

ИЗУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ ТРАВЫ ТОНКОЛУЧНИКА ОДНОЛЕТНЕГО

Алена Р. Головач, Сергей В. Ковалев, Владимир Н. Ковалев*

Национальный фармацевтический университет

* kovalev.gnosy@gmail.com

Ключевые слова: тонколучник однолетний, трава, органические кислоты, газовая хроматография-масс-спектрометрия

Введение

Органические кислоты играют неотъемлемую роль в первичном метаболизме растений, где они участвуют в основных путях, таких как цикл трикарбоновых кислот, C_3 -, C_4 - и САМ-фотосинтез и глиоксилатный цикл. Они также играют решающую роль в регуляции развития и роста растений, а также в регуляции как первичных, так и специализированных метаболических путей. Органические кислоты участвуют в регуляции широкого круга основных клеточных процессов, в т.ч. модификация клеточного рН или окислительно-восстановительного состояния.

Проведен газохроматографический масс-спектрометрический анализ (ГХ-МС) травы *Erigeron annuus* на органические кислоты.

Органические кислоты (ОК) являются продуктом неполного окисления фотосинтетических ассимилятов. Они могут либо снова превращаться в углеводы, либо подвергаться терминальному окислению с образованием CO_2 и H_2O . Их углеродные скелеты также могут быть использованы для биосинтеза аминокислот. «Промежуточная» природа органических кислот определяет гибкость их роли как важных игроков в поддержании окислительно-восстановительного баланса, продукции и потреблении АТФ, поддержании протонных и ионных градиентов на мембранах и подкислении внеклеточных пространств. Органические кислоты (ОК) представляют собой промежуточные продукты основного метаболизма углерода в растительных клетках и, помимо прочего, участвуют в различных биохимических путях, таких как гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, фотодыхание, глиоксилатный цикл или цикл фотосинтеза C_4 . В последние годы убедительные доказательства указывают на то,

что органические кислоты также играют неожиданную роль в контроле физиологии всей растительной клетки [1-4]. Поэтому имеет смысл, что эти соединения также играют роль в контроле различных биохимических и физиологических процессов *in vivo*. Как подробно проанализировано в случае сахаров, роль органических кислот в качестве сигнальных мессенджеров проявляется [5], а также роль модуляторов транспорта через биологические мембраны [6]. Точно так же было показано, что метаболизм органических кислот в цитозоле участвует в реакциях на абиотический стресс, таких как акклиматизация к холоду [7]. Недавние данные даже указывают на то, что органические кислоты (ОК) участвуют в химической модификации белков, например, в ацетилировании или сукцинировании, оказывая сильное влияние на активность белков *in vivo* [8, 9]. Все эти новые роли органических кислот выдвинули их в центр внимания биохимии растительных клеток и физиологии целых растений. Тем не менее, различные роли этих соединений еще предстоит изучить, что делает эту тему интригующей в науках о растениях. Термин «органическая кислота» относится к широкому классу соединений, используемых в основных метаболических процессах организма. Химически органические кислоты имеют общие черты растворимости в воде, кислотности и нингидрин-негативности (отсутствие первичных или вторичных аминов). Обычно считается, что этот термин включает все карбоновые кислоты с кето, гидроксилом или другими неаминофункциональными группами или без них, но не включает большинство аминокислот. Включены некоторые азотсодержащие соединения, такие как пироглутамат, или аминоконъюгаты, такие как гиппурат

(бензоилглицин). Жирные кислоты с короткой цепью также входят в эту группу. Это либо простые монокарбоновые кислоты, такие как муравьиная, уксусная, пропионовая и масляная кислоты, либо карбоновые кислоты с гидроксильной группой, такие как молочная, яблочная, винная и лимонная кислоты, либо карбоновые кислоты с короткой цепью, содержащие двойные связи, такие как фумаровая и сорбиновая кислоты. В качестве группы химических веществ органическими кислотами считаются любые органические карбоновые кислоты общей структуры R-COOH (включая жирные кислоты и аминокислоты) [10]. Органические кислоты (ОК) образуются в метаболических циклах и путях и представляют собой временные или хранящиеся формы связанного углерода. Органические кислоты широко используются в химической, пищевой, косметической, фармацевтической промышленности и производстве напитков благодаря их различным функциональным свойствам [11]. Фумаровая кислота является компонентом цикла трикарбоновых кислот и подобно крахмалу и растворимым сахарам, может метаболизироваться с получением энергии и углеродных скелетов для производства других соединений [12].

