

УДК 615.322:543.422.3

МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ГРЕЧИХИ КРАСНОСТЕБЕЛЬНОЙ ТРАВЕ

© *A.B. Митищев¹*, Е.Е. Курдюков¹, М.Г. Макарцева¹, И.Я. Моисеева¹, Е.Ю. Бибик²*

¹ Пензенский государственный университет, ул. Красная, 40, Пенза,
440026, Россия, span2361@rambler.ru

² Луганский государственный медицинский университет имени Святителя
Луки, кв. 50-летия Обороны Луганска, 1г, Луганск, 291045, Россия

Гречихи красностебельной травы зарегистрирована на территории Российской Федерации в качестве биологически активной добавки к пище как источника флавоноидов. Помимо флавоноидов в сырье гречихи содержатся гидроксикоричные кислоты, которые вносят существенный вклад в ее фармакологическую активность. Экстракты гречихи и БАДы на их основе обладают антиоксидантным, кардиопротективным, гипогликемическим, ноотропным действием. Однако в отечественной литературе недостаточно информации по стандартизации сырья гречихи красностебельной, в связи с этим целью настоящего исследования является идентификация, разработка и валидация методики количественного определения гидроксикоричных кислот, содержащихся в надземной части гречихи красностебельной. Согласно результатам качественной идентификации методом тонкослойной хроматографии, водно-спиртовые извлечения травы гречихи содержали гидроксикоричные кислоты. Максимумы поглощения экстрактов наблюдались при длине волн 330 нм, что соответствовало максимуму поглощения раствора стандартного образца хлорогеновой кислоты. Исходя из полученных данных, количественное определение суммы гидроксикоричных кислот проводили в пересчете на хлорогеновую кислоту. Определены оптимальные параметры экстракции: экстрагент – 40% спирт этиловый, соотношение «сырец – экстрагент» – 1 : 50; время экстракции 30 мин, кратность экстракции – однократная. Проведена валидация методики. С помощью разработанной методики были проанализированы четыре образца биологически активной добавки (БАД) к пище «Гречиха красностебельная. Куллясово & Мамадыш» производства ООО «Парафарм» серии: 0423; 1223; 0324; 1124. Суммарное содержание гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту варьировало от 2.87 ± 0.04 – $3.14 \pm 0.02\%$. Полученные результаты указывают на то, что данная методика может быть использована для стандартизации лекарственного сырья гречихи красностебельной.

Ключевые слова: гречиха красностебельная, количественное определение, спектрофотометрический метод, гидроксикоричные кислоты, хлорогеновая кислота.

Для цитирования: Митищев А.В., Курдюков Е.Е., Макарцева М.Г., Моисеева И.Я., Бибик Е.Ю. Методика количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в гречихи красностебельной траве // Химия растительного сырья. 2025. №4. С. 195–203. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250416859>.

Введение

В последние десятилетия внимание исследователей обращено на растения, характеризующиеся высокой способностью к образованию вторичных метаболитов, относящихся к полифенольным соединениям [1–3]. Гречиха красностебельная (*Fagopyrum rubricaulis*), семейство гречишные (*Polygonaceae*) – это однолетнее культивируемое в промышленных масштабах на территории Российской Федерации растение, способное накапливать фенольные соединения. Надземная часть гречихи красностебельной содержит флавоноиды (рутин, кверцетин, изокверцетин, ориентин, витексин и другие [4]), гидроксикоричные (хлорогеновая и кофейная кислоты) и фенолкарбоновые кислоты (протокатеховая, галловая) [5], органические кислоты [6], витамины группы В и каротиноиды, белки [7]. Кроме того, в этом сорте гречихи обнаружены также катехины (флаванолы) и конденсированные дубильные вещества (проантоцианидины) [8]. Экстракты гречихи оказывают анти-, кардиопротективное, адаптогенное, противовоспалительное, антибактериальное,

* Автор, с которым следует вести переписку.

гипогликемическое действие [9]. Для дальнейшей разработки лекарственных средств на основе гречихи необходимо изучить нормируемые показатели и разработать методы количественного определения биологически активных соединений.

