

## МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ И ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ КИСЛИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*OXALIS ACETOSELLA* L.) СЕМЕЙСТВА КИСЛИЧНЫЕ (*OXALIDACEAE*)

Хартюнова Е.И.<sup>1</sup>, Серебряная Ф.К.<sup>1</sup>, Селина И.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава РФ, г. Пятигорск, Россия (357532, Пятигорск, пр.Калинина, 11), e-mail: [fatimasereb@yandex.ru](mailto:fatimasereb@yandex.ru)

Проведены морфолого-анатомические исследования надземных органов *Oxalis acetosella* L., произрастающей естественно на Северном Кавказе, установлены диагностические признаки лекарственного сырья. К основным диагностическим признакам листовой пластинки кислицы обыкновенной можно отнести наличие одноклеточных волосков, покрытых бородавчатой кутикулой; гипостоматический тип листа, аномоцитный тип устьичного аппарата; проводящая система листовой пластинки представлена одним проводящим пучком коллатерального типа. К основным диагностическим признакам черешка листа кислицы обыкновенной можно отнести: округлая форма на поперечном сечении; по всему периметру черешка расположены клетки с кристаллами оксалата кальция; пучковое строение проводящей системы. Впервые проведен фитохимический анализ основных групп биологически активных веществ кислицы обыкновенной. Определено наличие в траве флавоноидов (кверцетин), органических кислот, витаминов (аскорбиновая кислота). Проведено количественное определение флавоноидов, органических кислот и кислоты аскорбиновой.

Ключевые слова: морфолого-анатомические исследования, *Oxalis acetosella*, диагностические признаки, фитохимический анализ, аскорбиновая кислота, кверцетин

## MORPHO-ANATOMICAL AND PHYTOCHEMICAL STUDY OF THE AERIAL ORGANS OF THE *OXALIS ACETOSELLA* L. FAMILY (*OXALIDACEAE*)

Khartyunova E.I.<sup>1</sup>, Serebryanaya F.K.<sup>1</sup>, Selina I.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pyatigorsk medical pharmaceutical institute - a branch of Volgograd medical institute, Pyatigorsk, Russia (357532, Pyatigorsk, Kalinina str., 11), e-mail: [fatimasereb@yandex.ru](mailto:fatimasereb@yandex.ru)

Conducted morphological and anatomical studies of above-ground organs *Oxalis acetosella* L., which grows naturally in the Northern Caucasus, established diagnostic signs of medicinal raw material. The main diagnostic criteria leaf blade wood sorrel common are the presence of unicellular hairs, covered with warty cuticle; gipostaticeski type of sheet, anomosity type stomatal apparatus; a conductive system of the lamina is represented by one conductive beam collateral type. The main diagnostic features of the petiole wood sorrel common include: round shape in cross-section; around the perimeter of the petiole are cells with crystals of calcium oxalate; beam structure of the conduction system. First held phytochemical analysis of the main groups of biologically active substances wood sorrel common. Defined in the grass flavonoids (quercetin), organic acids, vitamins (ascorbic acid). The quantitative determination of flavonoids, organic acids and ascorbic acid.

Keywords: morphological and anatomical studies, *Oxalis acetosella*, diagnostic features, phytochemical analysis, ascorbic acid, quercetin.

Данная работа является фрагментом исследования перспективных сырьевых видов флоры Северного Кавказа. Лекарственные растения и препараты из них обладают широким спектром фармакологического действия по сравнению с синтетическими средствами и при длительном применении не проявляют существенных побочных эффектов. Значительный интерес к лекарственным растениям связан с наличием в них биологически активных веществ. В настоящее время актуальным является поиск новых растений, ранее неиспользуемых в официальной медицине. Многие исследователи уделяют большое внимание изучению дикорастущих видов растений, имеющих обширный ареал

произрастания. В течение многих лет химики и фармакологи занимаются изучением природных флавоноидов и органических кислот и возможности их выделения и использования в качестве биологически активных веществ. На территории Кавказа кислица обыкновенная нашла свое применение в качестве детоксикационного средства при отравлениях мышьяком и ртутью [8,10,11].

Целью исследования является морфолого-анатомическое изучение и определение биологически активных веществ в траве кислицы обыкновенной (*Oxalis acetosella* L.). Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи: провести морфолого-анатомическое изучение травы; определить товароведческие показатели качества растительного сырья; провести качественное обнаружение и количественное определение основных групп биологически активных веществ. В Российской Федерации распространение кислица обыкновенная получила в сельгово-озерных районах северного Приладожья, в Сибирских горнотаежных лесах, на Алтае и на Северном Кавказе в темных еловых лесах на главном Кавказском хребте [6,11,12].

