

Торф и продукты его переработки

УДК 631.41:631.417

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НИЗИННЫХ ДРЕВЕСНО-ТРАВЯНЫХ ВИДОВ ТОРФА РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ДЛЯ ОБОСНОВАНИЯ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ИСТОЧНИКОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

© Л.А. Логвинова¹, М.В. Зыкова^{1*}, С.В. Кривошеков¹, Л.А. Дрыгунова¹, И.А. Передерина¹, О.А. Голубина¹, И.В. Перминова², А.И. Константинов², М.В. Белоусов¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Московский тракт, 2, Томск, 634050 (Россия), e-mail: gmv2@ Rambler.ru

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 (Россия)

Проведено сравнительное фармакогностическое исследование двух низинных древесно-травяных видов торфа с различных болот Томской области и физико-химических параметров структуры гуминовых кислот (ГК), выделенных из них, для обоснования взаимозаменяемости торфяного сырья в пределах одного вида торфа и выбора перспективного источника ГК, обладающих биологической активностью, для разработки новых лекарственных кандидатов с неспецифической биологической активностью. В результате выполненного исследования установлено, что два низинных древесно-травяных вида торфа с разных торфяных месторождений Томской области («Клюквенное» и «Таган») имеют близкий ботанический состав и фармакогностические параметры. Выделенные в результате щелочной экстракции из исследуемых торфов ГК, по данным совокупности физико-химических методов (УФ- и ИК-спектроскопии, элементного CHNS-анализа, ¹³C-ЯМР спектроскопии, титриметрии), имеют общие черты строения, обусловленные наличием ароматической составляющей, которая замещена алифатическими радикалами, присутствием полисопряженной системы, одинаковой степенью ароматичности, преобладанием гидрофильных над гидрофобными структурами, полидисперсностью, выраженными восстановительными свойствами, что указывает на взаимозаменяемость торфяного сырья при условии соблюдения технологии выделения ГК из торфа. Отличительные особенности между образцами ГК, связанные, главным образом, с содержанием азота, фенольных и хиноидных фрагментов, степенью конденсированности ароматических структур, количеством метокси-групп лигниновой природы и углеводных фрагментов, позволили заключить, что ГК, экстрагированные из торфа с болота «Таган», являются более перспективными для целей разработки на их основе безопасных лекарственных средств растительного происхождения для профилактики и лечения широкого круга патологий.

Ключевые слова: торф, гуминовые кислоты, элементный анализ, спектроскопия, хроматография.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 20-65-47052).

Введение

Логвинова Людмила Анатольевна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры химии, e-mail: ludmila_logvinova@mail.ru

Зыкова Мария Владимировна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой химии, профессор кафедры фармацевтического анализа, e-mail: gmv2@ Rambler.ru

Кривошеков Сергей Владимирович – кандидат химических наук, доцент кафедры фармацевтического анализа, e-mail: ksv_tsu@mail.ru

Окончание на С. 278.

В условиях глобального сырьевого дефицита, коснувшегося и фармацевтической отрасли, возрос интерес к торфяному сырью ввиду его дешевой и практически неограниченной сырьевой базы. В процессе торфогенеза синтезируются специфические, не имеющие аналогов в живых организмах соединения – гуминовые вещества [1]. В составе гуминовых веществ наиболее реакционноспособной, а следовательно, и обладающей вы-

* Автор, с которым следует вести переписку.

сокой биологической активностью, является фракция гуминовых кислот (ГК). Известно, что ГК обладают тропностью практически ко всем анатомо-функциональным системам организма, поэтому применяются в таких областях медицины, как иммунология, аллергология, гематология, нефрология, урология, онкология, кардиология и т.д. [2, 3]. Высокая ценность торфов Томской области как лекарственного растительного сырья многократно описана в литературе [4–16]. Наибольшее количественное содержание ГК характерно для низинных высокоразложившихся видов торфа, ввиду чего они выступают весьма ценным сырьем для получения гуминовых препаратов, торфощелочных реагентов, сорбционных материалов, биостимуляторов и т.д. [17]. Гуминовые кислоты торфов Томской области оказывают положительное влияние на функциональную активность гепато- и кардиомиоцитов, эритроидные и антигенпрезентирующие клетки. Воздействие на клетки, различающиеся морфологически и функционально, а также дистантно расположенные, связано, прежде всего, с высокой антиоксидантной активностью ГК ввиду присутствия фенольных гидроксиллов, хиноидных фрагментов, полиеновых сопряженных связей [4–9], а также их влиянием на клеточный и гуморальный иммунитет [12–15]. Более того, помимо плейотропной активности ГК, следует отметить, что данные вещества характеризуются широким «терапевтическим окном» и при разных путях введения грызунам средние летальные дозы находятся в диапазоне концентраций для малоопасных веществ (согласно ГОСТ 12.1.007-76) [16].

С одной стороны, для Томской области – региона, занимающего второе место по запасам торфяного сырья в масштабах страны [17], низинный вид торфа относится к одному из репрезентативных (пластообразующих), а с другой стороны, существуют определенные риски, связанные с интенсивной заготовкой торфяного сырья на одном месторождении в течение длительного времени. Такого типа антропогенное воздействие на участках заготовки торфа приводит, главным образом, к понижению уровня грунтовых вод ввиду строительства системы открытых каналов и, соответственно, увеличивает вероятность возникновения длительных (от нескольких месяцев до нескольких лет) естественных пожаров, способствуя быстрому истощению данной территории и делая торфяное сырье экологически непригодным для заготовки в медицинских целях. При этом в литературе [4, 5, 8, 9, 12, 13, 15] есть достаточно много сведений о том, что химические и биологические свойства ГК могут значительно отличаться в зависимости от вида торфа, его происхождения, способа выделения ГК.

Поэтому цель работы – провести сравнительное фармакогностическое исследование двух низинных древесно-травяных видов торфа с различных болот Томской области и физико-химических параметров структуры ГК, выделенных из них, для обоснования взаимозаменяемости торфяного сырья в пределах одного вида торфа и выбора перспективного источника ГК, обладающих биологической активностью, для разработки новых лекарственных кандидатов с неспецифической (в т.ч. протекторной, иммуотропной) активностью.

Экспериментальная часть

Дрыгунова Лариса Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры фармацевтического анализа, e-mail: l_drygunova@mail.ru

Передерина Ирина Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры химии, e-mail: pereederina.irina@yandex.ru

Голубина Ольга Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры химии, e-mail: mtgolubin@yandex.ru

Перминова Ирина Васильевна – доктор химических наук, профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией природных гуминовых систем кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза, e-mail: iperminova@gmail.com

Константинов Андрей Иванович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лабораторией природных гуминовых систем кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза, e-mail: konstant@med.chem.msu.ru

Белоусов Михаил Валерьевич – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармацевтического анализа, e-mail: mvb63@mail.ru

В качестве объектов исследования выбраны два образца древесно-травяного вида торфа, отобранных с различных месторождений Томской области – болота «Клюквенное» (N 56°24'; E 84°41') и болота «Таган» (естественный участок, N 56°21'; E 84°48'). Согласно расчетным оценкам распространенности видов торфа Западной Сибири, встречаемость древесно-травяного вида торфа для района исследований (Кеть-Чулымской торфяно-болотной провинции) составляет 0.8%, для Кеть-Тымской торфяно-болотной провинции его распространенность достигает 8.3%, поэтому данный вид торфа является типичным и широко распространенным как для территории Томской области, так и Западной Сибири [17]. Заготовку сырья осуществляли в летний период, репрезентативная глубина заготовки торфа (на болоте «Клюквенное») – 10–