Основной трудностью количественного определения гидроксикоричных кислот в сырье гречихи красностебельной является то, что она содержит полифенольные соединения разных классов, имеющие ярко выраженные полосы поглощения практически в одной и той же области ультрафиолетового спектра, что затрудняет их определение методом прямой спектрофотометрии [10–12]. Для получения достоверного результата необходимо использовать модификации спектрофотометрического метода. В отечественной литературе описаны следующие специфические варианты: предварительная твердофазная экстракция [13], хромато-спектрофотометрия [14], экстракционная спектрофотометрия [15], метод Фирордта в спектрофотометрии [16] и спектрофотометрия с использованием реактива Арнова [17, 18]. При анализе известных модификаций в научной литературе было обнаружено, что предварительная твердофазная экстракция является одним из доступных, простых, быстрых и дешевых методов предварительной очистки суммарного извлечения. Поэтому при разработке метода количественного определения суммарного содержания гидроксикоричных кислот спектрофотометрическим методом для предварительной очистки была выбрана фильтрация через слой алюминия хлорида. Целью настоящего исследования является фармакогностическое изучение надземной части гречихи красностебельной.

Экспериментальная часть

Материалом для исследования служила собранная в фазу массового цветения и начала плодоношения гречихи красностебельной трава, собранная на территории Пензенской области в Камешкирском районе в период с 25 июля по 10 августа 2024 г. Траву гречихи красностебельной сушили в сушильных шкафах (ШС-80-02 СПУ) при температуре не выше 40 °C, измельчение сырья проводили в лабораторных мельницах (ML-08B, Китай). Определение влажности сырья проводили согласно ОФС.1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» Государственной фармакопее Российской Федерации XV изд. Извлечение из травы гречихи красностебельной проводилось с помощью экстрагентов: спирт этиловый различных концентраций 40, 70 и 95% с помощью метода мацерации при температуре 90 °C. Подтверждение наличия гидроксикоричных кислот в водно-спиртовых экстрактах осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинах марки «Sorbifil» ПТСХ-П-В-УФ (Россия). На линию старта наносили по 50 мкл исследуемого экстракта и растворов СО. В качестве СО использовали растворы хлорогеновой кислоты (98,5%, ООО «Геофарма»), кофейной кислоты (98.5%, ООО «Геофарма»). Элюирование проводили в системе *n*-бутанол (ч.д.а., 99.70%, Нева Реактив) – ледяная уксусная кислота (х.ч., 99.8%, Компонент-Реактив) – вода (4 : 1 : 2), после полного высушивания детекцию осуществляли с помощью 1% раствора железа хлорида (III) (ч.д.а., 98.00%, Нева Реактив).

Для разработки методики количественного определения содержания суммы гидроксикоричных кислот в гречихи красностебельной траве использовали метод спектрофотометрии с предварительной твердофазной очисткой. Для твердофазной очистки использовали алюминия оксид (Al_2O_3) нейтральный. Определение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-102 (ЗАО «НПКФ Аквилон», Россия). Для расчета суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в сырье гречихи красностебельной использовали удельный показатель поглощения при 330 ± 2 нм, равный 497 [19].

Статистическая обработка результатов исследования и валидация методики проведены в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» и ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» ГФ РФ XV издания [20] с использованием компьютерных программ Microsoft Office Excel 2019.

Обсуждение результатов

В извлечениях гречихи красностебельной методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей: *n*-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4 : 1 : 2) было установлено наличие нескольких зон адсорбции со значениями R_f 0.28–0.77. После высушивания зоны с R_f 0.28 и 0.77 при просмотре в УФ-свете имели голубую при 365 нм и светло-коричневую при 254 нм флюoresценцию характерную для гидроксикоричных кислот. После обработки пластины 1% раствором железа хлорида (III) пятно с R_f 0.28 окрашивалось

в светло-зеленый, пятно с R_f 0.77 – в желто-коричневый цвет, что соответствовало величине R_f и окраске стандартных образцов хлорогеновой и кофейной кислот. Учитывая размер пятен на хроматограмме (рис. 1), можно сделать вывод о преимущественном содержании хлорогеновой кислоты в экстрактах, полученных с использованием спирта этилового 40%.