В химический состав кислицы обыкновенной входят витамины (аскорбиновая кислота), токоферолы, каротиноиды, хлорофилл, фенольные кислоты. Растение богато  $\beta$ -каротином, рутином [11]. В надземной части растения содержатся флавоноиды: 2''-глюкозиллизовитексин, кверцетин. Листья в большом количестве содержат органические кислоты: щавелевую, янтарную; в меньшей степени - фумаровую, яблочную, винную, щавелеуксусную,  $\alpha$ -кетоглутаровую, лимонную, щавелево-янтарную, изолимонную, цис-аконитовую, трикарбаллиловую кислоты. Было отмечено, что в химический состав травы кислицы обыкновенной также входит бензохиноновый эмбелин. Кислица обыкновенная нашла широкое применение в народной медицине и в быту. В быту кислицу обыкновенную применяют для удаления ржавчины и чернильных пятен на белье и бумаге, для восстановления яркости красок на тканях и для окраски шерсти. Издавна в России кислицу обыкновенную применяли при метроррагиях; в Болгарии – при меноррагиях и атеросклерозе [11].

В народной медицине кислицу используют как мочегонное, желчегонное, противогинготное, противовоспалительное, регулирующее пищеварение и облегчающее болезненные менструации средство, ослабляющее воспалительные процессы и хорошо заживляющее гнойные раны. Свежие измельченные листья прикладывают к гнойным ранам, язвам, опухолям и пораженным участкам кожи при золотухе. Разведенный сок или водный настой травы применяют как противовоспалительное средство и при диарее; для полосканий – при язвенном стоматите [9].

Надземная часть растения обладает антигельминтным действием, применяется при обмороках, изжоге, нефрите, заболеваниях печени, желудка, гипоацидном гастрите. Отвар из надземной части растения рекомендуют при диатезе и сердечно-сосудистых заболеваниях. Отвар на молоке - как диуретическое, жаропонижающее, гомеостатическое средство. В гомеопатии используют эссенцию из растения при диспепсии и заболеваниях печени. Следует отметить, что длительное употребление кислицы обыкновенной может вызвать раздражение почек и мочевыводящих путей. Существуют и противопоказания во время применения кислицы обыкновенной: тяжёлые заболевания печени, почек, оксалурия, мочекаменная болезнь, артрит.

Из литературных источников следует, что в химический состав входят органические кислоты, которые обуславливают фармакологическое действие травы кислицы. Известно, что янтарная, лимонная и щавелевая кислоты участвуют в цикле трикарбоновых кислот, протекающем в матриксе митохондрий клетки. В настоящее время существует большое количество препаратов, главным действующим веществом которых является янтарная кислота или ее производные. Таким образом, разработка лекарственных препаратов гепатопротекторов, основным действующим веществом которых является янтарная кислота и ее производные, это одно из приоритетных и социально значимых направлений в отечественной медицине и, очевидно, что область их применения обширна.

Объектом данного исследования является трава кислицы обыкновенной (*Oxalis acetosella* L.) семейства кисличные (*Oxalidaceae*). Материал для исследования был собран 02.05.2010. в широколиственном лесу выше сел. Хасаут – Греческое (Карачаево-Черкесия) в фазе цветения. Образцы гербария находятся на кафедре ботаники Пятигорского медико-фармацевтического института.

Кислица обыкновенная - травянистое многолетнее растение высотой 5-10 см с укороченными побегами и с ползучим тонким подземным корневищем, покрытым красноватыми мясистыми чешуевидными листочками. Побеги длинные бесцветные горизонтальные. Листья длинночерешковые (до 2,5 см), тройчатые, мягкие, шириной 3,0 см, сидячие, покрытые редкими прижатыми волосками. Листочки обратносердцевидные, цельнокрайние. Перед наступлением ночи или ненастной погоды листочки складываются и поникают, движение листьев под влиянием этих факторов происходит в результате изменения тургорного давления в клетках подушечек сочленений листьев. Цветки актиноморфные, одиночные, на удлинённых до 7-10 см пазушных цветоносах, с маленькими прицветниками, расположенными выше середины цветоноса. Чашечка 4,0-4,5 см, почти в 3 раза короче венчика, из пяти ланцетных, по краю реснитчатых, вверху пурпурных чашелистиков. Венчик из пяти белых лепестков с розовыми или фиолетовыми жилками, в

основании часто с желтым пятном, длиной до 1,5 см, шириной 0,7 см, с прямыми ноготками и обратнойцевидными пластинками. Редко лепестки светло-пурпурные или розовато-пурпурные. Десять тычинок, внутренние в 2 раза длиннее наружных. Завязь верхняя. Плод - пятигнёздная локулицидная светло-коричневая голая коробочка, длиной до 1 см, шириной 0,5 см.

