

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОПОЛИСА

Е.Ю. Бабаева

к.б.н., Российский университет дружбы народов (Москва)
E-mail: babaevaelena@mail.ru

Е.А. Данилина

интерн, Российский университет дружбы народов (Москва)
E-mail: la paloma blanca katerina11041989@mail.ru

М.А. Джавахян

к.фарм.н., Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: akorovamarina13@mail.ru

О.А. Семкина

к.фарм.н., Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

И.П. Малахова

инженер, Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева (Москва)

Проведено изучение физико-химических показателей образцов прополиса из разных регионов. Определены показатель окисляемости, количество окисляемых веществ, сумма фенольных соединений.

Ключевые слова: прополис, качественные реакции, показатель окисляемости, количество окисляемых веществ.

The study of physical and chemical parameters of propolis samples from different regions were carried out. indicator oxidation, the amount of oxidizable substances, the amount of phenolic compounds were defined.

Keywords: propolis, qualitative reactions, oxidizability indicator, amount of oxidizable substances.

По современным представлениям прополис – продукт пчеловодства, представляющий собой смесь смолистых, фенольных веществ, терпеноидов, воска и других соединений природного происхождения [10]. Эти вещества пчелы собирают с растений, о чем свидетельствует сходство химического состава и биологических свойств веществ растений и прополиса [15]. Наибольшее количество прополиса пчелы вырабатывают во второй половине лета, т. е. в период подготовки к зиме. Его используют как строительный материал для замазывания щелей в улье, придания сотам большей прочности и стерильности [2, 3]. Благодаря широкому спектру биологической активности соединений прополиса, лекарственные препараты из него используются современной медициной и ветеринарией [2, 14]. Состав прополиса сложен и полностью не изучен [11, 13]. При контроле качества прополиса используется ряд органолептических показателей (цвет, запах и др.), что не соответствует современным требованиям. Поэтому особенно важно внедрять при анализе прополиса физико-химические методы исследования.

Цель работы – изучение некоторых физико-химических показателей образцов прополиса из разных регионов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом анализа служили образцы прополиса из Орловской и Московской (2 образца) областей РФ, а также из Черниговской и Луганской областей Украины, образцы из Латвии и с Кипра. Физико-химические показатели образцов прополиса изучали согласно ГОСТ 28886-90 «Прополис» [4].

Методика определения показателя окисляемости. Анализ проводили со свежеприготовленными растворами прополиса при температуре 22 °С. Использовали раствор KMnO_4 с концентрацией 0,1 моль/л и 20%-ный раствор H_2SO_4 . В коническую колбу вместимостью 250 мл отвешивали 0,2 г прополиса (с точностью до 0,0001), приливали 5 мл 96%-ного этанола и выдерживали 1 ч. Затем в колбу наливали 100 мл дистиллированной воды, раствор перемешивали и фильтровали. В колбу вместимостью 150 мл вносили 10 мл фильтрата, прибавляли 90 мл дистиллированной воды, переме-

шивали. Далее отбирали пипеткой 2 мл разбавленного раствора, переносили в химический стакан вместимостью 50 мл, приливали 1 мл 20%-ного раствора H₂SO₄ и перемешивали 1 мин. К раствору добавляли одну каплю 0,1 моль/л раствора KMnO₄ и одновременно включали секундомер. Время (секунды) исчезновения розовой окраски раствора соответствует показателю окисляемости. Для доказательства восстановительных свойств прополиса в тех же условиях проводили испытание с контрольным раствором: 2 мл H₂O, 1 мл раствора H₂SO₄, 1 капля KMnO₄ [4].

Методика определения количества окисляемых веществ в прополисе. Готовили растворы: KMnO₄ 0,01 моль/л, 20%-ный раствор H₂SO₄, 0,01 моль/л соли Мора, 10%-ный уксусной кислоты, 1%-ный солянокислого бензидина. В коническую колбу вместимостью 250 мл отвешивали 0,2 г прополиса (с точностью до 0,0001), приливали 5 мл 96%-ного этанола, выдерживали в течение 1 ч и наливали 100 мл дистиллированной воды. Раствор перемешивали и пропускали через бумажный фильтр. В колбу вместимостью 150 мл вносили 10 мл фильтрата, прибавляли 90 мл дистиллированной воды и перемешивали. Затем 5 мл рабочего раствора переносили в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляли 10 мл дистиллированной воды, 10 мл 20%-ного раствора H₂SO₄, приливали 2 мл