Анализ результатов, полученных прямой УФ-спектрометрией извлечений гречихи красностебельной травы, показал наличие максимума поглощения в виде плеча при длине волны 330–350 нм (рис. 2). Учитывая, что максимум поглощения в диапазоне 330–350 нм имеют не только гидроксикоричные кислоты, но и другие фенольные соединения, в частности флавоноиды, необходима предварительная пробоподготовка извлечений. Для снижения влияния флавоноидов на спектральные характеристики извлечений, проводили очистку через слой алюминия оксида. Как видно на рисунке 3, максимумы спектра поглощения очищенного извлечения совпадают с максимумом поглощения СО хлорогеновой кислоты. Поэтому при проведении количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в экстрактах из гречихи красностебельной травы пересчет выполняли на хлорогеновую кислоту.

На начальном этапе разработки методики количественного определения гидроксикоричных кислот были определены оптимальные условия экстракции сырья гречихи красностебельной. Результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Гречихи красностебельной траву с влажностью 8%, массой 1.0 (точная навеска), предварительно измельченную до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями 2 мм, помещали в колбу со шлифом на 100 мл, прибавляли 52 мл 40% спирта этилового. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на весах с точностью ± 10 мг. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы колбы. Извлечения фильтровали через бумажный беззолльный фильтр (раствор А).

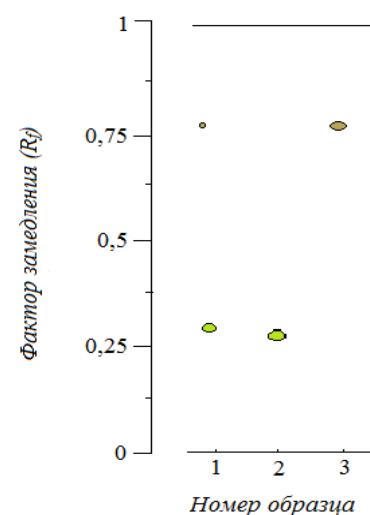


Рис. 1. Результаты анализа методом тонкослойной хроматографии спиртового извлечения из травы гречихи красностебельной: 1 – 40% спиртовое извлечение из травы гречихи красностебельной; растворы стандартных образцов: 2 – хлорогеновой кислоты 0.05%, 3 – кофейной кислоты 0.05%

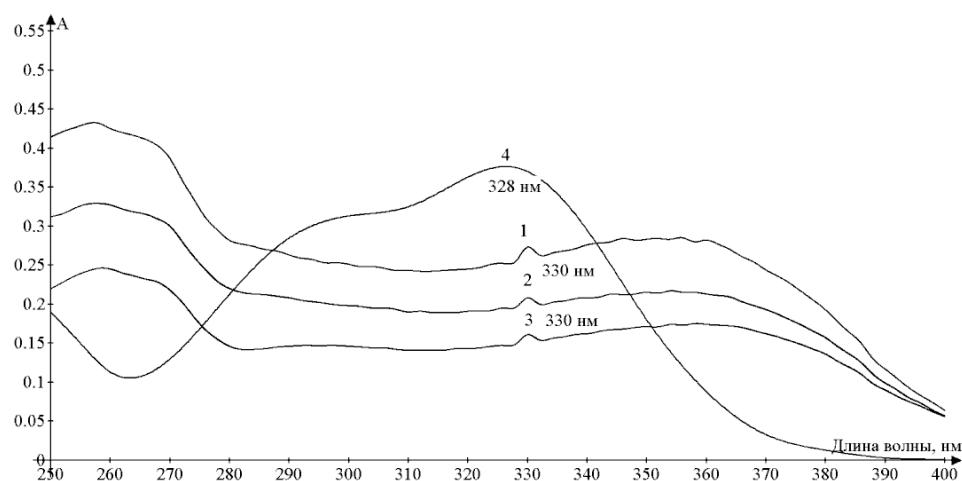


Рис. 2. Электронные спектры стандартного образца хлорогеновой кислоты (4) и извлечений из надземной части *Fagopyrum rubricaulis* (1 – 40% спирт; 2 – 70% спирт; 3 – 95%)

