# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ

О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, С. С. Воропаева

Воронежский государственный университет Поступила в редакцию 29.01.2013 г.

**Аннотация.** Разработаны простые, доступные методики количественного определения суммы органических и аскорбиновой кислот в листьях крапивы двудомной, которые могут быть учтены при разработке современной нормативной документации. Установлены оптимальные технологические параметры получения извлечения. Проведена сравнительная оценка содержания органических и аскорбиновой кислот в извлечениях из листьев крапивы двудомной, полученных различными способами. Установлена доля важнейших кислот – аскорбиновой и оксикоричных в общей сумме органических кислот листьев крапивы двудомной.

**Ключевые слова:** органические кислоты, аскорбиновая кислота, оксикоричные кислоты, листья крапивы двудомной.

**Abstract.** Simple, available techniques of quantitative definition of the sum organic and ascorbic acids in leaves are developed by a Urticae dioicae which can be considered when developing modern standard documentation. Optimum technological parameters of receiving extraction are established. The comparative assessment of the contents organic and ascorbic acids in extraction from leaves by a Urticae dioicae, received is carried out in the various ways. The share of the major acids – ascorbic and oxycoriches in total amount of organic acids of leaves of a is established by a Urticae dioicae.

Keywords: organic acids, ascorbic acid, oxycoriches acids, leaves Urticae dioicae.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Одним из классов соединений, проявляющих широкий диапазон биологической активности, являются органические кислоты. Комплекс органических кислот входит в состав косметических пилингов в качестве кератолитического компонента [1,2]. Они обладают антиоксидантной, противовоспалительной, иммуномодулирующей активностью, принимают участие в обмене веществ, положительно влияют на усвоение пищи, создают благоприятные условия для жизнедеятельности полезных микроорганизмов кишечника. Поэтому поиск новых растительных источников, богатых органическими кислотами, а также разработка методик их количественного определения в лекарственном растительном сырье (ЛРС) является весьма актуальным направлением исследований.

Анализ литературы за последние 10 лет, показал, что большая часть публикаций по количественному определению суммы органических кислот в ЛРС посвящена методу алкалиметрии [3-8]. Физико-химические методы до настоящего времени редко используются для анализа данных биологически активных веществ (БАВ) в различных объектах. Метод кулонометрического титрования описан авторами для определения суммы кислот в плодах рябины обыкновенной [8]. Среди хроматографических методов наибольшее значение в контроле качества данных БАВ занимает тонкослойная хроматография (ТСХ). Большинство публикаций посвящено оценке качественного состава кислот в различных видах ЛРС [4-7,9].

Крапива двудомная — одно из ценных растений, имеющее широкий ареал распространения. Основное фармакологическое применение данного ЛРС - кровоостанавливающее средство [3,10-12]. Комплекс БАВ ЛРС крапивы включает большое количество классов различных веществ. Согласно, нормативной документации (НД), определение органических кислот в листьях крапивы двудомной не предусмотрено [3]. Проведенные исследования по количественному определению показали значительное их содержание в ЛРС. Следовательно, необходимо учитывать данный показатель при разработке проектов фармакопейных статей (ФС) на листья крапивы двудомной.

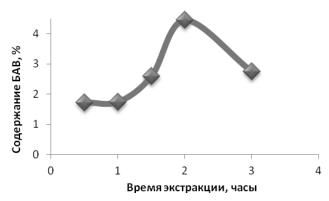
Целью настоящей работы являлась разработка методики количественного определения суммы

<sup>©</sup> Тринеева О. В., Сливкин А. И., Воропаева С. С., 2013

органических кислот в листьях крапивы двудомной, а также аскорбиновой и оксикоричных кислот.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования являлось измельченное высушенное ЛРС крапивы двудомной отечественного производителя, соответствующее требованиям НД. Для извлечения суммы органических кислот из ЛРС, согласно литературным данным [3-9], наиболее часто используют воду в качестве экстрагента. Экспериментальным путем установлено, что оптимальным соотношением ЛРС и экстрагента для извлечения суммы органических кислот является 1:250 (табл. 1), а наилучшее время экстракции, за которое будет извлекаться максимальное количество БАВ данной группы, составляет 2 часа (рис. 1).