Цельные или частично измельченные укороченные побеги длиной 5 - 10 см и ползучее тонкое корневище, покрытым красноватыми мясистыми чешуевидными листочками. Листья длинночерешковые, тройчатые, сидячие, покрытые редкими прижатыми волосками. Листочки обратносердцевидные, цельнокрайние. Цветки одиночные, на длинных цветоножках. Цвет листьев зеленый, цветков – белый с розово-фиолетовыми жилками и жёлтым пятном в основании. Запах слабый, своеобразный. Вкус кисловатый.

Измельченное сырье кислицы обыкновенной представляет собой кусочки листьев, стеблей, отдельных цветков, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм. Цвет черешков, листьев, плодов зеленый; цветков беловатый (иногда розовато-белый). Запах слабый, своеобразный. Вкус кисловатый (рис.1).

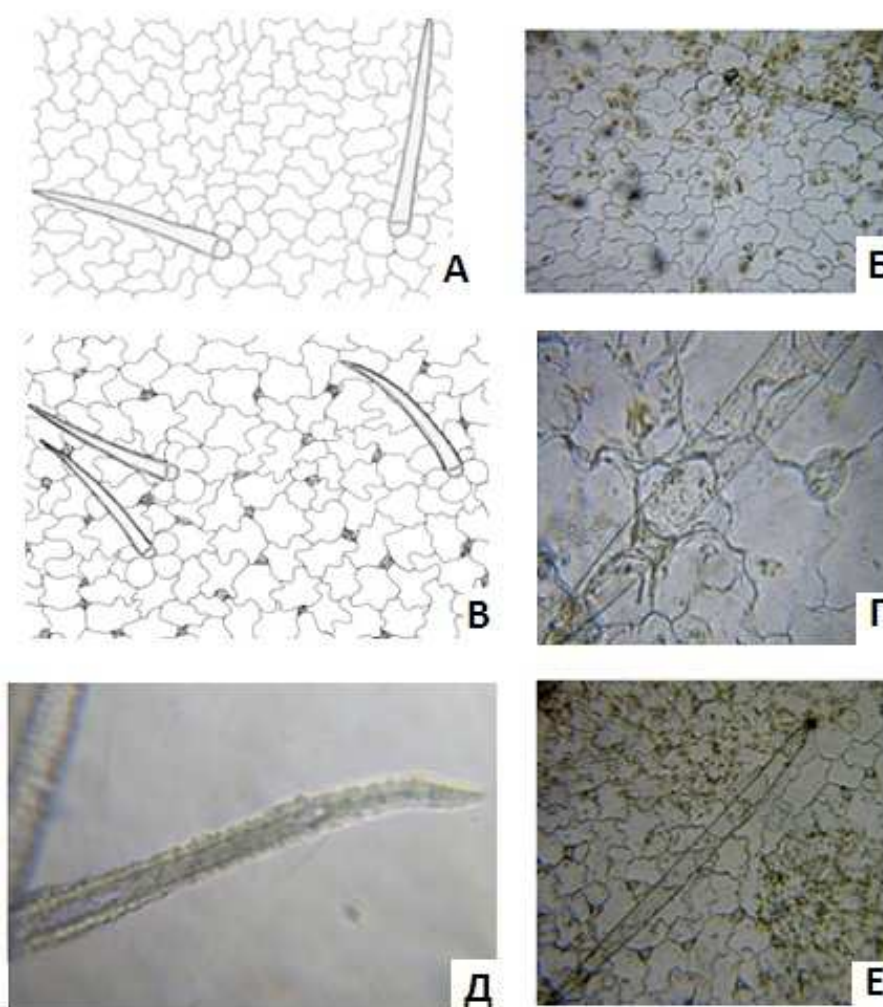


**Рис. 1. Внешний вид сырья кислицы обыкновенной  
(А – цельное, Б– измельченное)**

Растительный материал представляет собой свежесобранные и высушенные растения, фиксированные в системе этанол-глицерин-вода в соотношении 1:1:1. Микроструктура листовой пластинки и черешка изучалась на поперечных срезах, а также на микропрепаратах нижней и верхней эпидермы листовой пластинки. Поперечные срезы приготавливались лезвием безопасной бритвы от руки. В ходе эксперимента использовали временные микропрепараты, которые фиксировали в растворе глицерина. Анатомические исследования проводили при помощи микроскопа БИОЛАМ с увеличением объективов  $\times 4$ ;  $\times 10$ ;  $\times 40$ . Сегменты анатомических срезов фотографировали с помощью микроскопа «БИОЛАМ» и цифрового фотоаппарата Samsung NV4.

