

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТАХ (НА ПРИМЕРЕ ВИДОВ РОДА ГОРЕЦ)

А. А. Гудкова, А. С. Чистякова, А. С. Болгов

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 22.03.2022 г.

Аннотация. В настоящее время важным направлением в фармации является комплексное изучение химического состава лекарственных растений, что позволит не только использовать сочетанное действие групп биологически активных веществ в лечебных целях, но и избежать риск возникновения возможных побочных эффектов. Целью исследования являлась оценка количественного содержания суммы карбоновых кислот в растительных объектах на примере рода горец. Объекты исследования – виды рода горец: горец почечуйный, горец щавелелистный, горец войлочный, горец перечный, горец малый, горец земноводный двух форм, наземной и водной. Качественный состав и количественное содержание некоторых органических кислот в изучаемых видах определяли с помощью капиллярного электрофореза. Суммарное содержание органических кислот оценивали по методике ФС.2.5.0093.18 ГФ РФ XIV изд. «Рябины обыкновенной плоды». Пересчет суммы органических кислот проводили на яблочную и щавелевую кислоты. Визуализацию кристаллических включений в анализируемых объектах проводили при проведении микроскопического исследования. Методом капиллярного электрофореза установлено содержание яблочной и щавелевой кислот в изучаемых видах. Установлено, что наибольшее количество всей суммы органических кислот наблюдается в составе травы горца перечного (13.4%). В траве наземной формы горца земноводного их содержание на 2.7% меньше, а в траве горца малого в 2 раза меньше, чем в траве горца перечного. В результате использования фармакопейного метода оценки содержания суммы органических кислот методом алкалометрического титрования, даны рекомендации по использованию пересчета данного показателя на щавелевую кислоту. Изучено наличие зависимости между содержанием щавелевой кислоты в растениях и биометрическими характеристиками друз оксалата кальция, обнаруженных во всех частях растений с помощью микроскопического анализа. Полученные данные могут быть использованы при составлении проектов нормативных документов на изучаемые виды растений.

Ключевые слова: карбоновые кислоты, органические кислоты, щавелевая кислота, яблочная кислота, род горец

Химический состав любого растительного организма не ограничивается наличием нескольких компонентов, он представляет собой комплекс из сотен соединений различных биохимических групп. При изучении свойств растения, обычно, фармакологический эффект каждого из них, приписывают к определенной группе биологически активных веществ (БАВ), так называемой, основной. Так, например, известно, что растения рода горец (персикария), относящиеся к семейству гречишные, являются источниками фенольных соединений (флавоноидов, дубильных веществ, оксикоричных кислот) [1-5] и витамина К [6,7], благодаря которым они оказывают капилляропро-

текторную, антиоксидантную и кровоостанавливающую активности [3,8,9,10]. Кроме того, в составе данной группы видов присутствуют и другие компоненты, в том числе, органические кислоты. Помимо позитивного влияния (активируют функции скелетной мускулатуры, обладают бактерицидным и противовоспалительным эффектами) [11-14], органические кислоты могут давать разнообразные побочные эффекты (образование оксалатных камней в почках и мочевом пузыре, дефицит кальция, нарушение обмена веществ) [15-18]. Учитывая, что в рамках всестороннего, комплексного влияния БАВ растительного объекта на организм человека и животных, необходимо иметь о нем максимально полную информацию, что позволит не только использовать сочетанное

действие групп БАВ в лечебных целях, но и избежать риск возникновения возможных побочных эффектов, оценка содержания суммы органических кислот в растительных объектах актуальна.

Целью исследования являлась оценка количественного содержания суммы карбоновых кислот в растительных объектах на примере рода горец.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе были использованы образцы травы семи видов рода горец: горца почечуйного (*Persicaria maculosa* S.F. Gray), горца щавелелистного (*Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre), горца войлочного (*Persicaria tomentosa* (Schrank) E.P. Bicknell), горца перечного (*Persicaria hydropiper* (L.) Delarbre), горца малого (*Persicaria minor* (Huds.) Opiz), горца земноводного двух форм, наземной (*Persicaria amphibia* var. *terrestris* (Leyss.) Munshi & Javeid) и водной (*Persicaria amphibia* (L.) Delarbre). Растения заготавливали на территории Воронежской области и подвергали воздушно – теневой сушке.