раствора KMnO₄ концентрации 0,01 моль/л и оставляли для реакции на 10 мин. Через 10 мин ярко-розовый раствор со скоростью около 30 капель в минуту титровали раствором соли Мора концентрации 0,01 моль/л до светло-розовой окраски, прибавляли 5 капель раствора бензидина и дотитровывали со скоростью около 15 капель в минуту до обесцвечивания. Температура титруемых растворов должна быть 15–25 °С. Одновременно в тех же условиях 0,01 моль/л раствором соли Мора титровали контрольный раствор, содержащий 15 мл дистиллированной воды, 10 мл 20%-ного раствора H₂SO₄, 2 мл 0,01 моль/л раствора KMnO₄. Контрольный раствор выдерживали 10 мин. Количество окисляемых веществ в прополисе вычисляли по разнице объемов раствора соли Мора, израсходованных на титрование контрольного раствора и раствора прополиса [4]. В основе методики – обратное титрование. К анализируемому раствору добавляли избыток титранта-1 (раствор KMnO₄), в течение 10 мин между окисляемыми соединениями прополиса (например, флавоноидами) и ионами MnO₄⁻ протекала окислительно-восстановительная реакция, затем избыток титранта-1, не вступившего в реакцию, оттитровывали другим стандартным раствором – титрантом-2 (раствором соли Мора). Реакции представлены ниже.

Реакция 1		Реакция 2	
флавоноид – O – H → ^{-1e} флавоноид – O · + H ⁺	5	Fe ²⁺ → ^{-1e} Fe ³⁺	5
Red		Red	
MnO ₄ ⁻ + 8H ₃ O ⁺ → ^{+5e} Mn ²⁺ + 12H ₂ O	1	MnO ₄ ⁻ + 8H ₃ O ⁺ → ^{+5e} Mn ²⁺ + 12H ₂ O	1
избыток Ox (Mn ⁺⁷)		остаток Ox	
		<hr/>	
		5Fe ²⁺ + MnO ₄ ⁻ + 8H ₃ O ⁺ → 5Fe ³⁺ + Mn ²⁺ + 12H ₂ O	

В качестве редокс-индикатора применяли бензидин солянокислый.

Определение содержания суммы фенольных соединений. Сумму фенольных соединений в образце прополиса определяли фотоэлектроколориметрическим методом в соответствии с ГОСТ 28886-90 [4]. В коническую колбу вместимостью 50 мл отвешивают 0,05 г порошка прополиса, прибавляли 10 мл 96%-ного этанола и перемешивали на мешалке 10 мин. Смесь пропускали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл, фильтр промывали 96%-ным этанолом, и объем в

колбе доводили этанолом до метки. Измеряли оптическую плотность полученного спиртового раствора прополиса на фотоэлектроколориметре КФК-2 («Медтехника», Россия), используя светофильтр N3 с длиной волны 400 нм, в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. Контроль – 96%-ный раствор этанола.

Все анализы проводили в 3-кратной повторности. Статистическая обработка данных проводилась для малых выборок с определением доверительного интервала для среднего значения [6]. Уровень вероятности – 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение показателя окисляемости. Показатель окисляемости характеризует количество ненасыщенных соединений в прополисе, определяющих его биологическую активность. Постоянное наличие в прополисе ненасыщенных и фенольных соединений способствует его окислению при определенных условиях. В качестве таких соединений в прополисе могут выступать: ненасыщенные кислоты жирного ряда с 10 атомами углерода, характерные для экскретов мандибулярных желез рабочих пчел, например, 10-окси-2-деценовая кислота, фенольные соединения (кофейная, феруловая кислоты и др.), ненасыщенные соединения, относящиеся к терпеноидам. Главная составная часть прополиса – смола содержит в себе компоненты терпеноидной природы: резены, смоляные кислоты и спирты, их эфиры. Для большинства из них характерно наличие сопряженных двойных связей, способствующих окислению смол [1, 2, 7, 8]. У флавоноидов электроактивные центры формируются в первую очередь за счет гидроксильных групп [9].

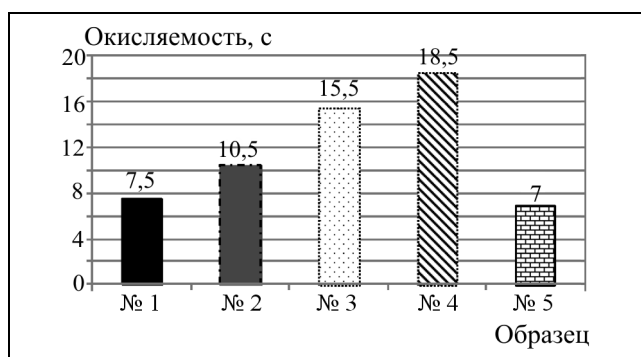


Рис. 1. Показатель окисляемости в образцах прополиса: № 1 – Орловская обл.; № 2 – Черниговская обл.; № 3 и № 4 – Московская обл.; № 5 – Луганская обл.

