

МИНИСТРЕСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

ГУДКОВА АЛЕВТИНА АЛЕКСЕЕВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
РОДА ГОРЕЦ (*PERSICARIA* MILL.) КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО
ИСТОЧНИКА ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук

Научный консультант:
доктор фармацевтических наук,
профессор Сорокина Алла Анатольевна

Москва - 2020

Содержание

Введение	7
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	17
1.1. Ботанико – фармакогностическая характеристика видов рода <i>Persicaria</i> Mill.	17
1.2. Общая характеристика семейства <i>Polygonaceae</i> Juss.....	17
1.3. Общая характеристика рода горец <i>Persicaria</i> Mill.	20
1.4. Ареал распространения представителей рода <i>Persicaria</i> Mill.....	22
1.5. Особенности морфологического строения представителей рода <i>Persicaria</i> Mill.	25
1.6. Особенности анатомического строения представителей рода <i>Persicaria</i> Mill.	33
1.7. Химический состав и особенности стандартизации представителей рода <i>Persicaria</i> Mill.	35
1.8. Фармакологическое действие и применение	40
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	44
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВИДОВ РОДА <i>PERSICARIA</i> MILL.	60
3.1. Сравнительное изучение морфологических особенностей представителей рода <i>Persicaria</i> Mill. (стереомикроскопия)	60
3.1.1. Морфологические особенности представителей ряда <i>Amphibiae</i> Kom... 61	61
3.1.2. Морфологические особенности растительного сырья представителей ряда <i>Persicariaeformes</i> Kom.	63
3.1.3. Морфологические особенности представителей ряда <i>Lapathiiformes</i> Worosch.	63
3.1.4. Морфологические особенности представителей ряда <i>Hydropiperiformes</i> Kom.....	66
3.2. Изучение морфологического строения видов рода <i>Persicaria</i> Mill.	

с помощью люминесцентной микроскопии	68
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	73
ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВИДОВ РОДА <i>PERSICARIA</i> MILL.	75
4.1. Определение оптимальных условий пробоподготовки для микроскопического анализа растительного сырья	75
4.2. Изучение анатомических особенностей высушенной травы видов рода <i>Persicaria</i> Mill.	80
4.3. Исследование анатомических особенностей свежезаготовленной травы видов рода <i>Persicaria</i> Mill.	83
4.3.1. Анатомическое строение горца земноводного (наземная форма) <i>Persicaria amphibia</i> var. <i>terréstris</i> Delarbre	85
4.3.2. Анатомическое строение горца земноводного (водная форма) <i>Persicaria amphibia</i> Гран	86
4.3.3. Анатомическое строение горца шероховатого <i>Persicaria scábra</i> Moldenke	87
4.3.4. Анатомическое строение горца щавелелистного <i>Persicaria lapathifólia</i> Delarbre	88
4.3.5. Анатомическое строение горца узловатого <i>Persicaria nodósa</i> Opiz	90
4.3.7. Анатомическое строение горца войлочного <i>Persicaria tomentósa</i> E.P. Bicknell	93
4.3.8. Анатомическое строение горца перечного <i>Persicaria hydropiper</i> Delarbre	95
4.3.9. Анатомическое строение горца малого <i>Persicaria mínor</i> Opiz	98
4.3.10. Анатомическое строение горца почечуйного <i>Persicaria maculosa</i> S.F. Gray	100
4.4. Исследование главной жилки листа (поперечный срез) видов рода горец <i>Persicaria</i> Mill.	104
4.5. Анатомическое изучение стебля видов рода горец <i>Persicaria</i> Mill. (на примере горца почечуйного <i>Persicaria maculosa</i> Gray)	111

4.6. Петиолярная анатомия как способ идентификации видов рода <i>Persicaria</i> Mill.	113
4.7. Изучение влияния измельченности на вариабильность диагностических признаков (на примере горца почечуйного).....	122
4.8. Использование перспективных методов для микроскопического анализа растительного сырья	124
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	131
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ПЕРВИЧНОГО ОБМЕНА РАСТЕНИЙ РОДА <i>PERSICARIA</i> MILL.	134
5.1. Определение экстрактивных веществ в изучаемых видах рода <i>Persicaria</i> Mill.	134
5.2. Изучение простых сахаров и полисахаридов в изучаемых видах рода <i>Persicaria</i> Mill.	136
5.3. Изучение аскорбиновой кислоты и витаминов групп В в изучаемых видах рода <i>Persicaria</i> Mill	139
5.4.Изучение профиля аминокислот в изучаемых видах рода <i>Persicaria</i> Mill. .	140
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	150
ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ВЕЩЕСТВ ВТОРИЧНОГО СИНТЕЗА В ПРЕДСТАВИТЕЛЯХ РОДА <i>PERSICARIA</i> MILL.....	153
6.1. Изучение органических кислот в представителях рода <i>Persicaria</i> Mill.....	153
6.2. Изучение фенольных соединений представителей рода <i>Persicaria</i> Mill. ...	158
6.2.1. Изучение гидроксикоричных кислот на примере травы горца почечуйного	159
6.2.2.Содержание дубильных веществ в представителях рода <i>Persicaria</i> Mill.	161
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	166
ГЛАВА 7. ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДНОГО ПРОФИЛЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>PERSICARIA</i> MILL.....	168
7.1. Исследование состава флавоноидов в представителях рода <i>Persicaria</i> Mill. методом ТСХ	168