50 см и на болоте «Таган» – 50–100 см) выбрана на основании экспериментальных данных предварительного определения ботанического состава, степени разложения и зольности всей торфяной залежи. Отбор торфяного сырья проводили торфяным буром ТБГ-1 из середины однородного по ботаническому составу горизонта, где в каждой скважине отбирали только один раз, масса единичной пробы торфа была не менее 600 г, количество скважин – порядка 50, средняя масса одного образца торфа была около 30 кг. В лабораторных условиях отбирали среднюю пробу торфа методом квартования и подвергали воздушно-теневому способу сушки, после чего торф диспергировали в электромельнице, просеивали через сито с диаметром отверстий 3 мм. Гуминовые кислоты (ГК) из торфа выделяли по методике [18] с использованием 0.1 моль/л раствора натрия гидроксида в качестве экстрагента. Фармакогностические и общетехнические параметры торфа: степень разложения (R, %), общая зола (A, %) и зола, нерастворимая в 10%-ной хлороводородной кислоте (X, %), ботанический состав устанавливали стандартными методами [19, 20], количественное определение ГК – гравиметрически [20]. Запись электронных спектров поглощения в УФ- и видимой областях (190–800 нм) осуществляли на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ (Экротхим, Россия). Регистрацию ИК-спектров проводили на ИК-Фурье спектрометре ФСМ 2201 (Инфраспек, Россия) в диапазоне волновых чисел 500–4000 см⁻¹ в таблетках с KBr (соотношение 1 : 400). Элементный анализ выполнен на анализаторе CHNS Flash 2000 (ThermoFisher Scientific, Великобритания), содержание кислорода рассчитано по разности. Содержание кислотных функциональных групп устанавливали титриметрически: заместительным кальций-ацетатным способом – содержание карбоксильных групп, обратным баритовым – сумму фенольных и карбоксильных групп [4]. Молекулярно-массовое распределение (ММР) определяли методом эксклюзионной ВЭЖХ, хроматографическая система – Dionex Ultimate 3000 (Thermo, США): неподвижная фаза –Ultrahydrogel 250, 250 Å, 7.8 x 300 мм (Waters, США), подвижная фаза: 0.1 М трис-НСl буферный раствор с рН=8.86, скорость потока элюента 0.5 мл/мин. Хроматографические условия: объем пробы 10 мкл, температура термостата колонки – 30 °С, детектирование спектрофотометрическое при λ=220 нм. Расчет ММР проводили по калибровочной зависимости, построенной с использованием стандартных растворов – натриевой соли полистиролсульфата (1 мг/мл, GmbH, Германия), с молекулярными массами 1100, 1830, 4230, 10600, 29100, 75600, 148000, 261000 и 466000 Да. Хроматограммы обрабатывали с использованием программного обеспечения Chromeleon 6.8. Регистрацию ¹³С-ЯМР спектров и запись их интеграла осуществляли на ЯМР Фурье-спектрометре AVANCE 400 (400 мГц) фирмы Bruker (Германия) по методике [21]. В полученных спектрах производили следующие отнесения в соответствии с [21] (м.д): 5–48 – углерод алифатических фрагментов, не связанных с гетероатомами (СН_n, С-С); 48–108 – углерод О, N-замещенных алифатических фрагментов (R-O, С-O, N-Alkyl); 90–108 -углерод алифатических фрагментов, связанный простыми связями с двумя гетероатомами (О-С-О, О-С-N); 108-145 – углерод незамещенных и С-замещенных ароматических фрагментов (С_{Ar} (С=C), С=C-С); 145–165 – углерод О, N-замещенных ароматических фрагментов (С_{Ar}-O/N (С=C-O/N); 165–187 – углерод карбоксильных, сложноэфирных и амидных групп (О=C-(ОН/О/NH₂)); 187–220–углерод кетонных и хинонных групп (О=C-H₂-R₂). Интегральные значения распределение протонов по областям химического сдвига рассчитаны исходя из средних значений (n=5).

Обсуждение результатов

Результаты исследования ботанического состава и общетехнических свойств двух древесно-травяных видов торфа с различных торфяных месторождений («Клюквенное» и «Таган»), представленные в таблице 1, позволяют сделать вывод, что они являются близкими по происхождению. Торф болота «Таган» имеет более высокую степень разложения (на 16%), менее загрязнен минеральными компонентами (на 25%) (табл. 1), поэтому является более перспективным для целей выделения ГК. Полученные торфяные ГК – беззольные порошки темно-коричневого цвета (табл. 1). Содержание ГК в обоих торфах практически одинаковое (табл. 1).

Профили полос поглощения обоих образцов ГК по данным электронной спектроскопии имеют сплошное поглощение в интервале 200–800 нм, которое монотонно возрастает по мере уменьшения длины волны света, что свидетельствует об их схожей молекулярной структуре (рис. 1) [1, 22, 23].

Так как растворы ГК в исследуемом интервале длин волн подчиняются основному закону светопоглощения, для их сравнительной характеристики были вычислены коэффициент экстинкции при 465

и 650 нм, а также коэффициент цветности по Е. Вельте. Коэффициент экстинкции при A_{465} для ГК-2 на 6% выше, чем для ГК-1 (табл. 2), что свидетельствует о присутствии в структуре более разветвленной и протяженной системы полисопряжения, включающей различные функциональные группы, в т.ч. хиноидные [22, 24]. Поглощение гуминовыми кислотами световой энергии в данном диапазоне, вероятно, обусловлено $n \rightarrow \pi^*$ и $\pi \rightarrow \pi^*$ переходами в хиноидных структурах. Также ГК-2 имеют более высокое значение $Q_{4/6}$ -величин (табл. 2), что свидетельствует о более низкой степени конденсированности ароматических структур и менее сложном молекулярном строении.

ИК-спектры исследуемых образцов ГК имеют одинаковый профиль полос поглощения, положения их максимумов совпадают. Это подтверждает аналогию их молекулярной структуры (рис. 2, 3) [24–28].

Функциональный состав исследуемых ГК представлен ассоциированными ОН-группами фенолов и спиртов ($3500\text{--}3300\text{ см}^{-1}$); первичными и вторичными амидными и амино- группировками, участвующими в образовании водородных связей (3200 см^{-1}); $-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}_2-$ фрагментами (2918 см^{-1} и 2849 см^{-1} , $1480\text{--}1380\text{ см}^{-1}$, $770\text{--}720\text{ см}^{-1}$) [26, 27]. Полосы поглощения в диапазоне $770\text{--}720\text{ см}^{-1}$ обусловлены полизамещенными алифатическими цепями, пиранозными циклами, $=\text{C}-\text{H}$ группами алкенов [23, 24, 26, 28, 29]. Полосы в области $1700\text{--}1725\text{ см}^{-1}$ связаны с карбонильными фрагментами кетонов, альдегидов, карбоновых кислот и их функциональных производных (амидами, сложными эфирами, для последних появляется дополнительные максимумы в диапазоне $1260\text{--}1225\text{ см}^{-1}$) [24, 27, 29]; максимумы поглощения, наблюдаемые при $1610\text{--}1615\text{ см}^{-1}$, связаны с сопряженными $\text{C}=\text{C}$ связи (в т.ч. ароматическими), хиноидными группами [23, 24, 26–28]. Экстремумы в диапазоне $1513\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ и при 830 см^{-1} появляются вследствие валентных и деформационных колебаний полипептидных фрагментов. Поглощение в области $1175\text{--}1000\text{ см}^{-1}$ обусловлено валентными колебаниями гликозидных связей, лактонов, циклических и алифатических простых эфиров [24, 26–28].