Цель работы

Продолжая изучать тонколу́чник однолетний *Erigeron annuus* семейства астровых (*Asteraceae*) флоры Украины, родиной которого является Северная Америка, после че-

го данный вид широко распространился по всему континенту вплоть до Японии. Целью данной работы является изучение органических кислот травы тонколу́чника однолетнего.

Материалы и методы

Объектом исследования использовали траву тонколу́чника однолетнего (*E. annuus L.*) собранную в период цветения в Сумской области в 2020 году.

Анализ метиловых эфиров жирных и органических кислот проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ/МС). К массе сырья (50,0 мг), содержащейся во флаконе емкостью 2,0 мл, добавляли внутренний стандарт (раствор 50,0 мкг тридекана в гексане) и 1,0 мл метилирующего агента (14% BCl_3 в метаноле, Supelco 3-3033). Эту смесь выдерживали в герметически закрытом флаконе в течение 8 часов при 65°C . В это время жирное масло было полностью экстрагировано и гидролизировано в его составные части жирных и органических кислот, и было проведено их метилирование. Реакционную смесь сливали с осадка растительного сырья и разбавляли 1,0 мл дистиллированной воды. Метиловые эфиры экстрагировали 0,2 мл хлористого метилена, тщательно встряхивали несколько раз в течение часа, затем полученный экстракт хроматографировали [13]. Результаты исследований приведены в таблице.

Таблица. Органические кислоты травы *E. annuus L.*

Органическая кислота	Время удерживания, мин	Содержание мг/кг	Органическая кислота	Время удерживания, мин	Содержание мг/кг
Щавелевая кислота	9.303	597.19	Яблочная кислота	21.677	817.66
Малоновая кислота	11.57	788.12	Лимонная кислота	28.788	2155.23
Фумаровая кислота	12.218	285.19	Ванильная кислота	31.99	717.41
Янтарная кислота	13.706	2402.18	п-Гидроксibenзойная кислота	37.076	174.60
Бензойная кислота	14.842	1013.81	Сиреневая кислота	37.45	164.35
Фенилуксусная кислота	17.467	74.55	Гентизиновая кислота	37.93	92.06
Салициловая кислота	17.828	132.84	Феруловая кислота	39.965	233.56

Результаты и обсуждение

Литературные источники указывают на наличие в сырье *E. annuus* эфирных масел [14], фенольных соединений, жирных кис-

лот, инулина [15], аминокислот [16], микроэлементов [17]. Содержание органических кислот в траве *E. annuus* составляет 9648.75 мг/кг. Органические кислоты в траве *E. annuus* в своем составе имеют моно-, ди-,

трикарбоновые кислоты, которые отнесены к алифатическим и ароматическим в зависимости от углеводородного радикала, связанного с карбоксильной группой. В ходе ГХ-МС анализа было идентифицировано 5 органических кислот которые по своей химической природе отнесены к дикарбоновым: щавелевая (597,19 мг/кг), малоновая (788,12 мг/кг), фумаровая (285,19 мг/кг), янтарная (2402,18 мг/кг), яблочная (817,66 мг/кг) кислоты. Доминирующей оказалась янтарная кислота (2402,18 мг/кг) соответственно. Янтарная кислота участвует в процессах клеточного дыхания; обладает адаптогенной активностью, повышает аппетит и физическую работоспособность, ускоряет процесс окисления этанола [18]. 1 органическая кислота отнесена к трикарбоновым: лимонная кислота (2155,23 мг/кг). В меди-