При микроскопическом исследовании листа выявлены следующие диагностические признаки: под слоем кутикулы находятся клетки верхней эпидермы. Клетки крупные, антиклинальные стенки эпидермальных клеток извилистые, в очертании многоугольные, устьиц нет. Кроме того, видны простые одноклеточные волоски. Волосок покрыт бородавчатой кутикулой. Основание волосков образуется из 4-5 клеток округлой формы.

Клетки нижней эпидермы имеют глубоко извилистые антиклинальные стенки, количество устьичных аппаратов значительное. Замыкающие клетки устьица бобовидной формы, окружены 3-5 побочными клетками. Устьичный аппарат аномоцитного типа. Количество трихом значительно больше по сравнению с верхней стороной листовой пластинки. Тип трихом - простые одноклеточные волоски. Волосок покрыт бородавчатой кутикулой (рис. 2).

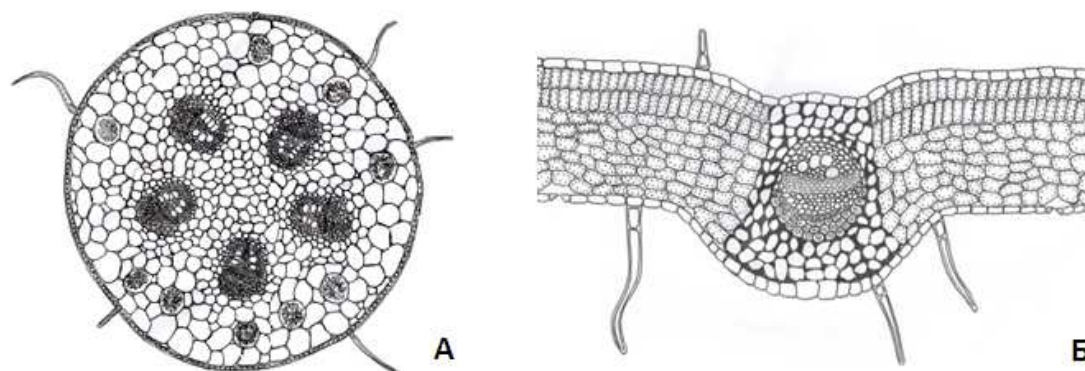


**Рис. 2. Верхняя эпидерма (А, Б), нижняя эпидерма (В, Г, Е) листовой пластинки *Oxalis acetosella* L., фрагмент волоска, покрытого бородавчатой кутикулой (Д)**

Микроморфологическое строение черешка листа изучалось на поперечном срезе. Форма черешка на поперечном сечении округлая. Покровная ткань представлена эпидермой. Черешок листа слабо опушен, опушение образовано простыми одноклеточными волосками с

бородавчатой поверхностью. Основная паренхима представлена хлорофиллоносной паренхимой, представлен живыми клетками округлой или овальной формы. В некоторых из паренхимных клеток накапливаются одиночные кристаллы и друзы оксалата кальция. Проводящая система черешка представлена открытыми коллатеральными пучками, расположенными по кругу. Флоэма проводящих пучков представлена мелкими ситовидными элементами и клетками-спутницами. Ксилема представлена сосудами и паренхимными элементами.

Листовая пластинка дорзовентрального типа. Эпидерма представлена одним слоем клеток, покрытых слоем кутикулы. Колленхима располагается сразу под эпидермой в области главной жилки. Под верхней эпидермой расположены клетки палисадного мезофилла в 2 слоя. Ниже располагается губчатая паренхима. В области центральной жилки расположен проводящий пучок открытого коллатерального типа. Флоэма хорошо заметна, представлена мелкими ситовидными элементами и клетками-спутницами, расположенными в несколько слоев. Ксилема представлена кольчатыми и пористыми сосудами (рис. 3).



**Рис. 3. Поперечный срез черешка (А) и листовой пластинки (Б)  
*Oxalis acetosella* L.**

Проведенные морфолого-анатомические исследования позволили выявить основные диагностические признаки сырья как в цельном, так и в измельченном виде. Следующим этапом исследований было установление числовых показателей и показателей доброкачественности сырья (влажность, общая зола, сульфатная зола, зола не растворимая в 10% хлористоводородной кислоте, экстрактивные вещества). Определение описанных показателей проводили по известным фармакопейным методикам [3,4,5,7]. Полученные результаты приведены в таблицах 1-4.