Качественный состав и количественное содержание некоторых ОК в изучаемых видах проводили с помощью капиллярного электрофореза (Капель, СПб, Россия). В качестве подвижной фазы был выбран фосфатный буфер, параметры капилляра: общая длина составила 50 см, рабочая длина 40 см, ID = 50 мкм. Впрыск пробы: 300 мбар·с, используемое напряжение –17 кВ. Температура: +20 °С. Детектирование проводили при длине волны 190 нм, косвенное [19].

Оценку количественного содержания суммы органических кислот выполняли согласно методике ФС.2.5.0093.18 ГФ РФ XIV изд. «Рябины обыкновенной плоды» [20]. Пересчет суммы ОК проводили на яблочную кислоту, согласно методике.

Для анализа количественного содержания суммы органических кислот в пересчете на щавелевую кислоту использовали ту же методику, которая представлена в ФС.2.5.0093.18 ГФ РФ XIV изд. «Рябины обыкновенной плоды» [20]. Расчет вели по формуле представленной в ФС с учетом молярной массы щавелевой кислоты.

Для визуализации кристаллических включений в анализируемых объектах использовали микроскопический метод исследования. Предварительно проводилась пробоподготовка сырья в целях его обесцвечивания, по методике, приведенной в ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XIV изд. [20].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первоочередной задачей исследования являлась оценка качественного состава и количественного содержания яблочной и щавелевой кислот в траве исследуемых видов горцев. Для этого был использован метод капиллярного электрофореза, являясь наиболее простым и экспрессным методом, позволяющим проводить разделение и идентификацию изучаемых соединений. В результате проведенной работы во всех видах рода горец были идентифицированы искомые соединения и установлены их количества. На рисунке 1 приведены диаграммы, отражающие количество яблочной и щавелевой кислот в общей сумме ОК растений. Следует обратить внимание, что наибольшее количество всей суммы ОК наблюдается в составе травы горца перечного (13.4%), что возможно, объясняет специфический привкус свежесорванного растения и жжение поверхности кожных покровов при его заготовке. В траве наземной формы горца земноводного количество ОК на 2,7% меньше, а в траве горца малого в 2 раза меньше, чем в траве горца перечного. В довольно высоком количестве в изучаемых видах содержится щавелевая кислота, большее количество которой также характерно для горца перечного (7.36%), которая в сумме ОК растения занимает более 50%. Несмотря на то, что в траве горца почечуйного абсолютное значение содержания щавелевой кислоты составляет 3.36%, доля ее в сумме ОК этого растения составляет 93%. В траве горца войлочного абсолютное содержание щавелевой кислоты составило 1,7%, доля в сумме ОК – 66%. Остальные виды можно распределить в следующем порядке по убыванию доли щавелевой кислоты в сумме ОК: горец малый (27%) > горец земноводный водная форма (13%) > горец земноводный наземная форма (11.1%) > горец щавелелистный (7.7%).

Максимальное количество яблочной кислоты наблюдается в составе травы горца земноводного водной формы (0.66%, что соответствует 18.7% от суммы ОК) и наземной формы (0.28%), в остальных видах ее количество было незначительно (0.04 – 0.07%). После расчета доли яблочной кислоты остальные виды распределяются следующим образом по убыванию доли ее содержания в сумме ОК: горец почечуйный (3.6%) > горец земноводный наземная форма (2.6%) > горец войлочный (2.3%) > горец щавелелистный (0.98%) > горец малый (0.92%) > горец перечный (0.4%).