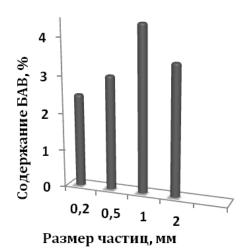


*Puc. 1.* Влияние времени экстракции на извлечение суммы органических кислот из листьев крапивы двудомной.

Таблица 1 Влияние соотношения сырья и экстрагента на извлечение суммы органических кислот из листьев крапивы двудомной

№ п/п	Соотношение сырья и экстрагента	Содержание БАВ, %
1	1:25	1.16
2	1:50	1.04
3	1:100	4.19
4	1:250	4.45
5	1:300	3.09
6	1:500	1.45

При изучении влияния размера частиц на выход органических кислот в извлечение из ЛРС, установлено, что максимальное содержание БАВ наблюдается при использовании частиц сырья, проходящего через сито с размером отверстий 1 мм (рис. 2).



*Puc. 2.* Содержание суммы органических кислот в извлечении в зависимости от размера частиц.

Получение извлечения: Около 1.0 г (точная навеска) измельченных листьев крапивы двудомной с размером частиц 1.0 - 0.5 мм помещают в колбу вместимостью 500 мл, заливают 250 мл воды и выдерживают в течение 2 ч на кипящей водяной бане, затем охлаждают, фильтруют через несколько слоев марли, отжимая ЛРС, и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл. Доводят объём извлечения водой до метки и перемешивают.

Определение содержания свободных органических кислот. Отбирают 10 мл извлечения, помещают в колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 100 мл свежепрокипяченой воды, 6 капель 1% спиртового раствора фенолфталеина, 12 капель 0.1% спиртового раствора метиленового синего и титруют раствором натра едкого (0.01 моль/л) до перехода окраски от зеленовато-голубой до лиловой. Параллельно проводят контрольный опыт. Содержание суммы свободных органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X, \% = \frac{(V_o - V_k) \cdot K \cdot 0.00067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{10 \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где 0.00067 — количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натра едкого  $(0.01\ \text{моль/л})$ , в граммах;  $V_{\text{o}}$  — объём раствора натра едкого  $(0.01\ \text{моль/л})$ , пошедшего на титрование в основном опыте, в миллилитрах;  $V_{\text{к}}$  — объём раствора натра едкого  $(0.01\ \text{моль/л})$ , пошедшего на титрование в контрольном опыте, в миллилитрах; а — масса сырья в граммах; W — потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Сумма органических кислот в ЛРС представлена оксикоричными кислотами, аскорбиновой кислотой и другими карбоновыми кислотами [2,10,13]. Следовательно, необходимо было определить долю важнейших кислот — аскорбиновой и оксикоричных в общей сумме для включения данных показателей в НД. Аскорбиновую кислоту в ЛРС различных видов традиционно определяют титриметрическим методом [14,15], однако, подобная методика для изучаемого сырья не включена в НД. Поэтому на следующем этапе работы была разработана методика количественного определения витамина С в листьях крапивы двудомной.

Определение содержания аскорбиновой кислоты. Отбирают 5 мл извлечения, помещают в колбу для титрования вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл 2 % раствора соляной кислоты, 50 мл воды очищенной и титруют из пипетки или микробюретки свежеприготовленным 0.001 М раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до появления слабо-розового окрашивания, устойчивого в течении 60 секунд. Содержание аскорбиновой кислоты в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X,\% = \frac{V \cdot K \cdot 0.000088 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{5 \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где 0,000088 – количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0.01 моль/л), в граммах; V – объём раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах; а – масса сырья в граммах; W – потеря в массе при высушивании

сырья в процентах.