цине применяется в качестве средств, улучшающих энергетический обмен в цикле Кребса. Остальные органические кислоты отнесены к монокрбонным и имели ароматическую природу: бензойная (1013,81 мг/кг), фенилуксусная (74,55 мг/кг), салициловая (132,84 мг/кг), феруловая (233,56 мг/кг), ванилиновая (717,41 мг/кг), гентиизиновая (92,06 мг/кг), сиреневая (164,35 мг/кг), п-гидроксibenзойная кислота (174,60 мг/кг). Доминирующей среди монокрбонных кислот оказалась бензойная кислота (1013,81 мг/кг), минимальное содержание выявлено у фенилуксусной кислоты (74,55 мг/кг) соответственно (рисунок). Бензойная кислота применяется в медицинской практике в качестве антисептического и фунгицидного средства.

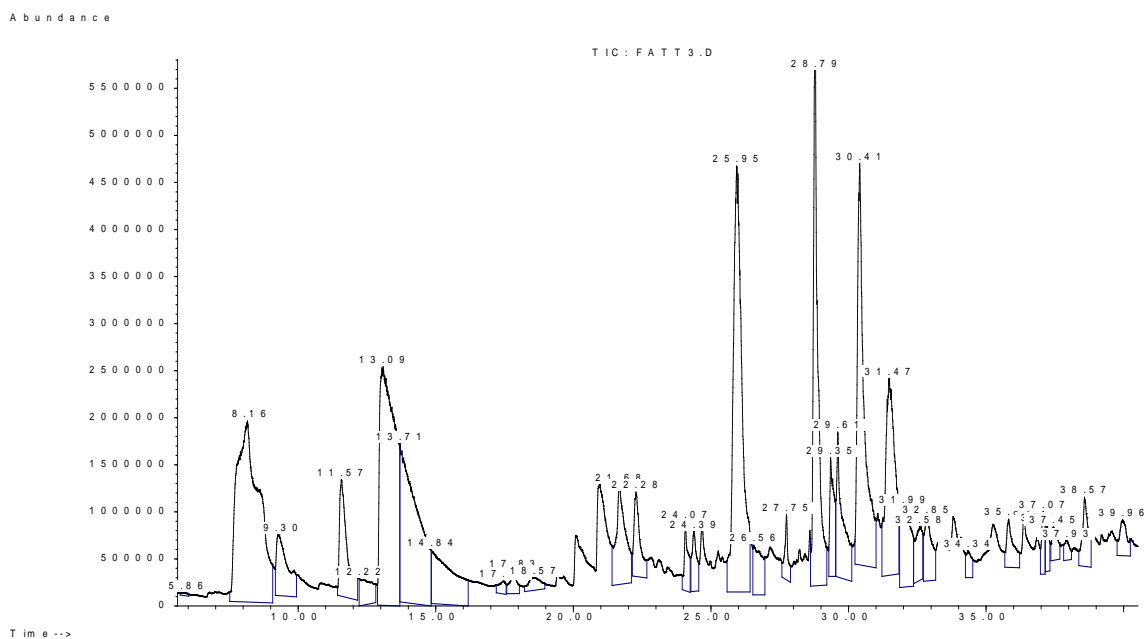


Рис. ГХ/МС органических кислот травы тонколучника однолетнего

Выводы

В 21 веке растения продолжают оставаться источником получения новых биологически активных веществ создавая предпосылки для комбинации создания новых перспективных лекарственных средств различной направленности действия. Впервые с помощью метода газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ/МС) исследован

и проанализирован экстракт из травы тонколучника однолетнего (*E. annuus*) флоры Украины на наличие органических кислот. В исследуемом сырье обнаружено 14 органических кислот, что создает предпосылки использования сырья в медицинской, фармацевтической, косметической, пищевой и сельскохозяйственной промышленности.

