позволяет осуществлять идентификацию  $\beta$ -каротина в полученном экстракте. Исследуемый объект содержит  $\beta$ -каротин, идентичный  $\beta$ -каротину, содержащемуся в фармакопейном препарате «Каролин».

*Использование спектрофотометрии для качественного и количественного анализа  $\beta$ -каротина в экстракте.*

Используя спектрофотометр типа СФ-56 с подключенным к нему графопостроителем, провели экспресс-анализ извлечения на наличие характерной кривой и характерных «пику» – максимумов светопоглощения при определенных длинах волн. Данные, полученные при определении наличия каротина в сухом экстракте сока мякоти тыквы, представлены на рисунке 2 и в таблице 1 гексановым извлечением.

**Рис. 2** Спектрофотометрическая характеристика гексанового извлечения из сухого экстракта сока мякоти тыквы.



**Таблица 1.** Спектрофотометрическое исследование на наличие каротина гексанового извлечения из сухого экстракта сока мякоти тыквы.

Длина волны, нм	Спектры светопоглощения				
380,0	0,292987	0,287944	0,299253	0,312837	0,302603
385,0	0,302535	0,302453	0,316078	0,315442	0,3386
390,0	0,341968	0,349987	0,365531	0,387957	0,411697
395,0	0,425348	0,458638	0,456784	0,471325	0,473928
400,0	0,486563	0,476371	0,486667	0,478531	0,465057
405,0	0,463518	0,457293	0,452706	0,442037	0,452394
410,0	0,453048	0,455681	0,467645	0,468858	0,493589
415,0	0,505051	0,522718	0,541727	0,561539	0,579071
420,0	0,603803	0,615848	0,629013	0,633872	0,644081
425,0	0,650545	0,643607	0,6428	0,624673	0,60556
430,0	0,599677	0,585361	0,577891	0,565867	0,562467
435,0	0,565203	0,565494	0,573881	0,57847	0,582687
440,0	0,590156	0,603477	0,611061	0,617692	0,624279
445,0	0,630197	0,634287	0,638035	0,637767	0,634305
450,0	0,627705	0,626495	0,613322	0,606853	0,595309



455,0	0,581962	0,568832	0,559795	0,547713	0,537698
460,0	0,528274	0,522526	0,516065	0,50836	0,50422
465,0	0,506943	0,5046	0,508757	0,514219	0,518776
470,0	0,524664	0,531079	0,535471	0,536803	0,536965
475,0	0,538688	0,536422	0,531546	0,525523	0,516141
480,0	0,502968	0,490316	0,473373	0,456707	0,438798
485,0	0,419923	0,39697	0,374764	0,352219	0,330849
490	0,308508				

Диапазон: 380 – 490 нм. Массив: 5,2

ТАБЛИЦА МАКСИМУМОВ					
№	АБСЦИССА	ОРДИНАТА	№	АБСЦИССА	ОРДИНАТА
1.	383.0	0.312837	2.	400.0	0.486563
3.	402.0	0.486667	4.	425.0	0.650545
5.	447.0	0.638035	6.	475.0	0.538688

Диапазон: 380.0 – 470.0 нм. Массив: 100 % Глубина: 0.01

*Экспресс-методика количественного определения каротина.* Определяли оптическую плотность с помощью спектрофотометров СФ-26 и СФ-56 при длине волны 450 нм с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали н-гексан. Параллельно определяли оптическую плотность раствора стандартного образца бихромата калия.

Содержание каротиноидов в мг% рассчитывали по формуле:

$$C_{\text{мг\%}} = \frac{D_1 \cdot 0.00208 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{D_0 \cdot A \cdot 15}, \text{ где}$$

$D_1$  – оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_0$  – оптическая плотность раствора стандартного образца бихромата калия;

$A$  – навеска экстракта, взятая на анализ, г.;

0,00208 – количество  $\beta$ -каротина, мг, в растворе, соответствующем по окраске раствору стандартного образца бихромата калия.

Подставляя экспериментальные данные в формулу, получим:

$$C_{\text{мг\%}} = \frac{0,638 \cdot 0,00208 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{0,045 \cdot 5,0938 \cdot 15} \approx 24_{\text{мг\%}}$$

Измеряли оптическую плотность на фотоэлектроколориметре КФК. Расчет содержания  $\beta$ -каротина в экстракте проводили по значению  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  (удельного показателя поглощения), взятого из справочных данных.

Содержание  $\beta$ -каротина рассчитывали по формуле:

$$C_{\text{мг}\%} = \frac{D_x \cdot W \cdot 1000}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot A}, \text{ где}$$

$D_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора;

$W$  – объем колбы, равный 25 мл;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения  $\beta$ -каротина, равный 2500;

$A$  – навеска экстракта, взятая на анализ, г.