Определение суммы оксикоричных кислот



#### аскорбиновая кислота

Рис. 3. Распределение органических кислот в общей сумме в извлечении из листьев крапивы двудомной, приготовленном по методике ГФ XI. проводили по известной методике [10]. Доля важнейших кислот – аскорбиновой и оксикоричных в общей сумме органических кислот листьев крапивы двудомной приведены на рис. 3.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты определения содержания суммы органических кислот в листьях крапивы двудомной представлены в таблице 2, статистическая обработка экспериментальных данных представлена в таблице 3.

Для определения влияния времени кипячения на выход и стабильность органических кислот, а также для оценки правомерности разработанной методики и сравнения полученных данных количественного определения с результатами содержания кислот в настое, приготовленном в до-

Таблица 2 Сравнительная оценка содержания суммы органических кислот в листьях крапивы двудомной при различных способах приготовления извлечения.

No	Название метода	Содержание суммы органических	Содержание аскорбиновой	
П/П	Trasbarrio meroda	кислот, %	кислоты, %	
1	Получение настоя по ГФ XI	1,559±0,116	$0,042\pm0,003$	
2	Получение настоя как указано на упаковке	1,460±0,108	0,115±0,008	
3	По методике авторов	4,450±0,330	0,378±0,027	

Таблица 3 Метрологическая характеристика методики определения ( $P=95\,\%;\,n=5$ ).

X <sub>cp</sub>	$S^2$	S	Sx <sub>cp</sub>	Δx	$\Delta x_{cp}$	ε <sub>cp</sub> , %
Сумма органических кислот, %						
4,01	0,0567	0,238	0,1067	0,662	0,297	7,41
Аскорбиновая кислота, %						
0,115	0,000027	0,0052	0,0026	0,165	0,0083	7,19

машних условиях, проводили определение БАВ в извлечении, полученном по методике ГФ XI [3] и согласно рекомендациям на упаковке (табл. 2). Наблюдается повышение выхода кислот с увеличением времени экстракции ЛРС. Эксперимен-

Таблица 4. Содержание органических кислот в некоторых видах ЛРС.

<b>№</b> п/п	Наименование ЛРС	Содержание суммы органических, %	Содержание аскорбино- вой кисло- ты, %
1	Плоды рябины обыкновенной [3]	Не менее 3,2	-
2	Листья крапи- вы двудомной* Плоды облепи-	4,450±0,330	0,378±0,027
3	Плоды облепи- хи крушино- видной [17]	-	0,12
4	Плоды шипов- ника [3]	Не менее 2,6	Не менее 0.2
5	Листья крапи- вы коноплевой [16]	-	0,275

<sup>\* -</sup> экспериментальные данные; «-» нет данных.

тально полученные результаты определения содержания органических кислот в изучаемом ЛРС были сравнены с известными значениями показателей, приведенными в литературе (табл. 4).

Анализ данных (рис. 3 и табл. 4) свидетельствуют о значительном содержании суммы органических кислот в листьях крапивы двудомной и правомерности предлагаемых методик, что может являться основанием для включения данного показателя в современную НД.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, разработаны простые, доступные методики количественного определения суммы органических и аскорбиновой кислот в листьях крапивы двудомной, которые могут быть учтены при разработке современной НД. Установлены оптимальные параметры получения извлечения (размер частиц, время экстракции, соотношение сырья и экстрагента и др.). Проведена сравнительная оценка содержания органических кислот в извлечениях из листьев крапивы двудомной, полученных различными способами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е.

Новосиб.:Наука, 1990. — 333 с.