Литература

1. Centeno, D. C., Osorio, S., Nunes-Nesi, A., Bertolo, A. L., Carneiro, R. T., Araújo, W. L., et al. Malate plays a crucial role in starch metabolism, ripening, and soluble solid content of tomato fruit and affects postharvest softening. // *Plant Cell* 2011; 23, p. 162–184.
2. Medeiros, D. B., Martins, S. C., Cavalcanti, J. H., Daloso, D. M., Martinoia, E., Nunes-Nesi, A., et al. Enhanced photosynthesis and growth in atqac1 knockout mutants are due to altered organic acid accumulation and an increase in both stomatal and mesophyll conductance. // *Plant Physiol.* 2016; 170, p. 86–101.
3. Penfield, S., Clements, S., Bailey, K. J., Gilday, A. D., Leegood, R. C., Gray, J. E., et al. Expression and manipulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 identifies a role for malate metabolism in stomatal closure. // *Plant J.* 2012; 69, p. 679–688.
4. Zell, M. B., Fahnenstich, H., Maier, A., Saigo, M., Voznesenskaya, E. V., Edwards, G. E., et al. Analysis of *Arabidopsis* with highly reduced levels of malate and fumarate sheds light on the role of these organic acids as storage carbon molecules. // *Plant Physiol.* 2010; 152, p. 1251–1262.
5. Finkemeier, I., König, A. C., Heard, W., Nunes-Nesi, A., Pham, P. A., Leister, D., et al. Transcriptomic analysis of the role of carboxylic acids in metabolite signaling in *Arabidopsis* leaves. // *Plant Physiol.* 2013; 162, p. 239–253.
6. De Angeli, A., Zhang, J., Meyer, S., and Martinoia, E. AtALMT9 is a malate-activated vacuolar chloride channel required for stomatal opening in *Arabidopsis*. // *Nat. Commun.* 2013; 4, p.1804.
7. Dyson, B. C., Miller, M. A., Feil, R., Rattray, N., Bowsher, C., Goodacre, R., et al. FUM2, a cytosolic fumarase, is essential for acclimation to low temperature in *Arabidopsis thaliana*. // *Plant Physiol.* 2016, 172, p. 118–127.
8. Zhang, Z., Tan, M., Xie, Z., Dai, L., Chen, Y., and Zhao, Y. Identification of lysine succinylation as a new post-translational modification. // *Nat. Chem. Biol.* 2011, 7, p. 58–63.
9. Weinert, B. T., Schölz, C., Wagner, S. A., Iesmantavicius, V., Su, D., Daniel, J. A., et al. Lysine succinylation is a frequently occurring modification in prokaryotes and eukaryotes and extensively overlaps with acetylation. // *Cell Rep.* 2013, 29, p. 842–851.
10. Hajati H. Application of organic acids in poultry nutrition. // *Int J Avian & Wildlife Biol.* 2018; 3(4): p. 324-329.
11. Quitmann H, Fan R, Czermak P. Acidic organic compounds in beverage, food, and feed production. // *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2014; 143: p. 91–141.
12. Chia, D. W., Yoder, T. J., Reiter, W. D., and Gibson, S. I. Fumaric acid: an overlooked form of fixed carbon in *Arabidopsis* and other plant species. // *Planta* 2000; 211, p. 743–751.
13. O. Mykhailenko, Z. Gudžinskas, S. Romanova, T. Orlova et al. The Comparative Analysis of Carboxylic Acid Composition of Four Iris Species from Ukraine. // *Chem. Biodiversity* 2021; 18. p. 1-9.
14. Kovalev S.V., Golovach A.R., Kovalev V.N. Carboxylic acids and terpenoids *Erigeron annuus*. // *Azerbaijan Pharm. Pharmacother. J.* 2020, №2. p. 7-11.
15. S. Kovalev, A. Golovach, V. Kovalev, E. Poleszak, E. Akhmedov, O. Bobrytska. Study and determination of fructan type polysaccharide content in *Erigeron annuus* L. // *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences.* 2022. Vol.35, №1, p. 8-12.
16. S.V. Kovalev, A.R. Golovach, V.M. Kovalev. An identification and study of amino acids of *Erigeron annuus* herb. // *Methods Objects Chem. Anal.*, 2021, 16(2), p. 88-92.
17. Головач А.Р., Ковалев С.В., Ковалев В.Н. Трава тонколучника однолетнего новый источник биоэлементов. // *Наука и инновация.* №3, 2019. с. 96-98.
18. Нутриціологія. Попова Н.В., Ковальов, С.В., Казаков, Г.П., Алфьорова Д.О., Степанова С.І., Грудько І.В. – Х.: Вид-во НФаУ, 2016. с. 140.