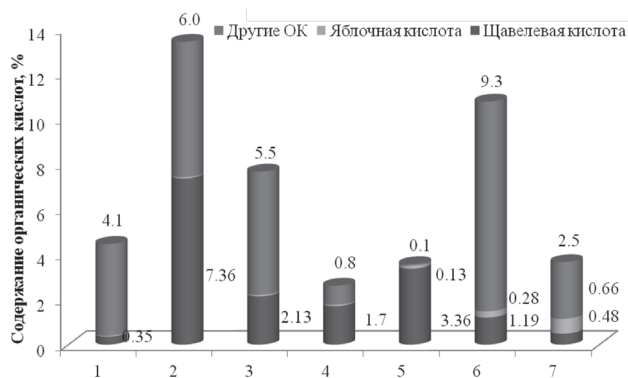


Рис. 1. Содержание яблочной и щавелевой кислот в траве горца щавелелистного (1), горца перечного (2), горца малого (3), горца войлочного (4), горца почечуйного (5), горца земноводного наземной формы (6), водной формы (7)

Действующая в настоящее время в Российской Федерации нормативная документация для оценки качества лекарственного растительного сырья, в весовых количествах содержащего органические кислоты подразумевает использование метода алкалометрического титрования. При этом пересчет содержания суммы органических кислот проводится на яблочную кислоту, что имеет ряд недостатков, главным из которых является малое количество яблочной кислоты в растительных объектах, примером подобной ситуации являются представители рода горец, для которых яблочная кислота является минорным соединением.

При использовании методики, приведенной в ФС.2.5.0093.18 ГФ РФ XIV изд. «Рябины обыкновенной плоды» [20] нами был проведен анализ содержания органических кислот в траве изучаемых видов в пересчете на яблочную кислоту. Результаты представлены на рис.2.

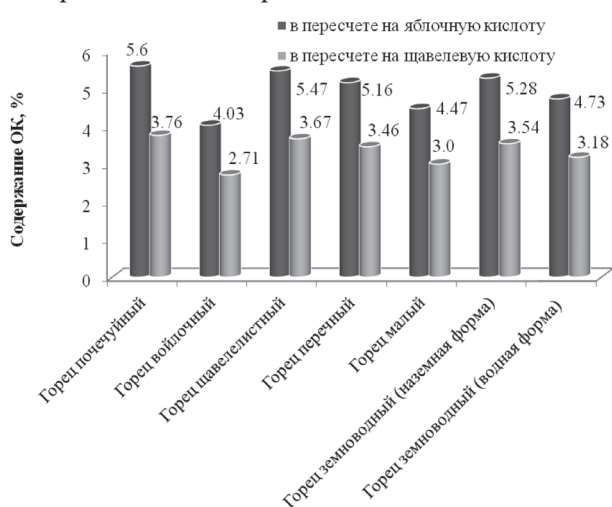


Рис. 2. Содержание суммы органических кислот в траве видов рода горец в пересчете на яблочную и щавелевую кислоты

В результате количественного определения суммы ОК в пересчете на яблочную кислоту в каждом исследуемом виде, было установлено наиболее высокое и сходное их содержание для горцев почечуйного, щавелелистного, перечного и наземной формы горца земноводного (5.16% - 5.60%). В наименьшем количестве сумма ОК представлена в горцах войлочном, малом и водной форме горца земноводного (4.03% - 4.73%).

Расхождения в данных о суммарном содержании ОК в растительном сырье (на примере видов рода горец), полученном разными методами, связано с особенностями выполнения эксперимента, точностью и специфичностью метода. Однако, наиболее рациональным представляется проведение пересчета содержания суммы ОК в сырье в данном случае на щавелевую кислоту, так как в данном случае мы получаем наиболее сходные значения. Например, содержание суммы ОК в траве горца почечуйного, полученное методом капиллярного электрофореза, составляет 3.59%, водной формы горца земноводного 3.64%, а горца щавелелистного 4.45%, при использовании титриметрического метода и пересчета содержания суммы ОК растений на щавелевую кислоту мы получаем соизмеримые данные 3.76%, 3.18%, 3.67% соответственно. Анализируя полученные данные, следует отметить, что способ пересчета содержания суммы ОК на яблочную кислоту дает завышенные результаты (почти в два раза для некоторых видов), учитывая ее количественные характеристики для изучаемых растений.