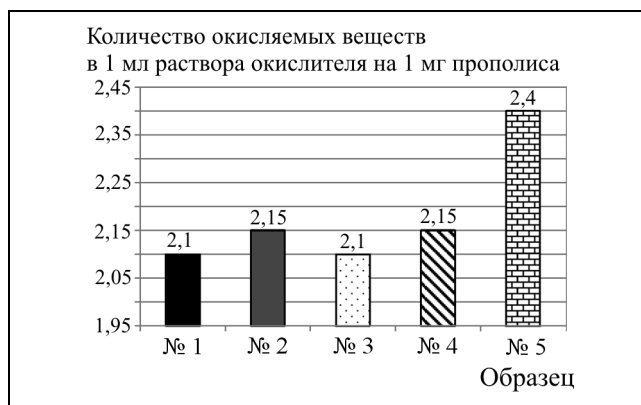


Рис. 2. Количество окисляемых веществ в образцах прополиса: № 1 – Орловская обл.; № 2 – Черниговская обл.; № 3 и № 4 – Московская обл.; № 5 – Луганская обл.

Полученные результаты показали, что значения окисляемости исследуемых образцов соответствуют требованиям НД (не более 22 с). Наиболее быстро раствор KMnO_4 обесцвечивал растворы из образцов прополиса, полученных в Орловской области РФ и Луганской области Украины, что может свидетельствовать о высоком содержании в них окисляемых веществ (рис. 1).

Определение количества окисляемых веществ в прополисе. Во время проведения испытания было отмечено, что методика, описанная в ГОСТ 28886-90, не воспроизводится. Свежеприготовленные растворы прополиса при добавлении к ним 2 мл 0,01 моль/л раствора KMnO_4 не сохраняли ярко-розовое окрашивание в течение 10 мин, а уже через 2 мин полностью обесцвечивали добавленный раствор KMnO_4 . Опытным путем было установлено, что необходимо добавлять 10 мл 0,01 моль/л раствора KMnO_4 для воспроизведения условия обратного титрования – наличия избытка титранта-1. В случае контрольного раствора при добавлении к нему 2 мл 0,01 моль/л KMnO_4 ярко-розовая окраска сохранялась в течение 10 мин, что указывало на отсутствие в нем окисляемых веществ и подтверждало правильность приготовления используемых растворов. Так как было принято решение о добавлении к рабочему раствору 10 мл титранта-1, то и к контрольному раствору также добавляли 10 мл 0,01 моль/л раствора KMnO_4 .

Окисляемые вещества в прополисе обуславливают его антиоксидантные свойства. Чем больше в прополисе таких веществ, тем он ценнее с фармакологической точки зрения. Установленный показатель количественно определяет способность веществ прополиса окисляться. Результаты анализа показали, что в изученных образцах прополиса содержится количество окисляемых веществ, соответствующее требованиям ГОСТ 28886-90: не менее 0,6 в 1 мл раствора окислителя на 1 мг прополиса (рис. 2). Можно сделать вывод, что в наибольшей степени способность веществ прополиса к окислению представлена у образца из Луганской области Украины.

Определение флавоноидных и других фенольных соединений. Колориметрическим методом с использованием реактива Folin-Ciocalteu румынскими учеными определено общее содержание полифенолов в 5 % извлечении прополиса (растворитель – 70%-ный этанол): $41,03 \pm 11,23\%$ (от 23,25 до 63,23%) [5, 12]. Согласно ГОСТ 28886-90, массовая доля флавоно-

идных и других фенольных соединений должна быть не менее 25,0%. Можно отметить, что образцы прополиса из Московской области РФ № 3, Луганской области Украины и с Кипра не отвечают требованиям НД. Образец из Московской области № 4 отличался от других достоверно более высоким содержанием фенольных соединений (рис. 3).