- 2. Бурда Н.Е. Количественное определение гидроксикоричных кислот а траве и подземных органах FILIPENDULA ULMARIA (L.) MAXIM. / Н.Е. Бурда [и др.] // Материалы Всероссийской с международным участием научно-практической конференции «Традиции и инновации фармацевтической науки и практики». Курск (апрель, 2011). С. 209-212.
- 3. Государственная Фармакопея XI изд., Вып. 2, 1990. С.294-297.
- 4. Зинченко И.Г. Определение качественного состава и количественного со-держания органических кислот в корнях, траве, листьях и соцветиях тифона / И.Г. Зинченко, В.С. Кисличенко // Материалы Всероссийской с международным участием научно-практической конференции «Традиции и инновации фармацевтической науки и практики». Курск (апрель, 2011). С. 256-257.
- 5. Танская Ю.В. Изучение биологически активных веществ травы чабера садового, культивируемого в условиях Ставропольского края / Ю.В. Танская, О.И. Попова // Труды научно-практической конф. Фармация из века в век. Ч. III. СПб. 2008. С. 151-155.
- 6. Жуков И.М. Химический состав травы зюзника европейского / И.М. Жу-ков, М.Н. Победоносцева, Е.О. Салыкина // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Традиции и инновации фармацевтической науки и практики». Курск (октябрь, 2011). С. 317-319.
- 7. Бубенчикова В.Н. Изучение органических кислот травы прозанника крапчатого по фазам вегетации / В.Н. Бубенчикова, А.Ю. Малютина // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Традиции и инновации фармацевтической науки и практики». Курск (октябрь, 2011). С. 302-304.
- 8. Абдуллина С.Г. Определение органических кислот в плодах рябины обыкновенной / С.Г. Абдуллина [и др.] // Фармация. №2. 2011. С. 17-19.
- 9. Сущук Н.А. Изучение органических кислот в почках и ветках смородины черной / Н.А. Сущук, В.С. Кисличенко // Материалы Всероссийской с международным участием научно-практической конференции «Традиции и инновации фармацевтической науки и практики». Курск (апрель, 2011). С. 254-255.
- 10. Коломиец Н.Э. Стандартизация листьев крапивы двудомной / Н.Э. Коломиец, Г.И. Калин-

кина, Н.Н. Сапронова // Фармация. — 2011. — №6. — С. 22-24.

- 11. Юдина Н.В. Влияние параметров диспергирования крапивы двудомной на изменения степени измельчения, выходов и свойств экстрактивных веществ / Н.В. Юдина [и др.] / Химия растит. сырья. 2012. №1. С. 137-142.
- 12. Буркова В.Н. Противогипоксическое и гемостимулирующее действие экстракта крапивы, полученного методом нанотехнологии / В.Н. Буркова [и др.] // Хим.-фарм. журн. Том 44. №3. 2010. С. 32-34.
- 13. Абрамова Я.И. Разработка методики количественного определения гидроксикоричных кислот в экстракте желчегонного сбора №2 / Я.И. Абрамова [и др.] // Материалы Всероссийской с международным участием научно-практической конференции «Традиции и инновации фарма-

- цевтической науки и практики». Курск (апрель, 2011). С. 232-233.
- 14. Сергунова Е.В. Исследования по стандартизации плодов шиповника / Е.В. Сергунова, А.А. Сорокина // Фармация. №5. 2011. С. 12-15.
- 15. Сергунова Е.В. Изучение экстракционных препаратов шиповника / Е.В. Сергунова, А.А. Сорокина, М.А. Корнюшина // Фармация. №2.-2012. С. 14-16.
- 16. Пецуха В.С. Фармакогностическое изучение крапивы коноплевой / В.С. Пецуха // Автореф. на соиск. уч. ст. канд. фарм. н. Улан-Удэ, 2009. 26 с.
- 17. Юнусова Ф.М. Определение содержания биологически активных ве-ществ в плодах облепихи дагестанских популяций / Ф.М. Юнусова, А.Ш. Рамазанов, К.М. Юнусов // Химия растит. сырья. 2009. №1. С. 109-111.

Тринеева Ольга Валерьевна — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета ВГУ; e-mail: trineevaov@mail.ru.

Сливкин Алексей Иванович — доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета ВГУ; e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

Воропаева Светлана Сергеевна — студент фармацевтического факультета ВГУ.

Trineeva Olga V. — candidate of pharmaceutical sciences, associate professor of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty of VSU; e-mail: trineevaov@mail.ru.

Slivkin Alexey I. — doctor фарм. sciences, professor, manager. chair of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, dean of pharmaceutical faculty of VSU; e-mail: slivkin@ pharmvsu.ru

Voropaeva Svetlana S. — student of pharmaceutical faculty of VGU.