Несмотря на то, что в изучаемых растениях было установлено высокое содержание щавелевой кислоты, корреляционной связи между ее количеством в растениях и размером и частотой встречаемости друз оксалата кальция, обнаруженных во всех частях растений при проведении микроскопического анализа, выявлено не было. Например, наименьший диаметр и средняя частота встречаемости друз характерна для горца перечного (рис.3), в то время, как абсолютное содержание щавелевой кислоты в растении наибольшее, среди остальных, что указывает на преимущественное содержание щавелевой кислоты в свободном виде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено изучение состава и количественного содержания каждого компонента суммы органических кислот травы представителей рода горец методом капиллярного электрофореза. Вы-

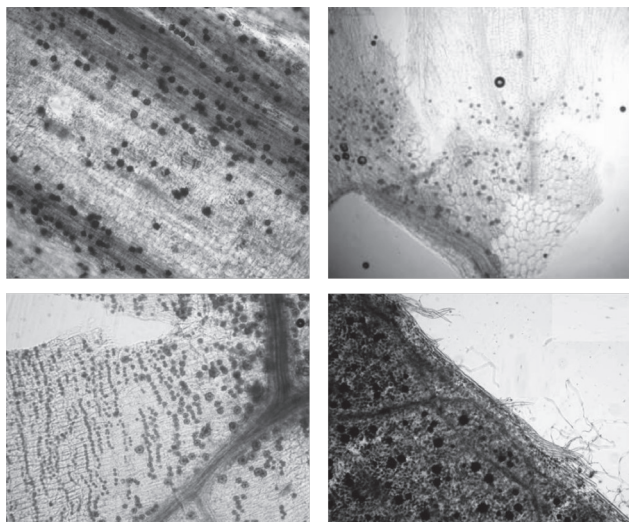


Рис. 3. Друзы оксалата кальция на микропрепаратах раструба горца земноводного водной формы, цветка горца щавелелистного, раструба горца почечуйного, листа горца войлочного

явлено, что в преобладающем количестве растения содержат щавелевую кислоту, яблочная кислота является минорным соединением. Рекомендовано для данного ряда растений, при оценке содержания суммы органических кислот методом алкалометрического титрования проводить пересчет их содержания на щавелевую кислоту во избежание получения завышенных результатов. В результате проведения микроскопического анализа и сравнительной оценки зависимости «содержание щавелевой кислоты – количество и размер друз оксалата кальция» корреляционной связи не было выявлено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Высочина Г.И. Turczaninowia. 2008. Т. 11. С. 129-137.
2. Перова И. Б., Эллер К. И., Мальцева А. А., Чистякова А. С., Сливкин А. И., Сорокина А. А. Фармация. 2017. Т. 66. № 5. С. 27-30.
3. Турова А. Д., Сапожникова Э. Н. Лекарственные растения СССР и их применение. – 4-е изд., стереотип. Москва, Медицина, 1984, 304 с.
4. Чистякова А. С., Сорокина А. А., Мальцева А. А., Ткачева А. С., Игнатова А. О. Сеченовский вестник. 2014. № 1 (15). С. 112-113.
5. R. Rødbotten, T. Gundersen, C. Vermeer, B. Kirkhus. Meat Science. 2014. Vol. 97. № 1, pp. 49-53.
6. Лукша Е.А. Растительные ресурсы. 2015. Т.51. №4. С. 611-619.
7. Лукша Е.А., Погодин И.С., Иванова Е.В. Бутлеровские сообщения. 2015. Т.41. №3. С.103 – 108.
8. Steinmetz E. F. Materia medica vegetabilis. Amsterdam : Holland, 1954. Part II. 229 p. URL: https://www.herbalstudies.net/_media/resources/library/MMV-II.pdf
9. Huda-Faujan N., Noriham A., Norrakiah, A.S. Babji, A.S. Asean Food Journal. – 2007. Vol. 14, pp. 61-68.
10. Pdikó Lajter , István Zupkó, Judit Molnár, Gusztáv Jakab, Лайос Балог, Andrea Vasas, Judit Hohmann. Phytotherapy Research. 2013. Vol. 27. № 1, pp. 77-85.
11. Osmolovskaya N., Dung VU V., Kuchaeva L. Biological communications. 2018. Vol. 63. No 1, pp. 9-16. DOI: 10.21638/spbu03.2018.103
12. Федотова В.В., Охремчук А.В., Челомбитко В.А. Научные ведомости Серия: Медицина. Фармация. 2012. №16 (135). С. 135 – 175.
13. Тринеева О.В., Сливкин А.И., Воропаева С.С. Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. 2013. № 2. С. 215-219.
14. Варданян Р.Л., Варданян Л.Р., Айрапетян С.А., Арутюнян Л.Р., Арутюнян Р.С. Химия растительного сырья. 2015. №1. С. 113–119. DOI: 10.14258/jcprm.201501295.
15. Боков Д.О., Малинкин А.Д., Самылина И.А., Бессонов В.В. Сборник материалов школы молодых ученых «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний» Москва, 23-25 ноября 2016, С. 29-34.
16. Стариченко А.В., Сердюченко И.В. Новая наука, Современное состояние и пути развития. 2017. № 1-2. С. 7-10.
17. Магомедова З. М. Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки. 2020. Т. 14. № 3. С. 26-30. DOI: 10.31161/1995-0675-2020-14-3-26-30.
18. Каптерев А. С. Биосинтез биологически активных веществ у растений. М.: Биосит, 2003. 137 с.
19. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза Капель. Санкт-Петербург, Веда, 2006, 213 с.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации : в 4 т. – 14-е изд. – Москва, 2018. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