Подставляя экспериментальные данные в формулу, получим:

$$\tilde{N}_{i\tilde{a}} \% = \frac{0,64 \cdot 25 \cdot 1000}{2500 \cdot 0,26875} \approx 24,1\%$$

Таким образом, спектрофотометрические методики позволяют установить количественное и качественное содержание  $\beta$ -каротина в экстракте.

Корректность полученных результатов может быть подтверждена следующими косвенными данными. Согласно последним исследованиям Т.И. Завьяловой, мякоть плодов тыквы может содержать от 20 мг% до 30 мг% каротиноидов [8]. Данными исследованиями мы доказали, что исследуемый объект содержит каротиноиды в достаточном количестве, чтобы быть использованным для дальнейших исследований. Полученные данные доказали, что сухой экстракт сока мякоти тыквы является перспективным объектом для создания нового лекарственного препарата, содержащего  $\beta$ -каротин, что согласуется с исследованиями С.А. Алексашиной и Н.В. Макаровой, доказавшими, что в шроте мякоти тыквы после получения сока обнаруживаются только следовые количества каротиноидов – после разрушения протопластов подавляющее большинство каротиноидов переходит в сок [1]. Подтверждение тому также могут служить исследования сотрудников Харьковского Национального фармацевтического университета Л.И. Вишневской и др. Используя метод хромато-масс-спектрометрии, они выяснили, что липофильный экстракт мякоти тыквы, полученный из отходов производства тыквенного сока (шрота), является перспективным источником получения жирных кислот и фитостеролов, но не каротина [3].

## Заключение

Проведенная работа позволила доказать наличие эффективного действующего вещества в липофильной фракции гиполипидемического средства – сухого экстракта сока мякоти тыквы – каротина, и определить его содержание, которое составляет в среднем 24 мг%. Эти данные позволяют запланировать дальнейшее изучение с целью создания лекарственного препарата. Также необходимо исследование гидрофильной фракции сухого экстракта сока мякоти тыквы, отвечающей за гиполипидемическую активность. Спектрофотометрическое исследование каротиноидов, содержащихся в комплексных препаратах природного происхождения оказалось соответствующим промышленно полученным.

Фитокомплексы, стандартизованные по основным действующим веществам, могут служить для получения эффективных препаратов и биологически активных добавок, обладающих минимальным побочным действием.

## Литература

1. Алексашина С.А., Макарова Н.В. Исследование химического состава и антиоксидантной активности моркови, свеклы и тыквы. *Хранение и переработка сельхозсырья* 2016; 6: 29-32.
2. Василенко Ю.К., Климова О.В., Ландин В.В. Гиполипидемическая активность морковного и тыквенного соков. *Структурно-функциональные взаимодействия при компенсации нарушенных функций. Proceeding of UNESCO medical center "Unona"* 2000; 4: 95-96.
3. Вишневская Л.И., Дегтярева Е.А., Бисага Е.И., Ткачук О.Ю. Исследование химического состава биологически активных веществ в липофильном экстракте тыквы. *Химия растительного сырья* 2014; 3: 167-170.
4. Голобкина Н.А., Пышная О.Н., Бондарева Н.В. Биологическое значение каротиноидов. *Овощи России* 2010; 2: 26-40.
5. Горбатюк Н.О., Черников М.В., Додохова М.А., Терехов А.Ю., Реккандт С.А., Маширова С.Ю. Влияние суммы тритерпеновых кислот облепихи (*Hippophae rhamnoides* L.) и клюквы (*Vaccinium oxycoccos* L.) на показатели липидного и углеводного обменов при курсовом введении здоровым животным. *Успехи современной науки и образования* 2017; 1(1): 55-59.
6. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М: Мир, 1991. 424с.
7. Евдокимова О.В., Самылина И.А., Нестерова О.В. Определение содержания суммы фосфолипидов и каротиноидов в плодах некоторых видов боярышника. *Фармация* 1992; 41(6): 70-72.
8. Завьялова Т.И., Костко И.Г. Биологическая ценность тыквы и продуктов ее переработки. *Известия Санкт-Петербургского Государственного Аграрного Университета* 2015; 39: 45-58.
9. Курегян А.Г. Изучение каротиноидов тыквы методами спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии. *Современные проблемы науки и образования* 2015; 1-2: 231.