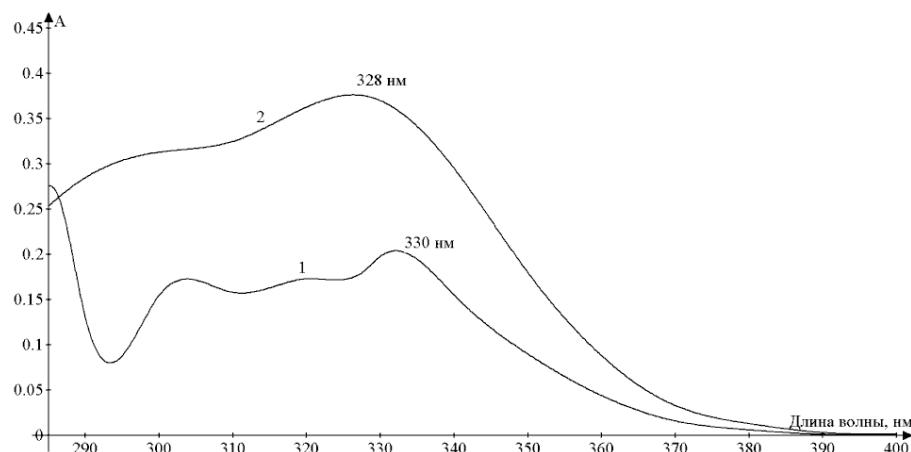


Рис. 3. Электронные спектры стандартного образца хлорогеновой кислоты (2) и 40% спиртового извлечения из надземной части *Fagopyrum rubricaulis*, после очистки через слой алюминия оксида (1)

Таблица 1. Оптимальные параметры экстракции гречихи красностебельной травы

Условия экстракции		Содержание суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, %
Степень измельчения, мм	1	1.67±0.04
	2	1.80±0.05
	5	1.76±0.01
Экстрагент	Спирт этиловый 40%	2.88±0.02
	Спирт этиловый 70%	2.20±0.02
	Спирт этиловый 95%	1.69±0.04
Соотношение «сырье-экстрагент»	1 : 25	2.21±0.03
	1 : 50	2.45±0.05
	1 : 100	2.36±0.01
Время экстракции, мин	30	3.04±0.06
	60	2.78±0.02
	90	2.61±0.05

10 мл извлечения пропускали через слой Al_2O_3 высотой около 4 мм в стеклянном фильтре диаметром 1.5 см (~3.0). Использование алюминия оксида в количестве 3.0 позволило достичь приемлемой чистоты экстракта. Один грамм Al_2O_3 удерживал 0,45 мл извлечения. Экстракт собирали в колбу вместимостью 25 мл. Затем 500 мкл очищенного экстракта помещали в мерную колбу на 50 мл, доводили до метки 40% этиловым спиртом и перемешивали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре при длине волны 330 нм. В качестве раствора сравнения использовали 40% этиловый спирт.

Содержание суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле

$$x = \frac{A \cdot V \cdot 50 \cdot 100}{0.5 \cdot m \cdot 497 \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; V – объем экстрагента, мл; m – масса сырья, г; 1 – объем аликвоты, мл; W – потеря в массе при высушивании сырья (влажность), %; 497 – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при 330 нм.

Проведена метрологическая оценка предложенной методики. В результате семи параллельных определений установлено стандартное отклонение ($S = 0.114$), дисперсия ($S_2 = 0.013$), полуширина доверительного интервала ($\Delta X = 0.084$). Погрешность единичного определения ($\epsilon, \%$) суммы гидроксикоричных кислот с доверительной вероятностью ($P, \%$) 95% в сырье гречихи красностебельной составила ±3.733%.

Валидацию методики проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» Государственной фармакопеи РФ XV издания по показателям: специфичность, линейность, прецизионность.

Специфичность методики оценивали по соответствуию максимумов поглощения экстракта из гречихи красностебельной травы и раствора стандартного образца хлорогеновой кислоты (рис. 2). Линейность методики определяли для серии аналитических проб с концентрацией суммы гидроксикоричных кислот от 16 до 74 мг/мл. По полученным данным построили график зависимости значений оптической плотности раствора извлечения от концентрации хлорогеновой кислоты, а затем рассчитали уравнение линейной регрессии (рис. 4). Коэффициент корреляции составил 0.9849.

Прецизионность методики (уровень повторяемости) оценивали путем анализа исследуемого образца гречихи красностебельной в 5-кратной повторности при одинаковых условиях. Согласно полученным результатам среднее значение составило 2.840%, ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 3.437\%$.