Воронежский государственный университет
Гудкова А. А., доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета
E-mail: al.f84@mail.ru

Voronezh State University
Gudkova A. A., PhD., DSci., associate professor of department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology
E-mail: al.f84@mail.ru

Чистякова А. С., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета
E-mail: anna081189@yandex.ru

Chistjakova A. S., PhD., assistant professor of department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology
E-mail: anna081189@yandex.ru

Болгов А. С., студент 4 курса фармацевтического факультета
e-mail: abolgov753@gmail.com

Bolgov A. S., 4th year student of the Faculty of Pharmacy
E-mail: abolgov753@gmail.com

QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE TOTAL CARBOXY ACID IN PLANT OBJECTS (ON THE EXAMPLE OF SPECIES OF THE GENUS *PERSICARIA* MILL.)

A. A. Gudkova, A. S. Chistyakova, A. S. Bolgov

Voronezh State University

Abstract. Currently, an important direction in pharmacy is a comprehensive study of the chemical composition of medicinal plants, which will allow not only to use the combined action of groups of biologically active substances for medicinal purposes, but also to avoid the risk of possible side effects. The aim of the study was to estimate the quantitative content of the sum of carboxylic acids in plant objects using the example of the genus *Persicaria* Mill. The objects of the study are the species of the genus *Persicaria* Mill: the *Persicaria maculosa* S.F. Gray, the *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre, the *Persicaria tomentosa* (Schrank) E.P. Bicknell, the *Persicaria hydropiper* (L.) Delarbre, the *Persicaria minor* (Huds.) Opiz., the *Persicaria amphibia* var. *terrestris* (Leyss.) Munshi & Javeid and the *Persicaria amphibia* (L.) Delarbre. The qualitative composition and quantitative content of some organic acids in the studied species were carried out using capillary electrophoresis. The total content of organic acids was estimated according to the method of pharmacopoeial article 2.5.0093.18 of the State Pharmacopoeia XIV "Sorbus berries". The amount of organic acids was recalculated for malic and oxalic acids. Visualization of crystalline inclusions in the analyzed objects was carried out during microscopic examination. The content of malic and oxalic acids in the studied species was determined by capillary electrophoresis. It has been established that the largest amount of the total amount of organic acids is observed in the composition of the herb *Persicaria hydropiper* (13.4%). In the grass of the terrestrial form of the *Persicaria amphibia*, their content is 2.7% less, and in the grass of the *Persicaria minor* it is 2 times less than in the grass of the *Persicaria hydropiper*. As a result of using the pharmacopoeial method for assessing the content of the total organic acids by alkalimetric titration, recommendations are given on the use of recalculating this indicator for oxalic acid. The presence of a relationship between the content of oxalic acid in plants and the biometric characteristics of calcium oxalate druse found in all parts of plants using microscopic analysis was studied. The data obtained can be used in drafting regulatory documents for the studied plant species.