Таблица 1. Результаты фармакогностического и гравиметрического исследования торфа

Место отбора торфа (глубина отбора, см)	R, %	A, %	X, %	Ботанический состав (частей растительных остатков, %)	ГК, %	АГК, %
Болото «Клюквенное» (10–50)	25–30	8.92±0.11	3.98±0.10	<i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh. (10); <i>C. cespitosa</i> L. (5); <i>C. omskiana</i> Meinsh. (15); <i>Menyanthes trifoliata</i> L. (25); <i>Equisetum fluviatile</i> L. (10); <i>Sphagnum centrale</i> С.Е.О. Jensen (5); древесина кустарников (30)	38.20±0.31	0
Болото «Таган» (50–100)	30–35	6.40±0.12	2.98±0.08	<i>Carex lasiocarpa</i> Ehrh. (50); <i>Menyanthes trifoliata</i> L. (15); <i>Equisetum</i> sp. (5); <i>Hypnaceae</i> (<i>Bryum</i> , <i>Meesia</i>) (+); <i>Polypodiophyta</i> (+); древесина кустарников (30)	38.77±0.32	0

Примечание: «+» – содержание растительных остатков не превышает 5%.

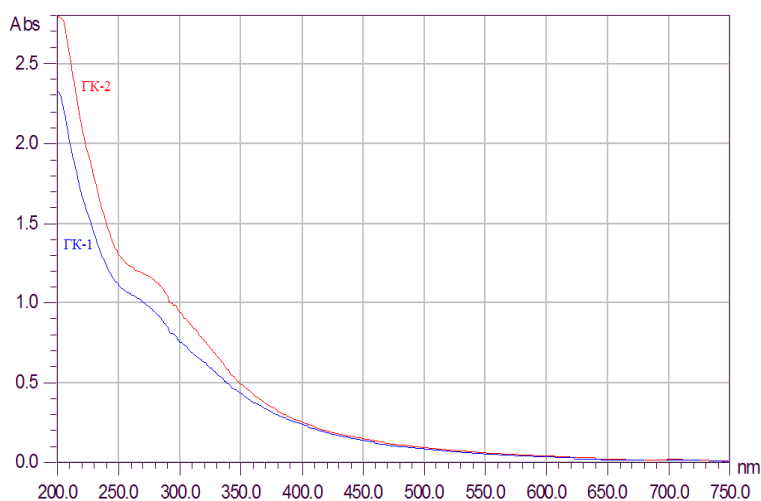


Рис. 1. Электронные спектры гуминовых кислот

Таблица 2. Оптические свойства гуминовых кислот

Шифр образца	$E^{0.001\% \text{ГК}}_{465 \text{ нм}, 1 \text{ см}}$	$E^{0.001\% \text{ГК}}_{650 \text{ нм}, 1 \text{ см}}$	$Q_{E465/E650}$
ГК-1	0.1202 ± 0.0021	0.0411 ± 0.0005	2.9246 ± 0.0420
ГК-2	0.1284 ± 0.0023	0.0398 ± 0.0005	3.2261 ± 0.0498

ГК-1 – гуминовые кислоты торфа болота «Клюквенное»; ГК-2 – гуминовые кислоты торфа болота «Таган».

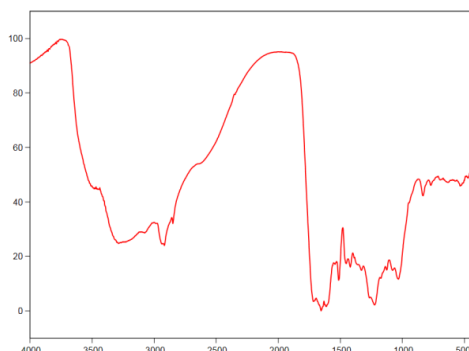


Рис. 2. ИК-спектр образца ГК-1, выделенного из торфа с болота «Клюквенное»

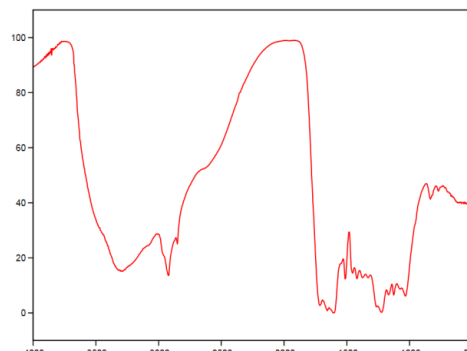


Рис. 3. ИК-спектр образца ГК-2, выделенного из торфа с болота «Таган»

Отношение оптических плотностей полос поглощения (ОППП) кислородсодержащих групп всех типов к ОППП ароматических фрагментов ($A_{C=C 1610}$) и алифатическим заместителям ($A_{Aliphatic 2920}$) позволяет установить относительное содержание функциональных групп. Чрезвычайно близкие значения ИК-спектральных коэффициентов (табл. 3) наряду с УФ-спектроскопией также подтверждают их общую химическую природу. Отличия незначительны и связаны в основном с тем, что для образца ГК-2 характерно немного более высокое содержание ароматических фрагментов ($A_{C=C 1610}/A_{Aliphatic 2920}$) и фенольных гидроксидов ($A_{OH 3400}/A_{C=C 1610}$), а также более низкое содержание карбонильных ($A_{C=O 1720}/A_{Aliphatic 2920}$), сложноэфирных ($A_{C-O 1225}/A_{Aliphatic 2920}$) и простых эфирных ($A_{C-O 1035}/A_{C=C 1610}$ и $A_{C-O 1035}/A_{Aliphatic 2920}$) групп, углеводных фрагментов ($A_{C-O 1035}/A_{C=O 1720}$) (табл. 3).

Определить долю основных конституционных элементов, формирующих молекулярную структуру ГК, возможно благодаря элементному анализу, результаты которого представлены в таблице 4. Близкие значения массовых ($\%_{mass}$) и атомных долей элементов в процентах ($\%_{atom}$) показывает высокую степень подобия ГК, выделенных из одного вида торфа, но с разных месторождений. Значения показателей атомных отношений элементов и средней степени окисления атома углерода по Ю.А. Жданову также представлены в таблице 4.

Таблица 3. Отношения оптических плотностей полос поглощения кислородсодержащих функциональных групп к ароматическим и алифатическим фрагментам

Шифр ГК	A_{3400}/A_{1610}	A_{1720}/A_{1610}	A_{1225}/A_{1610}	A_{1035}/A_{1610}	A_{1610}/A_{2920}	A_{3400}/A_{2920}	A_{1720}/A_{2920}	A_{1225}/A_{2920}	A_{1035}/A_{2920}	A_{1035}/A_{1720}
	ГК-1	0.70	0.96	0.98	0.96	1.40	0.98	1.30	1.35	1.20
ГК-2	0.75	0.98	1.00	0.90	1.60	0.97	1.21	1.25	1.07	0.85

Примечание: Валентные колебания кислородсодержащих функциональных групп ($\nu_{OH} 3400 \text{ см}^{-1}$, $\nu_{C=O} 1720 \text{ см}^{-1}$, $\nu_{C-O, C-O-C} 1225 \text{ см}^{-1}$, $\nu_{C-O} 1035 \text{ см}^{-1}$); Валентные колебания ароматических ($\nu_{C=C} 1610 \text{ см}^{-1}$) и алифатических ($\nu_{Aliphatic} 2920 \text{ см}^{-1}$) фрагментов; ОППП рассчитаны, исходя из средних значений ($n = 3$).