Для оценки внутрилабораторной прецизионности количественный анализ спиртового экстракта проводился другим аналитиком в другие дни с использованием того же оборудования пятикратно (табл. 4). Выявлено, что ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет не более 3.2% при определении суммы гидроксикоричных кислот методом спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту. Следовательно, дисперсии результатов анализа обоих химиков статистически эквивалентны и различия между полученными значениями являются случайными.

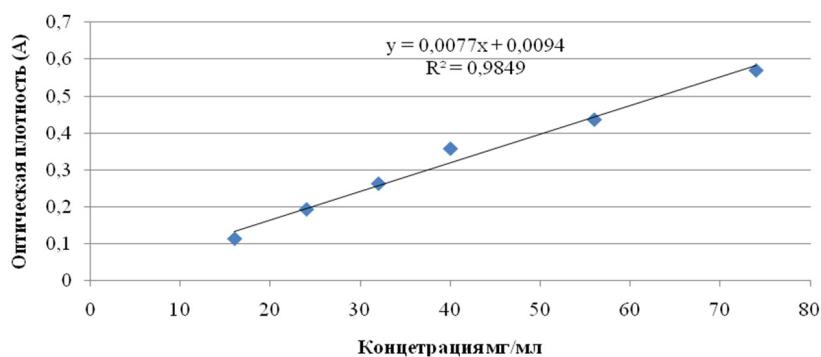


Рис. 4. Зависимость значений оптической плотности проб от содержания суммы гидроксикоричных кислот в гречихи красностебельной траве

Таблица 4. Валидационная оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения суммы гидроксикоричных кислот в гречихи красностебельной траве ($P=95$; $n=5$)

Аналитик 1		Аналитик 2	
C, %	Метрологические характеристики	C, %	
2.79	X, % = 2.830	X, % = 2.710	2.62
2.72	S ² = 0.005	S ² = 0.004	2.68
2.88	S = 0.071	S = 0.067	2.74
2.85	ΔX, % = 0.062	ΔX, % = 0.059	2.80
2.89	ε, % = 3.120	ε, % = 3.160	2.70

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии систематической ошибки разработанной нами методики и позволяют предложить ее для количественного определения суммарного содержания гидроксикоричных кислот в гречихи красностебельной траве в пересчете на хлорогеновую кислоту.

С помощью разработанной методики были проанализированы четыре образца биологически активной добавки (БАД) к пище «Гречиха красностебельная. Кульсово & Мамадыш» производства ООО «Парофарм» серии: 0423; 1223; 0324; 1124. Суммарное содержание гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту варьировало от 2.87 ± 0.04 – $3.14 \pm 0.02\%$.

Заключение

В результате проведенной тонкослойной хроматографии было доказано наличие гидроксикоричных кислот в экстрактах травы гречихи красностебельной. Разработана методика количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в экстрактах гречихи методом спектрофотометрии после твердофазной

очистки с использованием удельного показателя (497) хлорогеновой кислоты при 330 нм. Определено содержание гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в водно-спиртовых экстрактах гречихи красностебельной травы, которое варьировало от 1.67 ± 0.04 – 3.04 ± 0.06 . Установлены оптимальные параметры экстракции гидроксикоричных кислот из травы гречихи красностебельной: экстрагент-спирт этиловый 40%, соотношение «сырье-экстрагент» 1 : 50 и продолжительность 30 мин при температуре 90 °C.