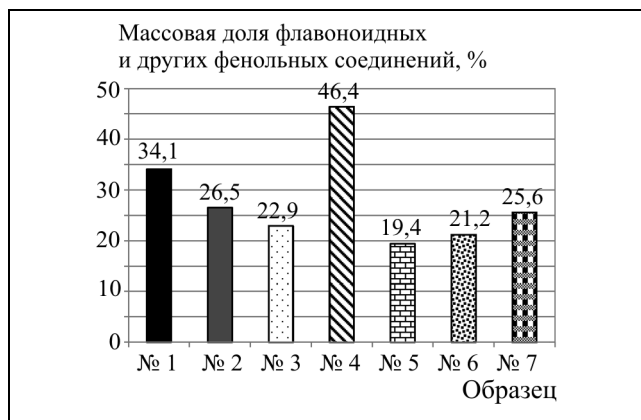


Рис. 3. Содержание флавоноидных и других фенольных соединений в образцах прополиса: № 1 – Орловская обл.; № 2 – Черниговская обл.; № 3 и № 4 – Московская обл.; № 5 – Луганская обл.; № 6 – Кипр; № 7 – Латвия

ВЫВОДЫ

1. Образец из Московской области № 4 с наиболее высоким достоверным содержанием флавоноидных и других фенольных соединений имел существенно более низкий показатель окисляемости. Окисляемые вещества, обладающие антиоксидантными свойствами, в наибольшей степени представлены в образце из Луганской области Украины, но они не являются фенольными соединениями.
2. Полученные результаты подтверждают характеристику прополиса как сложной многокомпонентной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Браславский В.Б., Куркин В.А.* Стандартизация сырья и препаратов тополя и прополиса // *Фармация*. 2009. № 4. С. 53–55.
2. *Вахонина Т.В.* Пчелиная аптека. СПб.: Лениздат. 1995. 240 с.
3. *Головнев В.И., Кочевой М.М., Шеметков М.Ф.* Советы пчеловоду. Минск: Ураджай. 1991. 397 с.
4. ГОСТ 28886-90 «Прополис». Группа С52. Межгосударственный стандарт. Технические условия Propolis. М.: ИПК Изд-во стандартов. 1990. 9 с.
5. ГОСТ Р ИСО 14502-1-2010 Чай. Метод определения общего содержания полифенолов. М.: Изд-во Стандартиформ. 2012. 16 с.
6. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта. Изд-е 5-е. доп. и перераб. М.: Агропромиздат. 1985. 351 с.
7. *Корнева Н.В., Орлов Б.Н.* Прополис и воск – пчелам и человеку. Н. Новгород: Изд. Ю.А. Николаев. 2009. 192 с.
8. *Омаров Ш.М.* Апитерапия: продукты пчеловодства в мире медицины. Ростов н/Д: Феникс. 2009. 351 с.
9. *Червяковский Е.М., Курченко В.П., Костюк В.А.* Роль флавоноидов в биологических реакциях с переносом электронов // *Труды Белорусского государственного университета*. Сер. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2009. Т. 4. Ч. 1. С. 9–26.
10. *Иванов Ц.И., Шкендеров С.В.* Пчелиные продукты. София: Земиздат. 1983. 228 с.
11. *Da Silva F.C., Favaro-Trindade C.S., de Alencar S.M., et al.* Physicochemical properties, antioxidant activity and stability of spray-dried propolis // *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 2011. V. 3. № 2. P. 94–100.
12. *Marghitas L.A., Mihai C.M., Chirila F., et al.* The Study of the Antimicrobial Activity of Transylvanian (Romanian) Propolis // *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 2010. V. 38. № 3. P. 40–44.
13. *Sawaya A.C., Frankland H., da Silva C., Ildenize B., et al.* Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis // *Sawaya et al. Chemistry Central Journal*. 2011. V. 5. Is. 1. p. 27.
14. *Sforcin J.M., Bankova V.* Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? // *Journal of Ethnopharmacology*. 2011. 133. P. 253–260.
15. *Stan L., Mărghitas L.Al., Dezmiorean D.* Influence of Collection Methods on Propolis Quality // *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*. 2011. V. 68. № 1–2.

Поступила 13 февраля 2015 г.

STUDIYNG OF SOME PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS OF PROPOLIS

© Authors, 2015

E.Y. Babaeva

Ph.D. (Biol.), Peoples' Friendship University of Russia (Moscow)

E-mail: babaevaelena@mail.ru

E.A. Danilina

Intern, Peoples' Friendship University of Russia (Moscow)

E-mail: la paloma blanca katerina11041989@mail.ru

M.A. Dzhavakhyan

Ph.D. (Pharm.), All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

O.A. Semkina

Ph.D. (Pharm.), All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

I.P. Malahova

Engineer, Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev (Moscow)

The quality control of propolis according to regulatory documents is used a number of organoleptic characteristics (color, odor, etc.) that do not meet modern requirements. It is therefore particularly important to introduce the analysis of propolis physico-chemical methods: indicator oxidation, the amount of oxidizable substances, total content of flavonoids and other phenolic compounds.