**Таблица 1**

**Содержание влажности в траве кислицы обыкновенной**

№ п/п	Влажность, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1	7,12	0,01	0,0001	$\bar{X} = 7,11$ $S_x = 0,01$ $\Delta x = 0,04$ $SD = 0,03$ $RSD = 0,42\%$
2	7,09	-0,02	0,0004	
3	7,13	0,02	0,0004	
4	7,16	0,05	0,0025	
5	7,07	-0,04	0,0016	
6	7,10	-0,01	0,0001	

**Таблица 2**

**Содержание общей зола в траве кислицы обыкновенной**

№ п/п	Общая зола, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1	15,19	0,06	0,0036	$\bar{X} = 15,13$ $S_x = 0,13$ $\Delta x = 0,43$ $SD = 0,31$ $RSD = 2,05\%$
2	15,42	0,29	0,0841	
3	14,57	-0,56	0,3136	
4	15,36	0,23	0,0529	
5	15,04	-0,09	0,0081	
6	15,20	0,07	0,0049	

**Таблица 3**

**Содержание сульфатной зола в траве кислицы обыкновенной**

№ п/п	Сульфатная зола, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1.	11,5	0,2	0,04	$\bar{X} = 11,3$ $S_x = 0,21$ $\Delta x = 0,45$ $SD = 0,34$ $RSD = 3,00\%$
2.	11,8	0,5	0,25	
3.	11,1	- 0,2	0,04	
4.	10,9	- 0,4	0,16	
5.	11,6	- 0,3	0,09	
6.	11,4	0,1	0,01	

**Таблица 4**

**Содержание зола нерастворимой в 10% хлористоводородной кислоте**

№ п/п	Зола нерастворимая в 10% хлористоводородной кислоте, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1.	5,7	0,4	0,16	$\bar{X} = 5,3$ $S_x = 0,16$ $\Delta x = 0,35$ $SD = 0,33$ $RSD = 6,6\%$
2.	5,1	-0,2	0,04	
3.	5,0	-0,3	0,09	
4.	5,4	0,1	0,01	
5.	4,8	-0,5	0,25	
6.	5,6	0,3	0,09	

Как следует из данных таблиц 1-4, содержание общей золы в траве кислицы обыкновенной составляет  $15,13 \pm 2,05\%$ , содержание золы нерастворимой в 10% хлористоводородной кислоте в траве кислицы обыкновенной составляет  $5,3 \pm 6,6\%$ , содержание влажности в траве кислицы обыкновенной составляет  $7,11 \pm 0,42\%$ . Из данных таблицы 3 видно, что содержание сульфатной золы в траве кислицы обыкновенной составляет  $11,3 \pm 3,00\%$ .

Далее нами проводилось определение содержания экстрактивных веществ. Точную навеску измельченного сырья, просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 200-250 мл, прибавляют 50 мл растворителя (вода, этиловый спирт различной концентрации), колбу закрывают пробкой, взвешивают (с погрешностью  $\pm 0,01$  г) и оставляют на 1 ч. Затем колбу соединяют с обратным холодильником, нагревают, поддерживая слабое кипение в течение 2 ч. После охлаждения колбу с содержимым вновь закрывают той же пробкой, взвешивают и потерю в массе заполняют растворителем. Содержимое колбы тщательно взбалтывают и фильтруют через сухой бумажный фильтр в сухую колбу вместимостью 150-200 мл. 25 мл фильтрата пипеткой переносят в предварительно высушенный при температуре  $100-105^\circ\text{C}$  до постоянной массы и точно взвешивают фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане досуха. Чашку с остатком сушат при температуре  $100-105^\circ\text{C}$  до постоянной массы, затем охлаждают в течение 30 мин в эксикаторе, на дне которого находится безводный хлорид кальция, и немедленно взвешивают.

Содержание экстрактивных веществ в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле 1:

$$X = \frac{m_1 \cdot 200 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}, \text{ где} \quad (1)$$

m – масса сухого остатка, г;



$m_1$  – масса сырья, г;

$W$  – потеря в массе при высушивании сырья, % [11,32].

**Таблица 5**

**Содержание экстрактивных веществ в траве кислицы обыкновенной**

№ п/п	Экстрагент	Найдено экстрактивных веществ, в %
1.	Вода	35,77
2.	Спирт этиловый 70%	24,37
3.	Спирт этиловый 40%	15,29

Результаты определения экстрактивных веществ различными экстрагентами в траве кислицы обыкновенной приведены в таблице 5, из которой следует, что экстрактивных веществ больше извлекается при в качестве экстрагента воду – 35,77%.