Проведена валидационная оценка разработанной методики. На основе результатов валидационной оценки эксперимента можно сделать вывод о возможности использования данной методики для количественного определения содержания гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в сырье гречихи красностебельной. Полученные результаты имеют важное значение для дальнейших исследований гречихи красностебельной в качестве потенциального источника биологически активных соединений.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств гранта Российского научного фонда, проект № 24-25-20155.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Феднина А.С., Макарцева М.Г., Курдюков Е.Е., Моисеева И.Я., Елистратов Д.Г., Митищев А.В. Современное состояние исследований химического состава некоторых представителей рода *Fagopyrum* // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2023. Т. 26, №9. С. 27–32. <https://doi.org/10.29296/25877313-2023-09-04>.
2. Гудкова А.А., Перова И.Б., Эллер К.И., Чистякова А.С., Сливкин А.И., Сорокина А.А. Фенольные соединения в траве горца почечуйного, произрастающего в Воронежской области // Химико-фармацевтический журнал. 2020. Т. 54, №3. С. 37–41. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-3-37-41>.
3. Березина Е.В., Рыбин Д.А., Сухова А.А., Сёмин А.А., Мишукова И.В., Брилкина А.А. Сравнительный анализ содержания фенольных соединений в тканях и клетках голубики щитковой *Vaccinium corymbosum* в условиях *in vivo* и *in vitro* // Химия растительного сырья. 2024. №3. С. 129–137. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20240313979>.
4. Li J., Yang P., Yang Q. Analysis of flavonoid metabolites in buckwheat leaves using UPLC-ESI-MS/MS // Molecules. 2019. Vol. 24. 1310. <https://doi.org/10.3390/molecules24071310>.
5. Rui J., Hua-Qiang L., Chang-Ling H. Phytochemical and Pharmacological Profiles of Three *Fagopyrum* Buckwheats // International Journal of Molecular Sciences. 2016. Vol. 17. 589. <https://doi.org/10.3390/ijms17040589>.
6. Hacı Y., Yabancı N., Çağdaş M. Buckwheat: A Useful Food and Its Effects on Human Health // Current Nutrition & Food Science. 2020. Vol. 16. Pp. 29–34. <https://doi.org/10.2174/1573401314666180910140021>.
7. Subhash B., Gulab Y., Raghavendra S. Production technology and multifarious uses of buckwheat (*Fagopyrum* spp.): A review // Indian Journal of Agronomy. 2019. Vol. 63. Pp. 415–427.
8. Магафурова Ф.Ф., Хуснутдинов В.В. Предварительные результаты селекции на повышение урожайности у гибридных комбинаций гречихи с высоким содержанием рутина // Вестник КрасГАУ. 2022. №9. С. 27–32. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-9-27-32>.
9. Моисеева И.Я., Гизингер О.А., Митищев А.В. Перспективы применения витаминно-минерального комплекса Мемо-Вит в профилактике и комплексной терапии различных видов деменции // Врач. 2024. Т. 35, №5. С. 37–44. <https://doi.org/10.29296/25877305-2024-05-06>.
10. Компанцева Е.В., Саушкина А.С., Айрапетова А.Ю. Определение гидроксикоричных кислот в растительном сырье спектрофотометрическим методом Часть 2. Определение гидроксикоричных кислот в присутствии полифенольных соединений (обзор) // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2024. Т. 14, №2. С. 196–206. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-196-206>.
11. Денисенко Т.А., Вишнико А.Б., Цыганок Л.П. Спектрофотометрическое определение суммы фенольных соединений в растительных объектах с использованием хлорида алюминия, 18-молибодифосфата и реактива Фолина-Чокальтеу // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19, №4. С. 373–380. <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.4.012>.
12. Шейхмагомедова П.А., Попова О.И. Идентификация фенольных соединений и разработка методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia*

- Benth.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022. Т. 25, №12. С. 44–50. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-12-07>.
13. Куркин В.А., Рязанова Т.К. Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации лекарственных препаратов элеутерококка колючего // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2022. Т. 11, №3. С. 152–161. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-152-161>.
 14. Компанцева Е.В., Айрапетова А.Ю., Саушкина А.С. Определение гидроксикоричных кислот в растительном сырье спектрофотометрическим методом. Часть 1. Прямая спектрофотометрия (обзор) // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2024. Т. 14, №2. С. 181–195. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-181-195>.
 15. Санникова Е.Г., Попова О.И., Компанцева Е.В., Фролова О.О. Изучение фенолкарбоновых кислот побегов ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе // Фармация и фармакология. 2015. Т. 3, №2(9). С. 13–17. [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2015-3-2\(9\)-13-17](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2015-3-2(9)-13-17).
 16. Дворникова Л.Г., Турецкова В.Ф. Изучение состава фенольных соединений столбиков с рыльцами кукурузы, заготовленных на Алтае // Химия растительного сырья. 2013. №2. С. 127–134.
 17. Терлецкая В.А., Лукашов Р.И. Сравнительный Анализ содержания биологически активных веществ в извлечениях из травы яснотки белой и яснотки крапчатой // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: сборник научных трудов X Международной научно-практической конференции молодых ученых. М., 2022. С. 290–294. https://doi.org/10.52101/9785870191058_290.
 18. Лавшук В.В., Лукашов Р.И. Влияние ультразвука на эффективность экстракции гидроксикоричных кислот из одуванчика лекарственного корней // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. 2019. №4. С. 199–203.
 19. Курдюков Е.Е., Правдинцева О.Е., Семенова Е.Ф. Сравнительный анализ отечественного и импортного сырья стевии по содержанию суммы фенилпропаноидов // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2023. Т. 22, №2. С. 230–234. <https://doi.org/10.37903/vsgma.2023.2.31>.
 20. Государственная фармакопея РФ. XV изд. М., 2023. URL: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/?PAGEN_1=5

Поступила в редакцию 30 января 2025 г.