Keywords: carboxylic acids, organic acids, oxalic acid, malic acid, genus *Persicaria* Mill.

REFERENCES

1. Vysochina G.I. Turczaninowia, 2008, Vol. 11, pp. 129-137.
2. Perova I. B., Jeller K. I., Mal'ceva A. A., Chistjakova A. S., Slivkin A. I., Sorokina A. A. Farmacija, 2017, Vol. 66, No 5, pp. 27-30.

3. Turova A. D., Sapozhnikova Je. N. *Lekarstvennye rastenija SSSR i ih primenenie*. – 4-e izd., stereotip. Moskva, Medicina, 1984, 304 p.
4. Chistjakova A. S., Sorokina A. A., Mal'ceva A. A., Tkacheva A. S., Ignatova A. O. *Sechenovskij vestnik*, 2014, No 1 (15), pp. 112-113.
5. R. Rødbotten, T. Gundersen, C. Vermeer, B. Kirkhus. *Meat Science*, 2014, Vol. 97, No 1, pp. 49-53.
6. Luksha E.A. *Rastitel'nye resursy*, 2015, Vol.51, No 4, pp. 611-619.
7. Luksha E.A., Pogodin I.S., Ivanova E.V. *Butlerovskie soobshhenija*, 2015, Vol.41, No 3, pp.103 – 108.
8. Steinmetz E. F. *Materia medica vegetabilis*. Amsterdam : Holland, 1954. Part II. 229 p. URL: https://www.herbalstudies.net/_media/resources/library/MMV-II.pdf
9. Huda-Faujan N., Noriham A., Norrakiah, A.S. Babji, A.S. *Asean Food Journal*, 2007, Vol. 14, pp. 61-68.
10. Ildikó Lajter , István Zupkó, Judit Molnár, Gusztáv Jakab, Lajos Balog, Andrea Vasas, Judit Hohmann. *Phytotherapy Research*, 2013, Vol. 27, No 1, pp. 77-85.
11. Osmolovskaya N., Dung VU V., Kuchaeva L. *Viological communication.*, 2018, Vol. 63, No 1, pp. 9-16. DOI: 10.21638/spbu03.2018.103
12. Fedotova V.V., Ohremchuk A.V., Chelombit'ko V.A. *Nauchnye vedomosti Serija: Medicina. Farmacija*, 2012, No 16(135), pp. 135–175.
13. Trineeva O.V., Slivkin A.I., Voropaeva S.S. *Vestnik VGU, Serija: Himija. Biologija. Farmacija*, 2013, No 2, pp. 215-219.
14. Vardanjian R.L., Vardanjian L.R., Ajrapetjan S.A., Arutjunjan L.R., Arutjunjan R.S. *Himija rastitel'nogo syr'ja*. 2015, No 1, pp. 113–119. DOI: 10.14258/jcprm.201501295.
15. Bokov D.O., Malinkin A.D., Samylina I.A., Bessonov V.V. *Sbornik materialov shkoly molodyh uchenyh «Osnovy zdorovogo pitaniya i puti profilaktiki alimentarno-zavisimyh zabolevanij» Moskva, 23-25 Novembre 2016*, pp. 29-34.
16. Starichenko A.V., Serdjuchenko I.V. *Novaja nauka, Sovremennoe sostojanie i puti razvitija*, 2017, No 1-2, pp. 7-10.
17. Magomedova Z. M. *Izvestija Dagestanskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Estestvennye i tochnye nauki*, 2020, Vol. 14, No 3, pp. 26-30. DOI: 10.31161/1995-0675-2020-14-3-26-30.
18. Kapterev A. S. *Biosintez biologicheski aktivnyh veshhestv u rastenij*. M.: Bioshit, 2003, 137 p.
19. Komarova N.V., Kamencev Ja.S. *Prakticheskoe rukovodstvo po ispol'zovaniju sistem kapilljarnogo jelektroforeza Kapel'*. Sankt-Peterburg, Veda, 2006, 213 p.
20. *Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii : v 4 t. – 14-e izd. – Moskva, 2018. Rezhim dostupa: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>*