Таблица 4. Элементный (C, H, N, O, S) состав гуминовых кислот

Шифр образца	Массовые доли элементов, % ($\%_{mass}$)					Атомные отношения				ω
	Атомные доли элементов, % ($\%_{atom}$)					H/C	H/C _{сnp}	O/C	C/N	
	C	H	N	O	S					
ГК-1	<u>55.43 ± 0.50</u>	<u>5.80 ± 0.04</u>	<u>3.75 ± 0.02</u>	<u>33.79 ± 0.41</u>	0	1.25	1.48	0.46	17.07	-0.16
	36.19 ± 0.44	45.13 ± 0.34	2.12 ± 0.02	16.56 ± 0.18						
ГК-2	<u>55.35 ± 0.50</u>	<u>5.86 ± 0.05</u>	<u>4.20 ± 0.03</u>	<u>34.30 ± 0.44</u>	0	1.26	1.49	0.46	15.40	-0.14
	35.88 ± 0.42	45.21 ± 0.33	2.33 ± 0.02	16.65 ± 0.24						

Примечание: ω – средняя степень окисления атома углерода; Массовые и атомные доли элементов рассчитаны на беззольную навеску.

Содержание углерода в среднем равно 55.39%_{mass} (36.04%_{atom}). Данное значение укладывается в диапазон, установленный Д.С. Орловым для торфяного сырья (нижний предел 46%_{mass}, верхняя граница 62%_{mass}). Показатели содержания водорода также имеют весьма близкие значения (табл. 4). Ввиду того, что доли этих элементов, выраженные в атомных и массовых процентах от сухого беззольного вещества, дают представление об их валовом содержании, а не отдельно по «ядерной» и «периферической» частям молекулы [22], часто для установления класса углеводов по классификации Ван-Кревелена рассчитывают показатель их атомного соотношения (Н/С) [29]. Значения Н/С для данных ГК, равны 1.25 и 1.26 соответственно, что свидетельствует о развитой ароматической части, связанной с алифатическими цепями, включающими в свой состав до 10 углеродных атомов (табл. 4) [29]. По литературным данным эта характерная особенность ГК, выделенных из торфов древесной группы, и может быть объяснена ароматической природой лигнина, выступающего в роли «строительного блока» в процессе гумификации, наличием большого количества опробковевших и кутинизированных элементов покровных и механических тканей сосудистых растений [1, 26, 27]. Более точное определение классификации углеводов по Ван-Кревелену возможно с использованием H/C_{ucnp} , т.к. данный показатель по сравнению с Н/С учитывает замещение атомов водорода на атомы кислорода. Показатели H/C_{ucnp} для молекул исследуемых ГК также весьма близки, что с одной стороны, подчеркивают их идентичность, а с другой, ароматическую природу (табл. 4) [29]. Для ГК-2 показатель ω принимает более высокое значение (табл. 4) и может характеризовать их как молекулы с более выраженными антиоксидантными свойствами.

Установлено, что по уровню содержания азота в структуре молекулы, вещество можно отнести к определенному классу соединений [1]. Для ГК данный показатель, установленный Д.С. Орловым на большом количестве образцов, должен составлять 3–6%_{mass}. Для исследуемых ГК его среднее значение составило 3.96%_{mass} (табл. 4). Также в работе [1] установлено, что уровень азота, формирующего боковые полипептидные фрагменты, включая и белковые компоненты, характеризует показатель атомного отношения С/Н. При этом, если данная величина численно равна 11–14, то ГК могут быть охарактеризованы как молекулы с высоким содержанием азота. Для ГК-1 и ГК-2 атомное отношение С/Н составило 17.07 и 15.40, соответственно (табл. 4), что соразмерно с высоким вкладом азота в построение ГК. При этом для ГК-2 характерно в среднем на 9% более высокое содержание азота.

Известно, что торф, формирующийся в болотных системах Западно-Сибирской низменности, характеризуется пониженной сернистостью. В исследуемых образцах ГК сера также не обнаружена.

Гуминовые кислотные являются органическими полианионами ввиду того, что «ароматический каркас» замещен, в основном, карбоксильными и фенольными группами. Выявлена прямая корреляционная зависимость между содержанием данных групп с реакционной и физиологической активностью, сорбционными и другими свойствами [25]. Результаты количественного определения кислотных функциональных групп представлены в таблице 5. По результатам титриметрического анализа можно отметить отсутствие существенных различий между образцами по данным показателям.

Хроматограммы ММР имеют одинаковый профиль, характеризуются наличием одного максимума (мономодальное распределение компонентов) (рис. 4 и рис. 5). Последнее обстоятельство связано с подбором оптимальных условий хроматографирования, при которых все неэсклюзивные процессы были нивелированы [4]. На основании полученных хроматограмм проведен расчет основных показателей ММР (табл. 5). Значения ММ исследуемых образцов ГК превышает величину 50 кДа (121.4 и 261.5 кДа), а коэффициент полидисперсности много больше единицы (10.3 и 12.4) (табл. 5). Это позволяет исследуемые ГК охарактеризовать как полидисперсные высокомолекулярные полимеры [4, 30]. При этом образец ГК-2 является менее высокомолекулярным и более однородным (табл. 5).

Таблица 5. Результаты определения содержания функциональных групп и молекулярно-массового распределения молекул гуминовых кислот

Шифр образца	Кислотные функциональные группы, ммоль/г			Параметры ММР			
	Карбоксильные (COOH)	Фенольные (Ar-OH)	Сумма	M_n , Да	M_w , Да	M_p , Да	p
ГК-1	2.81±0.01	3.15±0.02	6.00±0.03	21164.8	261519.4	74397.6	12.4
ГК-2	2.61±0.01	3.20±0.02	5.81±0.03	11844.2	121393.4	37918.4	10.3

Примечание: M_n , Да – среднечисленная молекулярная масса; M_w , Да – средневесовая молекулярная масса; M_p , Да – пиковое значение молекулярных масс (медиана); p – полидисперсность (отношение M_w/M_n).

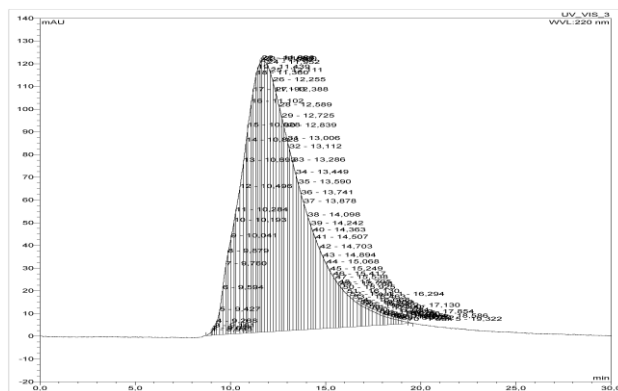


Рис. 4. ММР ГК-1, выделенных из торфа с болота «Клюквенное»

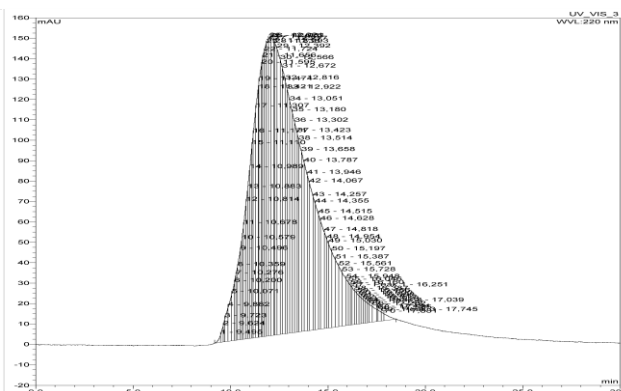


Рис. 5. ММР ГК-2, выделенных из торфа с болота «Таган»

Профиль ^{13}C ЯМР-спектров исследуемых образцов ГК однотипен, что наряду с другими реализованными физико-химическими методами свидетельствует об их весьма близкой химической организации (рис. 6).