После переработки 18 марта 2025 г.

Принята к публикации 21 марта 2025 г.

Mitishev A.V.^{1}, Kurdyukov E.E.¹, Makartseva M.G.¹, Moiseyeva I.Ya.¹, Bibik Ye.Yu.² THE METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE AMOUNT OF HYDROXYCINNAMIC ACIDS IN BUCKWHEAT RED-STEMMED GRASS*

¹ Penza State University, st. Krasnaya, 40, Penza, 440026, Russia, span2361@rambler.ru

² Lugansk State Medical University named after St. Luke, 50th Anniversary of the Defense of Lugansk, 1g, Lugansk, 291045, Russia

Red-stemmed buckwheat grass is registered in the territory of the Russian Federation as a biologically active food additive as a source of flavonoids. In addition to flavonoids, buckwheat raw materials contain hydroxycinnamic acids, which make a significant contribution to its pharmacological activity. Buckwheat extracts and dietary supplements based on them have antioxidant, cardioprotective, hypoglycemic, and nootropic effects. However, there is insufficient information in the domestic literature on the standardization of raw materials of red-stem buckwheat, in this regard, the purpose of this study is to identify, develop and validate a technique for the quantitative determination of hydroxycinnamic acids contained in the aboveground part of red-stem buckwheat. According to the results of qualitative identification by thin-layer chromatography, water-alcohol extracts of buckwheat grass contained hydroxycinnamic acids. The maximum absorption of extracts was observed at a wavelength of 330 nm, which corresponded to the maximum absorption of a solution of a standard sample of chlorogenic acid. Based on the data obtained, the quantitative determination of the amount of hydroxycinnamic acids was carried out in terms of chlorogenic acid. The optimal extraction parameters were determined: extractant – 40% ethyl alcohol, the ratio of "raw material - extractant" 1 : 50;

* Corresponding author.

extraction time is 30 minutes, the multiplicity of extraction is single. Validation of the methodology has been carried out. Four samples of red-stem buckwheat grass produced by Parafarm LLC were analyzed using the developed methodology. The content of the sum of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid varied from 2.87 ± 0.14 – $3.14 \pm 0.22\%$. The results obtained indicate that this technique can be used to standardize medicinal raw materials of red-stem buckwheat.

Keywords: red-stem buckwheat, quantitative determination, spectrophotometric method, hydroxycinnamic acids, chlorogenic acid.

For citing: Mitishev A.V., Kurdyukov E.E., Makartseva M.G., Moiseyeva I.Ya., Bibik Ye.Yu. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 4, pp. 195–203. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250416859>.