**Таблица 6**

**Числовые показатели сырья (травы) кислицы обыкновенной**

<i>Числовые показатели</i>	<i>Значения</i>
Влажность, %	7,11±0,42
Общей золы, %	15,13±2,05
Сульфатной золы, %	11,30±3,00
Золы не растворимой в 10% хлористоводородной кислоте, %	5,30±6,60
Экстрактивных веществ, %:	
- экстрагент – вода	35,77
- экстрагент – спирт этиловый 70%	24,37
- экстрагент – спирт этиловый 40%	15,29

*Качественное определение флавоноидов.* 5,0 сырья, измельченного до размеров частиц 2–3 мм, помещаем в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, заливаем 50 мл спирта этилового 70% и проводим экстрагирование в течение 1 часа. По истечении указанного времени колбу отсоединяем, охлаждаем и фильтруем через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл. С полученным извлечением проводим качественные реакции:

1) цианидиновая проба. К 2 мл извлечения добавляли 5–8 капель концентрированной кислоты хлористоводородной и 0,5 г металлического магния, подогревали смесь на кипящей водяной бане в течение 2–3- минут. Окраска раствора изменялась до светло–розовой.

2) к 5 мл извлечения прибавляли 0,5 мл уксусной кислоты и 1 мл 5% спиртового раствора алюминия хлорида. Появлялось желтое окрашивание.

*Количественное определение флавоноидов.* 5,0 сырья (точная навеска), измельченного до размеров частиц 1–2 мм помещаем в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, заливали 50

мл спирта этилового 70% и проводим экстрагирование в течение 1 часа. По истечении указанного времени колбу отсоединяем, охлаждаем и фильтруем через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл (раствор Б).

5 мл раствора Б помещаем в колбу вместимостью 25 мл, туда же добавляем 0,5 мл кислоты уксусной разведенной и 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида и доводим объём раствора до метки спиртом этиловым 70% и тщательно перемешиваем. Через 40 минут измеряли оптическую плотность полученного раствора с помощью спектрофотометра при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Раствором сравнения служит смесь, состоящая из 5 мл раствора Б, 0,5 мл раствора кислоты уксусной разведенной и доведенная до 25 мл спиртом этиловым 70%. Параллельно в тех же условиях измеряем оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца рутин (PCO) [35,41,60]. Спектр поглощения кверцетина и PCO рутин показан на рисунке 4.



**Рис. 4. Спектр поглощения кверцетина и раствора PCO рутин**

Содержание флавоноидов (X) в траве кислицы обыкновенной в пересчёте на рутин вычисляли по формуле 2:

$$X = \frac{D \cdot m_{cm} \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{D_{cm} \cdot m \cdot 100 \cdot (100 - B)}, \text{ где} \quad (2)$$

D – оптическая плотность анализируемого раствора; D<sub>ст</sub> – оптическая плотность раствора PCO рутин; m<sub>ст</sub> – навеска PCO рутин, г; m – навеска сырья, г. B – влажность, %.

Примечание. Приготовление раствора рабочего стандартного образца (PCO) рутин: около 0,05 г (точная навеска) PCO рутин, предварительно высушенного при температуре 130-135

°С в течение 3 ч, растворяют в 85 мл 95% спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем тем же спиртом до метки и перемешивают [12,32,43,61]. Результаты получения исследования приведены в таблице 7.

**Таблица 7**

**Содержание флавоноидов в траве кислицы обыкновенной**

№	Оптическая плотность, D	Содержание флавоноидов, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1.	0,575	1,30	0,01	0,0001	$\bar{X} = 1,29$ $\Delta X = 0,01$ $SD = 0,013$ $RSD = 1,01\%$
2.	0,567	1,30	0,01	0,0001	
3.	0,578	1,31	0,02	0,0004	
4.	0,570	1,29	0	0	
5.	0,569	1,28	-0,01	0,0001	
6.	0,577	1,30	0,01	0,0001	

Из данных таблицы 7 видно, что содержание флавоноидов в траве кислицы обыкновенной составляет  $1,29 \pm 1,01\%$ .

Определение свободных органических кислот. Из травы кислицы обыкновенной при нагревании на водяной бане в течение часа готовили водное извлечение 1:10, отфильтровывали. В пробирку помещали 5 капель полученного фильтрата и довели до 1 мл очищенной водой, добавляли 1 каплю индикатора метилового красного, наблюдали образование красного окрашивания, что говорит о наличии свободных органических кислот [3,4,7].

Количественное определение свободных органических кислот. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. 25,0 г сырья помещают в колбу вместимостью 250 мл, заливают 200 мл воды, выдерживают в течение 2 ч. на кипящей водяной бане, затем охлаждают. Количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем извлечения водой до метки и перемешивают. Отбирают 10 мл извлечения, помещают в колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 200-300 мл свежeproкипяченной воды, 1 мл 1% спиртового раствора фелолфталеина, 2 мл 0,1% раствора метиленового синего и титруют раствором натра едкого (0,1 моль/л) до появления в пене лилово-красной окраски.

Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляется по формуле 3:

$$X = \frac{V \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)}, \text{ где} \quad (3)$$

0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натра едкого (0,1 моль/л), г;

V – объем раствора натра едкого (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, мл;

m – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, % [12,32].

Результаты получения исследования приведены в таблице 8.

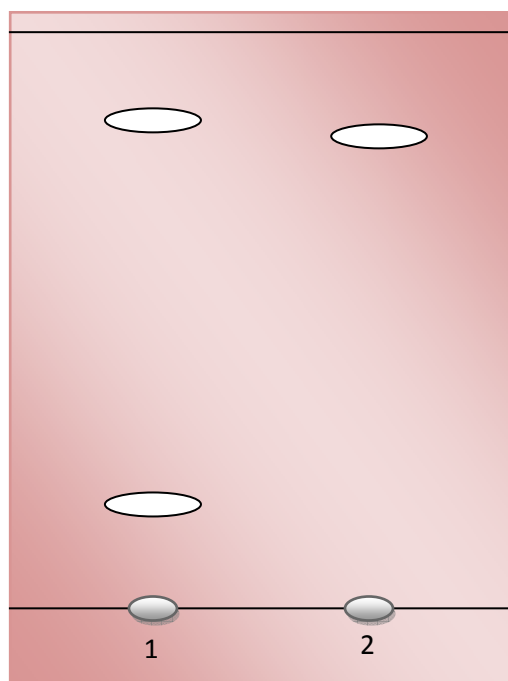
**Таблица 8**

**Содержание свободных органических кислот в траве кислицы обыкновенной**

№	Содержание свободных кислот, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1.	8,68	0,02	0,0004	$\bar{X} = 8,66$ $\Delta X = 0,085$ $SD = 0,06$ $RSD = 0,69\%$
2.	8,69	0,03	0,0009	
3.	8,61	-0,05	0,0025	
4.	8,67	0,01	0,0001	
5.	8,75	0,09	0,0081	
6.	8,58	-0,08	0,0064	

Из данных таблицы 8 видно, что содержание свободных органических кислот в траве кислицы обыкновенной составляет  $8,66 \pm 0,69\%$ .

Определение витаминов (аскорбиновой кислоты). 0,5 г травы кислицы обыкновенной измельчали, заливали 5 мл воды, перемешивали, оставляли на 15 минут, а затем фильтровали. Полученное извлечение наносили капилляром на пластинку «Сорбфил», а рядом свидетель – чистую аскорбиновую кислоту; пластинку помещали в хроматографическую камеру с системой растворителей этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20). Хроматографирование проводили около 20 минут. Затем хроматограмму обрабатывали 0,04% раствором 2,6–дихлорфенолиндофенолята натрия в воде. Аскорбиновая кислота обнаруживается в виде белого пятна на розовом фоне (рис. 5) [2,7].



**Рис. 5. Хроматограмма обнаружения аскорбиновой кислоты**

**1 – извлечение из травы; 2 – «свидетель» – чистая аскорбиновая кислота**

Количественное определение. Из грубоизмельченной аналитической пробы сырья берут навеску массой 20,0 г, помещают в фарфоровую ступку, где тщательно растирают со стеклянным порошком (около 5,0 г), постепенно добавляя 300 мл воды, и настаивают 10 мин. Затем смесь размешивают и извлечение фильтруют. В коническую колбу вместимостью 100 мл вносят 1 мл полученного фильтрата, 1 мл 2% раствора хлористоводородной кислоты, 13 мл воды, перемешивают и титруют из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л) до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30-60 с. Титрование продолжается не более 2 мин. В случае интенсивного окрашивания фильтрата или высокого содержания в нем аскорбиновой кислоты [расход раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л) более 2 мл], обнаруженного пробным разбавляют водой в 2 раза или более.

Содержание аскорбиновой кислоты в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле 4:

$$X = \frac{V \cdot 0,000088 \cdot 300 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 1 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

0,000088 – количества аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), г;

V – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, мл;

m – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, % [3,4].

Примечание. Приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л): 22 г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия растворяют в 500 мл свежeproкипяченной и охлажденной воды при энергичном взбалтывании (для растворения навески раствора оставляют на ночь). Раствор фильтруют в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки. Срок годности раствора не более 7 суток при условии хранения в холодном, темном месте.

Установка титра. Несколько кристаллов (3-5) аскорбиновой кислоты растворяют в 50 мл 2% раствора серной кислоты; 5 мл полученного раствора титруют из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до появления розового окрашивания, исчезающего в течение 1-2 нед.