Спектры ГК-1 и ГК-2 характеризуются присутствием пиков, характерных для углерода алифатических C_n -групп алкильных фрагментов (5–48 м.д.), углерода аминокислот (48–90 м.д.), а также незамещенных и замещенных ароматических атомов углерода (спектральная область 108–120 м.д. и 120–140 м.д. соответственно) (табл. 6) [4, 23, 30–33]. Содержание ароматических структур в обоих образцах ГК практически одинаковое (ГК-1 – 25.3%, ГК-2 – 25%) (табл. 6). Определенный на основании данных ^{13}C ЯМР спектроскопии показатель степени ароматичности (вычисленный как отношение суммы ароматического углерода к сумме углерода алкильных фрагментов) для обоих образцов ГК оказался одинаковым и не превысил 1, что указывает на достаточно высокое содержание в ГК гидрофильных структур и невысокую гидрофобность [23, 31]. Анализ спектров исследуемых ГК также позволил выявить ряд особенностей. Так, для образца ГК-2 количество кето- и хиноидных групп (спектральная область 187–220 м.д.) более чем в 2 раза выше, чем для ГК-1 (8.6% и 4.2% соответственно) (табл. 6). Ароматический углерод в ГК-1 замещен (с высокой степенью вероятности) метокси-группами лигниновой природы, а в ГК-2 – фенольными гидроксильными (большая площадь пиков в области 55–58 м.д. и 145–165 м.д., соответственно) [33, 34]. Структура ГК-1 в сравнении с ГК-2 имеет более развитую периферическую молекулярную составляющую ввиду более высокого содержания полисахаридных компонентов (область 90–108 м.д.)

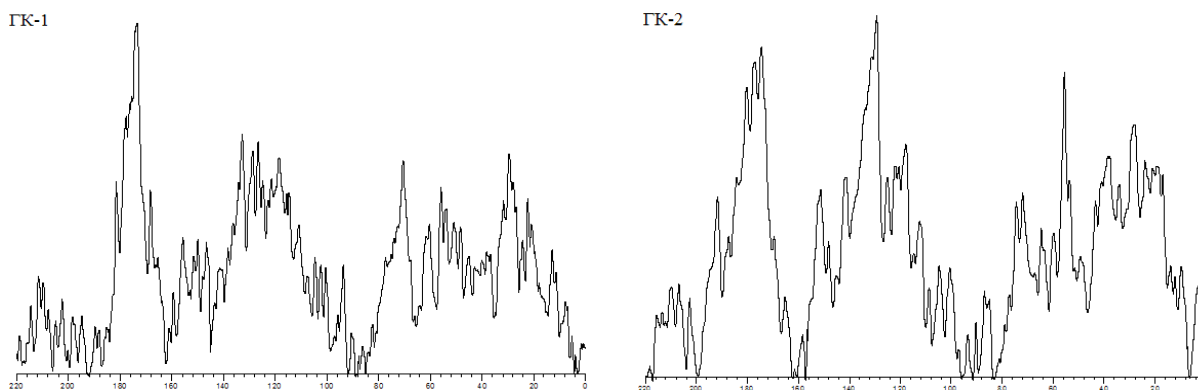


Рис. 6. ^{13}C -ЯМР-спектры ГК-1 и ГК-2, интенсивность сигнала нормирована на максимальный сигнал каждого спектра

Таблица 6. Распределение углерода по фрагментам структуры молекул гуминовых кислот (% от $C_{\text{общ}}$) по данным спектроскопии ^{13}C ЯМР

Спектральные области, м.д.	Шифр образца	
	ГК-1	ГК-2
5–48 (CH_n , C-C)	19.9	24.9
48–90 (R-O, C-O, N-alkyl)	20.5	17.2
90–108 (O-C-O; O-C-N)	6.6	3.3
108–145 (C_{Ar} (C=C, C=C-C))	25.3	25.0
145–165 (C_{Ar} -O/N (C=C-O/N))	7.4	5.4
165–187 (O=C-(OH/O/NH ₂))	16.0	15.6
187–220 (O=C-(H ₂ /R ₂))	4.2	8.6
* ΣC_{Carb}	27.1	20.5
** $\Sigma C_{\text{Ar}}/\Sigma C_{\text{Al}}$	0.67	0.67

Примечание. *Сумма карбогидратов (48–108 м.д.); **Степень ароматичности.

Выводы

По результатам выполненного исследования можно сделать следующие выводы.

1. Схожий ботанический состав исследуемых видов торфа, заготовленных на разных месторождениях Томской области, свидетельствует об их близком происхождении. Более высокая степень разложения наряду с меньшей зольностью торфа болота «Таган» позволяет рассматривать его в качестве более перспективного сырьевого источника ГК.

2. Однотипные профили полос поглощения в электронных и ИК-спектрах, близкие значения химических сдвигов в ^{13}C -ЯМР спектрах, атомных и массовых долей элементов свидетельствуют об общем принципе химического строения ГК-1 и ГК-2.

3. Общие черты строения ГК по данным совокупности физико-химических методов обусловлены: наличием ароматической части, замещенной алифатическими фрагментами, содержащими до 10 атомов углерода; наличием полисопряженной системы, представленной C=C-связями и различными функциональными группами, в т.ч. и хиноидными; одинаковой степенью ароматичности, преобладанием гидрофильных структурных фрагментов; полидисперсностью; высокими величинами M_w и выраженными восстановительными свойствами; близкими значениями уровня содержания кислотных функциональных групп.

4. Отличительными особенностями строения образца ГК-2, по данным электронной спектроскопии, связаны с присутствием более разветвленной и протяженной системы полисопряжения, меньшей степенью конденсированности ароматических фрагментов, а для ГК-1 – более сложным строением макромолекулы и более высоким содержанием объемной циклической части.

5. Отличительная особенность образца ГК-2 по результатам ИК-спектроскопии заключается в более высоких значениях ОППП, характеризующих содержание фенольных гидроксидов и ароматических фрагментов, а также более низкими значениями ОППП, определяющих содержание простых эфирных и углеводных фрагментов.

6. Образец ГК-2 характеризуется более однородным молекулярным составом, связанным с более низкими значениями средневесовой молекулярной массы.

7. По данным ^{13}C ЯМР спектроскопии для образца ГК-2 характерно более высокое содержание углерода в структуре кетонных и хиноидных группировок. В образце ГК-1 ароматический углерод замещен главным образом алкил-арильными группировками (CH_3O -группами лигнина), а в ГК-2 – фенольными структурами. Также ГК-1 имеет более развитую периферическую часть, обусловленную более высоким содержанием полисахаридных фрагментов.