10. Ландина Л.Н., Ландин В.В. Технология сухого экстракта сока мякоти тыквы как перспективного объекта при создании препарата, обладающего гиполипидемической активностью. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов* 2017; 72: 113-115.
11. Ражабова Г.Х., Кароматов М.Д., Хошимова Н. Тыква как лечебное растение и перспективы его применения в клинике внутренних болезней. *Биология и интегративная медицина* 2017; 3: 144-155.
12. Bryon A., Kurlovs A.H., Dermauw W., Greenhalgh R., Riga M., Grbic M., Tirry L., Osakabe M., Vontas J., Clark R.M., Van Leeuwen T. Disruption of a horizontally transferred phytoene desaturase abolishes carotenoid accumulation and diapause in *Tetranychus urticae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(29): 5871-5880.
13. Maoka T. Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines* 2020; 74(1): 1–16.
14. Melendez-Martinez A.J., Mapelli-Brahm P., Benitez-Gonzalez A., Stinco C.M. A comprehensive review on the colorless carotenoids phytoene and phytofluene. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2015; 572: 188-200.
15. Nishino A., Ichihara T., Takaha T., Kuriki T., Nihei H., Kawamoto K., Yasui H., Maoka T. Accumulation of paptika carotenoid in human plasma and erythrocytes. *J Oleo Sci* 2015; 64(10): 1135–1142.
16. Priyadarshani A.M.B. A review on factors influencing bioaccessibility and bioefficacy of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2017; 57(8): 1710-1717.
17. Rivera S., Vilaró F., Canela R. Determination of carotenoids by liquid chromatography/mass spectrometry: effect of several dopants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2011; 400: 1339–1346.
18. Stinco C.M., Benítez-González A.M., Hernanzb D., Vicario I.M., Meléndez-Martínez A.J. Development and validation of a rapid resolution liquid chromatography method for the screening of dietary plant isoprenoids: carotenoids, tocopherols and chlorophylls. *Journal of Chromatography A* 2014; 1370: 162-170.
19. Ying Wang, Sang-Jin Chung, Marjorie L. McCullough, Won O. Song, Luz Fernandez M., Sung I. Koo, Ock K. Dietary carotenoids are associated with cardiovascular disease risk biomarkers mediated by serum carotenoid concentrations. *Journal of Nutrition* 2014; 144(7): 1067-1074.

## Standardization of Dry Extract of Pumpkin Pulp Juice, Which Has a Hypolipidemic Effect on the Content of B-Carotene

**Landina L. N.**

*Postgraduate, Chair for Pharmacology with a course in Clinical Pharmacology*

*Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University of the Ministry of Healthcare of Russia*

**Corresponding Author:** Landina Ludmila; **e-mail:** llandina@mail.ru

**Conflict of interest.** None declared.

**Funding.** The study had no sponsorship.

### Abstract

The objective is to standardize the content of  $\beta$ -carotene – one of the principal active substances with sufficient hypolipidemic activity in the resultant original product. Search for natural biologically active substances having a hypolipidemic effect is one of the topical questions in modern pharmacy. Most of the research is carried out by means of isolating individual substances from the plant object. We propose to study a native phytocomplex obtained from pumpkin pulp – a dry extract of pumpkin pulp juice. The following materials and methods were used: laboratory-obtained dry extract of pumpkin pulp juice and methods used to determine the qualitative and quantitative content of  $\beta$ -carotene in an individual substance. It was possible to adapt the methods applied to the

analysis of an individual substance in relation to the resulting phytocomplex containing both lipophilic and hydrophilic fractions. The rapid method of quantitative determination of  $\beta$ -carotene described in the scientific literature was corrected. An effective alternative method for spectrophotometric determination of  $\beta$ -carotene in the phytocomplex has been developed. Phytocomplexes standardized for the main active substances can be used to obtain effective drugs and biologically active additives with minimal side effects. In addition, the expansion of the search for alternative natural objects containing complexes having a hypolipidemic effect is currently relevant. Based on the literature data, in the future it is planned to conduct a pharmacological study to establish the anti-inflammatory effect of the resulting complex on the state of the vascular wall.

**Keywords:** isolation and individualization, native phytocomplex, standardization of the active substance, special system of solvents, spectrophotometer