Другие 5 мл этого же раствора аскорбиновой кислоты титруют раствором калия йодата (0,001 моль/л) в присутствии нескольких кристаллов (около 2 мг) калия йодата и 2-3 капель раствора крахмала до появления голубого окрашивания.

Поправочный коэффициент вычисляют по формуле 5:

$$K = \frac{V}{V_1}, \text{ где} \quad (5)$$

V – объем раствора калия йодата (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах;

V<sub>1</sub> – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, пошедшего на титрование, в миллилитрах.

Результаты получения исследования приведены в таблице 9.

**Таблица 9**

**Содержание витаминов (аскорбиновой кислоты) в траве кислицы обыкновенной**

№	Содержание аскорбиновой кислоты, в %	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологические характеристики
1.	0,130	0,03	0,0009	$\bar{X} = 0,10$ $\Delta X = 0,02$ $SD = 0,00025$ $RSD = 0,25\%$
2.	0,092	-0,008	0,000064	
3.	0,099	-0,001	0,000001	
4.	0,120	0,02	0,0004	
5.	0,098	0,002	0,000004	
6.	0,090	0,01	0,001	

Как следует из данных таблицы 9, содержание общей золы в траве кислицы обыкновенной составляет  $0,10 \pm 0,25\%$ .

Анализ литературных источников показал, кислица обыкновенная (*Oxalis acetosella* L.) распространена практически по всему земному шару. Кислица обыкновенная широко используется в промышленности и народной медицине. В настоящее время на отечественном рынке фармацевтических препаратов находят свое применение лекарственные препараты, действующим веществом, которых является янтарная кислота и/или ее производные.

Проведено морфолого-анатомическое исследование травы кислицы обыкновенной, в результате чего установлены основные анатомо-диагностические признаки сырья. К основным диагностическим признакам листовой пластинки кислицы обыкновенной можно отнести наличие одноклеточных волосков, покрытых бородавчатой кутикулой; гипостоматический тип листа, аномоцитный тип устьичного аппарата; проводящая система листовой пластинки представлена одним проводящим пучком коллатерального типа. К основным диагностическим признакам черешка листа кислицы обыкновенной можно отнести: округлая форма на поперечном сечении; по всему периметру черешка расположены клетки с кристаллами оксалата кальция; пучковое строение проводящей системы.

В результате фитохимического исследования травы кислицы обыкновенной установлено присутствие в ней (по данным качественных реакций) флавоноидов, витаминов и органических кислот. Установлены числовые показатели и показатели доброкачественности сырья (влажность, общая зола, сульфатная зола, зола не растворимая в 10% хлористоводородной кислоте, экстрактивные вещества). Определено качественное и количественное содержание в сырье флавоноидов в пересчете на рутин, аскорбиновой кислоты, свободных органических кислот.

### Список литературы

1. Бандюкова В.А. Применение цветных реакций для обнаружения флавоноидов путем хроматографии на бумаге// Раст. ресурсы. – 1965. - Вып. 4. - Т. 1. - С. 391.
2. Беликов В.В. Методы анализа флавоноидных соединений / В.В. Беликов, М.С. Шрандер// Фармация. – 1970. – Т. 21, №. 1. – С. 66-72.
3. Государственная фармакопея.- XI изд. – М.: Медицина, 1987. –вып.1. – 336 с.
4. Государственная фармакопея.- XI изд. – М.: Медицина,1990. - вып. 2. – 400 с.
5. Государственная фармакопея.- X изд. – М.: Медицина, 1968. – 1078 с.
6. Гроссгейм А.А. Определитель растений Кавказа. – М.: Гос. изд-во Советская наука, 1949. – 109 с.

7. Долгова А.А. Ладыгина Е.Я. Руководство по практическим занятиям по фармакогнозии. М.: Медицина, 1997. 255 с.
8. Коваленко А.Л. Янтарная кислота: фармакологическая активность и лекарственные формы/ А.Л. Коваленко, Н.В. Белякова// Фармация. - 2000. -№5.- С. 40-43.
9. Минаева В.Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. – Новосибирск: Наука, 1978. – 255 с.
10. Минеджян Г.З. Сборник по народной медицине и нетрадиционным способам лечения / Г.З. Минеджян – М.: «Багира-Самоцвет», 1997 – 508 с.
11. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химические свойства, использование. Семейства растений. – Путеводитель.- М., 1988. – 340 с.
12. Серебряная Ф.К. Эколого-ботанические исследования перспективных ресурсных видов флоры Северного Кавказа//Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч.тр.- Пятигорск, 2014.-Вып.69.- С.78-84.

**Рецензенты:**

Попова О.И., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;

Коновалов Д.А., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.