Таким образом, в результате проведенного сравнительного фармакогностического исследования двух низинных древесно-травяных видов торфа с различных болот Томской области и физико-химических параметров структуры ГК, выделенных из них, можно заключить, что исследованные молекулы ГК идентичны и отличаются друг от друга в большей степени количественными характеристиками содержания некоторых дескрипторов строения, ввиду чего ГК, экстрагированные из торфа с болота «Таган» (образец ГК-2), являются более перспективными БАВ для целей разработки лекарственных средств и биологически активных добавок с неспецифической (в т.ч. протекторной, иммуностропной) активностью [4, 5, 8, 15]. Также отмечено, что схожий ботанический состав в пределах одного и того же вида торфа, несмотря на

разные торфяные месторождения, близкое количественное содержание ГК в сырье, и высокая идентичность дескрипторов их строения указывают на взаимозаменяемости торфяного сырья, и в случае чрезмерного антропогенного загрязнения болота, естественного пожара или истощения торфяного месторождения, другое может стать новым промышленным участком заготовки при условии строгого соблюдения технологии выделения ГК из торфа.

Список литературы

1. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М., 1990. 325 с.
2. Зыкова М.В., Логвинова Л.А., Белоусов М.В. Высокомолекулярные соединения гуминовой природы – перспективные биологически активные соединения // Традиционная медицина. 2018. №2 (53). С. 27–38.
3. van Rensburg C.E. The antiinflammatory properties of humic substances: a mini review // *Phytotherapy Research*. 2015. Vol. 29. Pp. 791–795. DOI: 10.1002/ptr.5319.
4. Zykova M.V., Schepetkin I.A., Belousov M.V., Krivoshchekov S.V., Logvinova L.A., Bratishko K.A., Romanenko S.V., Yusubov M.S., Quinn M.T. Physicochemical characterization and antioxidant activity of humic acids isolated from peat of various origins // *Molecules*. 2018. Vol. 23. N4. P. 753. DOI: 10.3390/molecules23040753.
5. Зыкова М.В., Логвинова Л.А., Кривошеков С.В., Воронова О.А., Ласукова Т.В., Братишко К.А., Жолобова Г.А., Голубина О.А., Передерина И.А., Дрыгунова Л.А., Тверякова Е.Н., Белоусов М.В. Антиоксидантная активность высокомолекулярных соединений гуминовой природы // *Химия растительного сырья*. 2018. №3. С. 239–250. DOI: 10.14258/jcprm.2018033925.
6. Zykova M.V., Belousov M.V., Logvinova L.A., Lasukova T.V., Gorbunov A.S., Dygai A.M. Cardiovascular effects of high-molecular-weight compounds of humic nature // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017. Vol. 163. N2. Pp. 206–209. DOI: 10.1007/s10517-017-3767-1.
7. Lasukova T.V., Zykova M.V., Belousov M.V., Gorbunov A.S., Logvinova L.A., Dygai A.M. The role of NO-synthase in realization of the cardioprotective effect of humic natural compounds on the ischemia and reperfusion of the isolated rat heart // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019. Vol. 166. N5. Pp. 598–601. DOI: 10.1007/s10517-019-04399-y.
8. Братишко К.А., Зыкова М.В., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Дрыгунова Л.А., Перминова И.В., Белоусов М.В. Гуминовые кислоты торфа – перспективные биологически активные веществ с антиоксидантной активностью для разработки протекторных средств // *Химия растительного сырья*. 2021. №1. С. 287–298. DOI: 10.14258/jcprm.2021018784.
9. Буйко Е.Е., Зыкова М.В., Иванов В.В., Братишко К.А., Уфандеев А.А., Григорьева И.О., Цупко А.В., Михалёв Д.А., Перминова И.В., Белоусов М.В. Антиоксидантная активность серебрсодержащих бионаноконпозиций на основе гуминовых веществ в культуре клеток // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021. Т. 10. №4. С. 46–53. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-46-53.
10. Belousov M.V., Akhmedzhanov R.R., Zykova M.V., Gur'ev A.M., Yusubov M.S. Studying hepatoprotective properties of native humic acids isolated from low land peat of Tomsk region // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2014. Vol. 48. N4. Pp. 249–252. DOI: 10.1007/s11094-014-1088-5.
11. Zamoshchina T.A., Gostyukhina A.A., Zaitsev K.V., Abdulkina N.G., Zykova M.V., Logvinova L.A., Svetlik M.V., Kurtsevich E.A., Belousov M.V., Lasukova T.V., Dygai A.M. Effect of humic acids from lowland peat on endurance of rats in forced swim test in relation to serum lactate and corticosterone // *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2020. Vol. 169. N6. Pp. 734–737. DOI: 10.1007/s10517-020-04967-7.
12. Trofimova E.S., Zykova M.V., Ligacheva A.A., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Belousov M.V., Yusubov M.S., Krivoshchekov S.V., Danilets M.G., Dygai A.M. Effects of humic acids isolated from peat of various origin on *in vitro* production of nitric oxide: a screening study // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016. Vol. 161. N5. Pp. 687–692. DOI: 10.1007/s10517-016-3486-z.
13. Trofimova E.S., Zykova M.V., Ligacheva A.A., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Belousov M.V., Yusubov M.S., Krivoshchekov S.V., Danilets M.G., Dygai A.M. Influence of humic acids extracted from peat by different methods on functional activity of macrophages *in vitro* // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016. Vol. 162. N6. Pp. 741–745. DOI: 10.1007/s10517-017-3702-5.
14. Трофимова Е.С., Зыкова М.В., Лигачева А.А., Данилец М.Г., Шерстобоев Е.Ю., Логвинова Л.А., Белоусов М.В. Противоаллергические свойства гуминовых кислот, выделенных из верхового сосново-сфагново-пушищевого торфа // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021. Т. 172. №9. С. 313–317. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-313-317.
15. Zykova M.V., Veretennikova E.E., Logvinova L.A., Romanenko S.V., Bratishko K.A., Belousov M.V., Brazovsky K.S., Yusubov M.S., Lyapkov A.A., Danilets M.G., Trofimova E.S., Ligacheva A.A. New artificial network model to estimate biological activity of peat humic acids // *Environmental research*. 2020. Vol. 191. P. 109999. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109999.
16. Гостищева М.В., Белоусов М.В., Исмагова Р.Р., Васильев К.Ю., Дмитрук С.Е., Юсубов М.С. Исследование химико-токсикологических свойств гуминовых кислот низинного древесно-травяного торфа Томской области // *Башкирский химический журнал*. 2009. Т. 15. №2. С. 67–71.