References

1. Fednina A.S., Makartseva M.G., Kurdyukov Ye.Ye., Moiseyeva I.Ya., Yelistratov D.G., Mitishev A.V. *Voprosy biologicheskoy meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2023, vol. 26, no. 9, pp. 27–32. <https://doi.org/10.29296/25877313-2023-09-04>. (in Russ.).
2. Gudkova A.A., Perova I.B., Eller K.I., Chistyakova A.S., Slivkin A.I., Sorokina A.A. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2020, vol. 54, no. 3, pp. 37–41. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-3-37-41>. (in Russ.).
3. Berezina Ye.V., Rybin D.A., Sukhova A.A., Somin A.A., Mishukova I.V., Brilkina A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2024, no. 3, pp. 129–137. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20240313979>. (in Russ.).
4. Li J., Yang P., Yang Q. *Molecules*, 2019, vol. 24, 1310. <https://doi.org/10.3390/molecules24071310>.
5. Rui J., Hua-Qiang L., Chang-Ling H. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, vol. 17, 589. <https://doi.org/10.3390/ijms17040589>.
6. Haci Y., Yabancı N., Çağdaş M. *Current Nutrition & Food Science*, 2020, vol. 16, pp. 29–34. <https://doi.org/10.2174/1573401314666180910140021>.
7. Subhash B., Gulab Y., Raghavendra S. *Indian Journal of Agronomy*, 2019, vol. 63, pp. 415–427.
8. Magafurova F.F., Khusnutdinov V.V. *Vestnik KrasGAU*, 2022, no. 9, pp. 27–32. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2022-9-27-32>. (in Russ.).
9. Moiseyeva I.Ya., Gizinger O.A., Mitishev A.V. *Vrach*, 2024, vol. 35, no. 5, pp. 37–44. <https://doi.org/10.29296/25877305-2024-05-06>. (in Russ.).
10. Kompantseva Ye.V., Saushkina A.S., Ayrapetova A.Yu. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primene-niya. Regulyatornyye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv*, 2024, vol. 14, no. 2, pp. 196–206. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-196-206>. (in Russ.).
11. Denisenko T.A., Vishnichenko A.B., Tsyanok L.P. *Analitika i kontrol'*, 2015, vol. 19, no. 4, pp. 373–380. <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.4.012>. (in Russ.).
12. Sheykhmagomedova P.A., Popova O.I. *Voprosy biologicheskoy meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2022, vol. 25, no. 12, pp. 44–50. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-12-07>. (in Russ.).
13. Kurkin V.A., Ryazanova T.K. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2022, vol. 11, no. 3, pp. 152–161. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-152-161>. (in Russ.).
14. Kompantseva Ye.V., Ayrapetova A.Yu., Saushkina A.S. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornyye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv*, 2024, vol. 14, no. 2, pp. 181–195. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-181-195>. (in Russ.).
15. Sannikova Ye.G., Popova O.I., Kompantseva Ye.V., Frolova O.O. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2015, vol. 3, no. 2(9), pp. 13–17. [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2015-3-2\(9\)-13-17](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2015-3-2(9)-13-17). (in Russ.).
16. Dvornikova L.G., Turetskova V.F. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2013, no. 2, pp. 127–134. (in Russ.).
17. Terletskaya V.A., Lukashov R.I. *Sovremennyye tendentsii razvitiya tekhnologiy zdo-rov'yeshcheniya: sbornik nauchnykh trudov X Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh*. [Modern Trends in the Development of Health-Saving Technologies: Collection of Scientific Papers of the X International Scientific and Practical Conference of Young Scientists]. Moscow, 2022, pp. 290–294. https://doi.org/10.52101/9785870191058_290. (in Russ.).
18. Lavshuk V.V., Lukashov R.I. *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2019, no. 4, pp. 199–203. (in Russ.).
19. Kurdyukov Ye.Ye., Pravdivtseva O.Ye., Semenova Ye.F. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii*, 2023, vol. 22, no. 2, pp. 230–234. <https://doi.org/10.37903/vsgma.2023.2.31>. (in Russ.).
20. *Gosudarstvennaya farmakopeya RF. XV izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed.]. Moscow, 2023. URL: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/?PAGEN_1=5 (in Russ.).

Received January 30, 2025

Revised March 18, 2025

Accepted March 21, 2025

Сведения об авторах

Митищев Александр Владимирович – старший преподаватель кафедры общей и клинической фармакологии, span2361@rambler.ru

Курдюков Евгений Евгеньевич – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры общей и клинической фармакологии, e.e.kurdyukov@mail.ru

Макарцева Марина Геннадьевна – студент, makartsevamm@mail.ru

Моисеева Инесса Яковлевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей и клинической фармакологии, moiseeva_pharm@mail.ru

Бибик Елена Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фундаментальной и клинической фармакологии, helen_bibik@mail.ru

Information about authors

Mitishev Aleksandr Vladimirovich – Senior Lecturer, Department of General and Clinical Pharmacology, span2361@rambler.ru

Kurdyukov Evgeny Evgenievich – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of General and Clinical Pharmacology, e.e.kurdyukov@mail.ru

Makartseva Marina Gennadyevna – Student, makartsevamm@mail.ru

Moiseeva Inessa Yakovlevna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor, Department of General and Clinical Pharmacology, moiseeva_pharm@mail.ru

Bibik Elena Yuryevna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Fundamental and Clinical Pharmacology, helen_bibik@mail.ru