## References

1. Alexashina S.A., Makarova N.V. Investigation of the chemical composition and the antioxidant activity of carrots, beets and pumpkin [Investigation of the chemical composition and the antioxidant activity of carrots, beets and pumpkin]. *Hranenie i pererabotka sel'hozsyra* [Storage and processing of farm products] 2016; 6: 29-32. (In Russ.)
2. Vasilenko Ju.K., Klimova O.V., Landin V.V. Gipolipidemicheskaja aktivnost' morkovnogo i tykvennogo sokov. *Strukturno-funkcional'nye vzaimodejstviya pri kompensacii narushennyh funkcij. Proceeding of UNESCO medical center "Unona"* 2000; 4: 95-96. (In Russ.)
3. Vishnevskaja L.I., Degtjareva E.A., Bisaga E.I., Tkachuk O.Ju. Issledovanie himicheskogo sostava biologicheskii aktivnyh veshhestv v lipofil'nom jekstrakte tykvy. *Himija rastitel'nogo syr'ja* 2014; 3: 167-170. (In Russ.)
4. Golobkina N.A., Pyshnaja O.N., Bondareva N.V. Biologicheskoe znachenie karotinoidov [Biological role of carotenoids]. *Ovoshhi Rossii* [Vegetable crops of Russia] 2010; 2: 26-40. (In Russ.)
5. Gorbatjuk N.O., Chernikov M.V., Dodohova M.A., Terehov A.Ju., Rekkandt S.A., Mashirova S.Ju. Vlijanie summy triterpenovyh kislot oblepihi (*Hippopha rhamnoides* L.) i kljukvy (*Vaccinium oxycoccos* L.) na pokazateli lipidnogo i uglevodnogo obmenov pri kursovom vvedenii zdorovym zhivotnym. *Uspehi sovremennoj nauki i obrazovanija* 2017; 1(1): 55-59. (In Russ.)
6. Dawson R., Elliott D., Elliott U., Jones K. *Spravochnik biohimika*. Moscow: Mir, 1991. 424 p. (In Russ.)
7. Evdokimova O.V., Samylina I.A., Nesterova O.V. Opredelenie soderzhanija summy fosfolipidov i karotinoidov v plodah nekotoryh vidov bojaryshnika. *Farmacija* [Farmatsiya] 1992; 41(6): 70-72. (In Russ.)
8. Zavyalova T.I., Kostko I.G. Biologicheskaya tsennost' tykvy i produktov ee pererabotki [The biological value of fresh and processed pumpkin fruit]. *Izvestija Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Izvestiya Saint-Petersburg state agrarian university] 2015; 39: 45-58. (In Russ.)
9. Kuregyan A.G. Izuchenie karotinoidov tykvy metodami spektrofotometrii i tonkosloynoy khromatografii [Study carotenoids pumpkin by spectrophotometry and TLC]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija* [Modern problems of science and education. Surgery] 2015; 1-2: 231. (In Russ.)
10. Landina L.N., Landin V.V. Tekhnologiya sukhogo ekstrakta soka myakoti tykvy kak perspektivnogo ob"ekta pri sozdanii preparata, obladayushchego gipolipidemicheskoy aktivnost'yu [The technology of dry extract juice pumpkin pulp as a promising object to create the drug, which has hypolipidemic activity]. *Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoy produkcii* [Development, research and marketing of the new pharmaceutical products] 2017; 72: 113-115. (In Russ.)

11. Razhabova G.H., Karomatov M.D., Hoshimova N. Tykva kak lechebnoe rastenie i perspektivy ego primeneniya v klinike vnutrennikh bolezney [Pumpkin as the medical plant and the prospects of its application in clinic of internal diseases]. *Biologija i integrativnaja medicina [Biology and integrative medicine]* 2017; 3: 144-155. (In Russ.)
12. Bryon A., Kurlovs A.H., Dermauw W., Greenhalgh R., Riga M., Grbic M., Tirry L., Osakabe M., Vontas J., Clark R.M., Van Leeuwen T. Disruption of a horizontally transferred phytoene desaturase abolishes carotenoid accumulation and diapause in *Tetranychus urticae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(29): 5871-5880.
13. Maoka T. Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines* 2020; 74(1): 1-16.
14. Melendez-Martinez A.J., Mapelli-Brahm P., Benitez-Gonzalez A., Stinco C.M. A comprehensive review on the colorless carotenoids phytoene and phytofluene. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2015; 572: 188-200.
15. Nishino A., Ichihara T., Takaha T., Kuriki T., Nihei H., Kawamoto K., Yasui H., Maoka T. Accumulation of paptika carotenoid in human plasma and erythrocytes. *J Oleo Sci* 2015; 64(10): 1135-1142.
16. Priyadarshani A.M.B. A review on factors influencing bioaccessibility and bioefficacy of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2017; 57(8): 1710-1717.
17. Rivera S., Vilaró F., Canela R. Determination of carotenoids by liquid chromatography/mass spectrometry: effect of several dopants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2011; 400: 1339-1346.
18. Stinco C.M., Benítez-González A.M., Hernanzb D., Vicario I.M., Meléndez-Martínez A.J. Development and validation of a rapid resolution liquid chromatography method for the screening of dietary plant isoprenoids: carotenoids, tocopherols and chlorophylls. *Journal of Chromatography A* 2014; 1370: 162-170.
19. Ying Wang, Sang-Jin Chung, Marjorie L. McCullough, Won O. Song, Luz Fernandez M., Sung I. Koo, Ock K. Dietary carotenoids are associated with cardiovascular disease risk biomarkers mediated by serum carotenoid concentrations. *Journal of Nutrition* 2014; 144(7): 1067-1074.