17. Архипов В.С., Маслов В.Г. Состав и свойства типичных видов торфа центральной части Западной Сибири // Химия растительного сырья. 1998. №4. С. 9-16.
18. Патент №2610446 (РФ). Средство, повышающее продукцию оксида азота макрофагами *in vitro*, на основе гуминовых кислот из торфа болот Томской области и способ его получения / М.В. Зыкова, М.Г. Данилец, С.В. Кривошеков, Е.С. Трофимова, А.А. Лигачева, Е.Ю. Шерстобоев, М.В. Белоусов, М.С. Юсубов. 2017.
19. ГОСТ 28245-89. Торф. Методы определения ботанического состава и степени разложения. М., 2006. 7 с.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018. URL: <http://www.femb.ru/feml>.
21. Kosuke I., Akira W. Application of ^{13}C ramp CPMAS NMR with phase-adjusted spinning sidebands (PASS) for the quantitative estimation of carbon functional groups in natural organic matter // Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2015. Vol. 402 (2). Pp. 651-655. DOI: 10.1007/s00216-015-9127-y.
22. Орлов Д.С. Гуминовые вещества в биосфере. М., 1993. 238 с.
23. Shiping W., Meng W., Guilong L., Ming L., Chunyu J., Zhongpei L. Fungistatic activity of multiorigin humic acids in relation to their chemical structure // J. Agric. Food Chem. 2018. Vol. 66. N28. Pp. 7514–7521. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b01931.
24. Марьганова В.В., Бамбалов Н.Н., Стригуцкий В.П., Пармон С.В. Изменения состава гуминовых веществ в зависимости от глубины залегания торфа // Химия твердого топлива. 2013. №3. С. 19–30. DOI: 10.7868/S0023117713030055.
25. Лиштван И.И., Капуцкий Ф.Н., Янута Ю.Г., Абрамец А.М., Монич Г.С., Навоша Ю.Ю., Стригуцкий В.П., Глухова Н.С., Алейникова В.Н. Гуминовые кислоты. Спектральный анализ и структура фракций // Вестник БГУ. Серия 2: Химия. Биология. География. 2012. №1. С. 18–23.
26. Нестерова О.В., Семаль В.А. Характеристика гуминовых кислот буроземов юга Сихотэ-Алиня по данным элементного анализа и ИК-спектроскопии (на примере Уссурийского заповедника) // Вестник КрасГАУ. 2009. №10. С. 29–35.
27. Лиштван И.И., Янута Ю.Г., Абрамец А.М., Навоша Ю.Ю., Стригуцкий В.П., Капуцкий Ф.Н. Спектральные исследования фракций гуминовых кислот // Химия твердого топлива. 2006. №4. С. 3–11.
28. Zaccone C., Miano T.M., Shotyk W. Qualitative comparison between raw peat and related humic acids in an ombrotrophic bog profile // Organic Geochemistry. 2007. Vol. 38. N1. Pp. 151-160. DOI: 10.1016/j.orggeochem.2006.06.023.
29. Zhrebker A., Kostyukevich Y., Kononikhin A., Kharybin O., Konstantinov A.I. Enumeration of carboxyl groups carried on individual components of humic systems using deuteromethylation and Fourier transform mass spectrometry // Anal. Bioanal. Chem. 2017. Vol. 409. N9. Pp. 2477–2488. DOI: 10.1007/s00216-017-0197-x.
30. Shin H.S., Monsallier J.-M., Choppin G.R. Spectroscopic and chemical characterizations of molecular size fractionated humic acid // Talanta. 1999. Vol. 50. N3. Pp. 641–647. DOI: 10.1016/S0039-9140(99)00161-7.
31. Холодов В.А., Константинов А.И., Кудрявцев А.В., Перминова И.В. Строение гуминовых кислот почв зонального ряда по данным спектроскопии ЯМР ^{13}C // Почвоведение. 2011. №9. С. 1064–1073.
32. Hertkorn N., Permin A.B., Perminova I.V., Kovalevskii D.V., Yudov M.V., Kettrup A. Comparative analysis of partial structures of a peat humic and fulvic acid using one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy // Journal Environmental Quality. 2002. Vol. 31. N2. Pp. 375-387. DOI: 10.2134/jeq2002.3750.
33. Tadini A.M., Pantano G., Toffoli A.L., Fontaine B., Spaccini R., Piccolo A., Moreira A.B., Bisinoti M.C. Off-line TMAH-GC/MS and NMR characterization of humic substances extracted from river sediments of northwestern Sao Paulo under different soil uses // Science of the total environment. 2015. Vol. 506–507. Pp. 234–240. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.012.
34. Amir S., Jouraiphy A., Meddich A., Meddich A., El Gharous M., Winterton P., Hafid M. Structural study of humic acids during composting of activated sludge-green waste: elemental analysis, FTIR and ^{13}C NMR // Journal of Hazardous Materials. 2010. Vol. 177. N1–3. Pp. 524–529. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.12.064.

Поступила в редакцию 1 декабря 2021 г.

После переработки 31 января 2022 г.

Принята к публикации 3 февраля 2022 г.

Для цитирования: Логвинова Л.А., Зыкова М.В., Кривошеков С.В., Дрыгунова Л.А., Передерина И.А., Голубина О.А., Перминова И.В., Константинов А.И., Белоусов М.В. Сравнительное фармакогностическое исследование низинных древесно-травяных видов торфа различного происхождения для обоснования их использования в качестве перспективных источников биологически активных гуминовых кислот // Химия растительного сырья. 2022. №1. С. 277–288. DOI: 10.14258/jcprm.20220110663.

Logvinova L.A.¹, Zykova M.V.^{1*}, Krivoshchekov S.V.¹, Drygunova L.A.¹, Perederina I.A.¹, Golubina O.A.¹, Perminova I.V.², Konstantinov A.I.², Belousov M.V.¹ COMPARATIVE PHARMACOGNOSTIC STUDY OF DIFFERENT ORIGIN LOW WOODY-GRASS TYPES PEATS FOR SUBSTANTIATION OF THEIR USE AS PROSPECTIVE SOURCES OF BIOLOGICALLY ACTIVE HUMIC ACIDS

¹ Siberian State Medical University, Moskovsky tract, 2, Tomsk, 634050 (Russia), e-mail: gmv2@rambler.ru

² Moscow State University named after M.V. Lomonosov, Leninskie gory, 1, Moscow, 119991 (Russia)

The comparative pharmacognostic study of two different origin low woody-grass types peat from the Tomsk region peatlands and the physicochemical parameters of the structure of humic acids (HA) isolated from them was carried out to justify the interchangeability of peat raw materials within the same peat species and to select a promising source of HA with biological activity for development new drug candidates with non-specific biological activity. As a result of the study, it was established that two different origin low woody-grass types peat from the Tomsk region peatlands ("Klyukvennoye" and "Tagan") have similar botanical composition and pharmacognostic parameters. Humic acids were alkaline extraction isolated from the studied peats, according to the physicochemical methods combination (UV and IR spectroscopy, elemental CHNS analysis, ¹³C-NMR spectroscopy, titrimetry) have common structural features due to the presence of the aromatic structures with the aliphatic radicals replaced, the the polyconjugated system presence, the aromaticity same degrees, the hydrophilic structures predominance over hydrophobic, polydispersity, pronounced reducing properties, this indicates the interchangeability of peat raw materials, provided that the technology for extracting HA from peat is observed. Difference features between HA samples, associated mainly with the nitrogen content, as well as phenolic and quinoid fragments, the condensation aromatic structures degrees, the lignin nature methoxyl-groups and carbohydrate fragments, were made it possible to conclude about that HA extracted from peat of «Tagan» peatland are more promising for the development to safe naturals medicines for the prevention and treatment of a wide range of pathologies.

Keywords: peat, humic acids, elemental analysis, spectroscopy, chromatography.