The results showed that the values of the samples of propolis oxidizability comply normative documents (not more than 22 sec.). During the test content in propolis amount of oxidizable substances, it was noted that the methodology described in State Standard 28886-90, is not reproduced. Freshly prepared solutions of propolis by the addition of 2 ml of 0.01 mol / L $KMnO_4$ solution did not keep a bright pink color within 10 minutes, and 2 minutes completely decolorized solution $KMnO_4$. Empirically it has been found that it is necessary to add 10 ml of 0.01 mol / l solution $KMnO_4$ for playback back titration conditions - presence of an excess of titrant 1. In determining the content of flavonoid and other phenolic compounds was found that the sample from the Moscow region number 4 differed from other significantly higher their content. In general, it can be noted that the results obtained confirm the characteristic of propolis as a complex multicomponent system.

References

1. Braslavskij V.B., Kurkin V.A. Standartizacija syr'ja i preparatov topolja i propolisa // Farmacija. 2009. № 4. S. 53–55.
2. Vahonina T.V. Pchelinaja apteka. SPb.: Lenizdat. 1995. 240 s.
3. Golovnev V.I., Kochevoj M.M., Shemetkov M.F. Sovety pchelovodu. Minsk: Uradzhaj. 1991. 397 s.
4. GOST 28886-90 «Propolis». Gruppya S52. Mezghosudarstvennyj standart. Tehnicheskie uslovija Propolis. M.: IPK Izd-vo standartov.1990. 9 s.
5. GOST R ISO 14502-1-2010 Chaj. Metod opredelenija obshhego sodержanija polifenolov. M.: Izd-vo Standartinform. 2012. 16 s.
6. Dospehov B.A. Metodika polevogo opyta. Izd-e 5-e. dop. i pererab. M.: Agropromizdat. 1985. 351 s.
7. Korneva N.V., Orlov B.N. Propolis i vosk – pchelam i cheloveku. N. Novgorod: Izd. Ju.A. Nikolaev. 2009. 192 s.
8. Omarov Sh.M. Apiterapija: produkty pchelovodstva v mire mediciny. Rostov n/D: Feniks. 2009. 351 s.
9. Chervjakovskij E.M., Kurchenko V.P., Kostjuk V.A. Rol' flavonoidov v biologicheskikh reakcijah s perenosom jelektronov // Trudy Belorusskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Ser. Fiziologicheskie, biohimicheskie i molekulyarnye osnovy funkcionirovanija biosistem. 2009. T. 4. Ch. 1. S. 9–26.
10. Ivanov C.I., Shkenderov S.V. Pchelinye produkty. Sofija: Zemizdat. 1983. 228 s.
11. Da Silva F.C., Favaro-Trindade C.S., de Alencar S.M., et al. Physicochemical properties, antioxidant activity and stability of spray-dried propolis // Journal of ApiProduct and ApiMedical Science. 2011. V. 3. № 2. P. 94–100.
12. Marghitas L.A., Mihai C.M., Chirila F., et al. The Study of the Antimicrobial Activity of Transylvanian (Romanian) Propolis // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 2010. V. 38. № 3. P. 40–44.
13. Sawaya A.C., Frankland H., da Silva C., Ildenize B., et al. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis // Sawaya et al. Chemistry Central Journal. 2011. V. 5. Is. 1. p. 27.
14. Sforcin J.M., Bankova V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? Journal of Ethnopharmacology. 2011. 133. P. 253–260.
15. Stan L., Mărghitas L.A., Dezmiorean D. Influence of Collection Methods on Propolis Quality // Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies. 2011. V. 68. № 1–2.



Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Аллизарин (таблетки, мазь) (рег. №№ 85/507/2; 85/507/10; 85/507/16) – противовирусное средство.

По сравнению с ацикловиром обладает более широким спектром действия. Получен из травы копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) или копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* Rerel et Schmalh).

Аммифурин (таблетки, спиртовой раствор) (рег. №№ 83/914/9; 70/151/47; 70/151/48) – фотосенсибилизирующее средство, получаемое из плодов аммии большой (*Ammi majus* L.).

Анмарин (линимент, гель, лосьон (раствор)) (рег. №№ 90/248/1; 95/178/5; 90/248/4) – (антифугнальное, противогрибковое средство, получаемое из плодов аммии большой (*Ammi majus* L.).