BİRİLLİK XIRDALƏÇƏK OTUNUN ÜZVİ TURŞULARININ TƏDQIQI VƏ ANALIZI

Alena R. Qolovaç, Sergey V. Kovalev, Vladimir N. Kovalev

Milli Əczaçılıq Universiteti, Xarkov, Ukrayna

Açar sözlər: *birillik xırdaləçək, ot, üzvi turşular, qaz xromatoqrafiyası-kütlə spektrofotometri*

21-ci əsrdə bitkilər yeni bioloji aktiv maddələrin alınma mənbəyi olaraq qalmaqda davam edir, müxtəlif təsir spektrlərinə malik yeni perspektivli dərmanların yaradılması üçün əsas rol oynayır. Bu tədqiqatın məqsədi birillik xırdaləçək (*Erigeron annuus*) otunun üzvi turşularını öyrənməkdir.

İlk dəfə olaraq qaz xromatoqrafiyası kütlə spektrometriya (GC/MS) üsulu ilə Ukrayna florasından olan birillik xırdaləçək (*E.annuus*) otunun ekstraktı tədqiq edilmiş və üzvi turşuların olub-olmaması təhlil edilmişdir.

Tədqiq olunan xammalda 14 üzvi turşu aşkar edilib ki, bu da xammaldan tibb, əczaçılıq, kosmetik, qida və kənd təsərrüfatı sənayesində istifadə üçün zəmin yaradır.

ИЗУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ ТРАВЫ *ТОНКОЛУЧНИКА* *ОДНОЛЕТНЕГО*

Алена Р. Головач, Сергей В. Ковалев, Владимир Н. Ковалев

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Ключевые слова: тонколучник однолетний, трава, органические кислоты, газовая хроматография-масс-спектрометрия

В 21 веке растения продолжают оставаться источником получения новых биологически активных веществ создавая предпосылки для комбинации создания новых перспективных лекарственных средств различной направленности действия. Целью данной работы является изучение органических кислот травы тонколучника однолетнего (*Erigeron annuus*).

Впервые с помощью метода газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ/МС) исследован и проанализирован экстракт из травы тонколучника однолетнего (*Erigeron annuus*) флоры Украины на наличие органических кислот. В исследуемом сырье обнаружено 14 органических кислот, что создает предпосылки использования сырья в медицинской, фармацевтической, косметической, пищевой и сельскохозяйственной промышленности.

STUDY AND ANALYSIS OF ORGANIC ACIDS OF ANNUAL *FLEABANE*

Alena R. Golovach, Sergey V. Kovalev, Vladimir N. Kovalev

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

Key words: annual fleabane, herb, organic acids, gas chromatography-mass spectrometry

In the 21st century, plants continue to remain a source of obtaining new biologically active substances, creating prerequisites for the combination of creating new promising drugs of various directions of action. The aim of this work is to study the organic acids of the herb of the Annual fleabane (*Erigeron annuus*).

For the first time, using the method of gas chromatography with mass spectrometry (GC/MS), an extract from the herb of the *Erigeron annuus* flora of Ukraine was investigated and analyzed for the presence of organic acids. 14 organic acids were found in the studied raw materials, which creates the prerequisites for the use of raw materials in the medical, pharmaceutical, cosmetic, food and agricultural industries.

Redaksiyaya daxil olub: 11.10.2022

Rəyə verilib: 28.11.2022

Çapa imzalanıb: 12.01.2023