References

1. Orlov D.S. *Gumusovyye kisloty pochv i obshchaya teoriya gumifikatsii*. [Soil humic acids and the general theory of humification]. Moscow, 1990, 325 p. (in Russ.).
2. Zykova M.V., Logvinova L.A., Belousov M.V. *Traditsionnaya meditsina*, 2018, no. 2 (53), pp. 27–38. (in Russ.).
3. van Rensburg C.E. *Phytotherapy Research*, 2015, vol. 29, pp. 791–795. DOI: 10.1002/ptr.5319.
4. Zykova M.V., Schepetkin I.A., Belousov M.V., Krivoshchekov S.V., Logvinova L.A., Bratishko K.A., Romanenko S.V., Yusubov M.S., Quinn M.T. *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 4, p. 753. DOI: 10.3390/molecules23040753.
5. Zykova M.V., Logvinova L.A., Krivoshchekov S.V., Voronova O.A., Lasukova T.V., Bratishko K.A., Zholobova G.A., Golubina O.A., Perederina I.A., Drygunova L.A., Tveryakova Ye.N., Belousov M.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 3, pp. 239–250. DOI: 10.14258/jcprm.2018033925. (in Russ.).
6. Zykova M.V., Belousov M.V., Logvinova L.A., Lasukova T.V., Gorbunov A.S., Dygai A.M. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2017, vol. 163, no. 2, pp. 206–209. DOI: 10.1007/s10517-017-3767-1.
7. Lasukova T.V., Zykova M.V., Belousov M.V., Gorbunov A.S., Logvinova L.A., Dygai A.M. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2019, vol. 166, no. 5, pp. 598–601. DOI: 10.1007/s10517-019-04399-y.
8. Bratishko K.A., Zykova M.V., Ivanov V.V., Buyko Ye.Ye., Drygunova L.A., Perminova I.V., Belousov M.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 287–298. DOI: 10.14258/jcprm.2021018784. (in Russ.).
9. Buyko Ye.Ye., Zykova M.V., Ivanov V.V., Bratishko K.A., Ufandeyev A.A., Grigor'yeva I.O., Tsupko A.V., Mikhailov D.A., Perminova I.V., Belousov M.V. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 46–53. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-46-53. (in Russ.).
10. Belousov M.V., Akhmedzhanov R.R., Zykova M.V., Gur'ev A.M., Yusubov M.S. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2014, vol. 48, no. 4, pp. 249–252. DOI: 10.1007/s11094-014-1088-5.
11. Zamoshchina T.A., Gostyukhina A.A., Zaitsev K.V., Abdulkina N.G., Zykova M.V., Logvinova L.A., Svetlik M.V., Kurtsevich E.A., Belousov M.V., Lasukova T.V., Dygai A.M. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2020, vol. 169, no. 6, pp. 734–737. DOI: 10.1007/s10517-020-04967-7.
12. Trofimova E.S., Zykova M.V., Ligacheva A.A., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Belousov M.V., Yusubov M.S., Krivoshchekov S.V., Danilets M.G., Dygai A.M. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2016, vol. 161, no. 5, pp. 687–692. DOI: 10.1007/s10517-016-3486-z.
13. Trofimova E.S., Zykova M.V., Ligacheva A.A., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Belousov M.V., Yusubov M.S., Krivoshchekov S.V., Danilets M.G., Dygai A.M. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2016, vol. 162, no. 6, pp. 741–745. DOI: 10.1007/s10517-017-3702-5.
14. Trofimova Ye.S., Zykova M.V., Ligacheva A.A., Danilets M.G., Sherstoboyev Ye.Yu., Logvinova L.A., Belousov M.V. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*, 2021, vol. 172, no. 9, pp. 313–317. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-313-317. (in Russ.).
15. Zykova M.V., Veretennikova E.E., Logvinova L.A., Romanenko S.V., Bratishko K.A., Belousov M.V., Brazovsky K.S., Yusubov M.S., Lyapkov A.A., Danilets M.G., Trofimova E.S., Ligacheva A.A. *Environmental research*. 2020, vol. 191, p. 109999. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109999.
16. Gostishcheva M.V., Belousov M.V., Ismatova R.R., Vasil'yev K.Yu., Dmitruk S.Ye., Yusubov M.S. *Bashkirskiy khimicheskii zhurnal*, 2009, vol. 15, no. 2, pp. 67–71. (in Russ.).
17. Arkhipov V.S., Maslov V.G. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 1998, no. 4, pp. 9–16. (in Russ.).

* Corresponding author.

18. Patent 2610446 (RU). 2017. (in Russ.).
19. GOST 28245-89. *Torf. Metody opredeleniya botanicheskogo sostava i stepeni razlozheniya*. [GOST 28245-89. Peat. Methods for determining the botanical composition and degree of decomposition]. Moscow, 2006, 7 p. (in Russ.).
20. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniye*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition]. Moscow, 2018. URL: <http://www.femb.ru/feml>. (in Russ.).
21. Kosuke I., Akira W. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, vol. 402 (2), pp. 651–655. DOI: 10.1007/s00216-015-9127-y.
22. Orlov D.S. *Guminovyye veshchestva v biosfere*. [Humic substances in the biosphere]. Moscow, 1993, 238 p. (in Russ.).
23. Shiping W., Meng W., Guilong L., Ming L., Chunyu J., Zhongpei L. *J. Agric. Food Chem.*, 2018, vol. 66, no. 28, pp. 7514–7521. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b01931.
24. Maryganova V.V., Bambalov N.N., Strigutskiy V.P., Parmon S.V. *Khimiya tverdogo topliva*, 2013, no. 3, pp. 19–30. DOI: 10.7868/S0023117713030055. (in Russ.).
25. Lishtvan I.I., Kaputskiy F.N., Yanuta Yu.G., Abramets A.M., Monich G.S., Navosha Yu.Yu., Strigutskiy V.P., Glukhova N.S., Aleynikova V.N. *Vestnik BGU. Seriya 2: Khimiya. Biologiya. Geografiya*, 2012, no. 1, pp. 18–23. (in Russ.).
26. Nesterova O.V., Semal' V.A. *Vestnik KrasGAU*, 2009, no. 10, pp. 29–35. (in Russ.).
27. Lishtvan I.I., Yanuta Yu.G., Abramets A.M., Navosha Yu.Yu., Strigutskiy V.P., Kaputskiy F.N. *Khimiya tverdogo topliva*, 2006, no. 4, pp. 3–11. (in Russ.).
28. Zaccane C., Miano T.M., Shotyck W. *Organic Geochemistry*, 2007, vol. 38, no. 1, pp. 151–160. DOI: 10.1016/j.orggeochem.2006.06.023.
29. Zhrebker A., Kostyukevich Y., Kononikhin A., Kharybin O., Konstantinov A.I. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2017, vol. 409, no. 9, pp. 2477–2488. DOI: 10.1007/s00216-017-0197-x.
30. Shin H.S., Monsallier J.-M., Choppin G.R. *Talanta*, 1999, vol. 50, no. 3, pp. 641–647. DOI: 10.1016/S0039-9140(99)00161-7.
31. Kholodov V.A., Konstantinov A.I., Kudryavtsev A.V., Perminova I.V. *Pochvovedeniye*, 2011, no. 9, pp. 1064–1073. (in Russ.).
32. Hertkorn N., Permin A.B., Perminova I.V., Kovalevskii D.V., Yudov M.V., Kettrup A. *Journal Environmental Quality*, 2002, vol. 31, no. 2, pp. 375–387. DOI: 10.2134/jeq2002.3750.
33. Tadini A.M., Pantano G., Toffoli A.L., Fontaine B., Spaccini R., Piccolo A., Moreira A.B., Bisinoti M.C. *Science of the total environment*, 2015, vol. 506–507, pp. 234–240. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.012.
34. Amir S., Jouraiphy A., Meddich A., Meddich A., El Gharous M., Winterton P., Hafid M. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, vol. 177, no. 1–3, pp. 524–529. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.12.064.

Received December 1, 2021

Revised January 31, 2022

Accepted February 3, 2022

For citing: Logvinova L.A., Zykova M.V., Krivoshechekov S.V., Drygunova L.A., Perederina I.A., Golubina O.A., Perminova I.V., Konstantinov A.I., Belousov M.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 277–288. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20220110663.