7.2. Определение содержания флавоноидов в изучаемых видах рода <i>Persicaria</i> Mill. методом спектрофотометрии	170
7.2.1. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве горца почечуйного	170
7.2.2. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве горца щавелелистного.....	178
7.3. Определение содержания суммы флавоноидов в изучаемых видах рода <i>Persicaria</i> Mill.	186
7.4. Исследование профиля флавоноидов видов <i>Persicaria</i> Mill методом ВЭЖХ	190
7.6. Определение флавоноидов в свежей траве горца почечуйного.....	195
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7	203
ГЛАВА 8. ИЗУЧЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА	
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>PERSICÁRIA</i> MILL.....	206
8.1. Изучение элементного состава видов рода <i>Persicária</i> Mill. методом хромато-масс-спектрометрии.....	207
8.2. Микрорентгенспектральный анализ видов <i>Persicaria</i> Mill.	214
8.3. Определение содержание кальция и магния в водном извлечении на примере травы горца почечуйного	216
8.3.1. Разработка методики количественного определения кальция и магния в траве горца почечуйного	218
8.2.2. Валидация комплексометрической методики определения кальция и магния.....	221
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 8	227
ГЛАВА 9. ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВИДОВ РОДА <i>PERSICARIA</i> MILL. (НА ПРИМЕРЕ <i>PERSICARIA</i> <i>MACULOSA</i> GRAY).....	229
9.1. Определение пестицидов, токсичных элементов и радионуклидов.....	230
9.2. Определение присутствия плесневых грибов, микотоксинов и микробиологической чистоты	231
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 9	236

ГЛАВА 10. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ, КАПИЛЛЯРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ЖИДКИХ ЭКСТРАКТОВ ТРАВЫ ГОРЦЕВ ПОЧЕЧУЙНОГО, ЩАВЕЛЕЛИСТНОГО И ПЕРЕЧНОГО	237
10.1. Оценка биологической активности видов рода <i>Persicaria</i> Mill.с помощью веб-ресурса PASS online	237
10.2. Получение и оценка качества жидких экстрактов из травы горца почечуйного и травы горца щавелелистного	239
10.3. Доклинические исследование по оценке гемостатической активности жидкого экстракта травы горца почечуйного и горца щавелелистного	241
10.4. Доклинические исследования по оценке капилляропротекторной активности жидких экстрактов травы горца почечуйного, горца щавелелистного и горца перечного.....	242
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 10	244
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	245
Список используемых сокращений.....	249
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	250
Приложение 1	285
Приложение 2	300
Приложение 3А	309
Приложение 3Б	332
Приложение 4	359
Приложение 5	363
Приложение 6	370
Приложение 7	372
Приложение 8А	383
Приложение 8Б	386
Приложение 9	392

Введение

Актуальность работы. Важной проблемой современной фармацевтической науки является расширение сырьевой базы для получения лекарственных растительных препаратов. Решение этой проблемы заключается в изучении дополнительных растительных источников, представленных близкородственными видами. Растениями, для которых данная проблема актуальна, являются представители рода горец – *Persicaria* Mill. семейства гречишных – *Polygonaceae* Juss., широко распространенные на территории Российской Федерации (РФ).

Семейство гречишных *Polygonaceae* Juss. включает значительное видовое разнообразие и широкий спектр жизненных форм. На количественный состав родов и видов семейства *Polygonaceae* Juss. существуют различные взгляды: П.Ф. Маевский насчитывает около 40 родов и более 800 видов, согласно А.Л. Тахтаджяну - около 30 - 35 родов и более 1000 видов. Единого мнения по поводу номенклатуры семейства гречишные нет и в зарубежных источниках.

В род *Persicaria* Mill. (ранее *Polygonum* L.) в настоящий момент включено **66** видов (по данным информационной базы The Plant List). Официальными видами, разрешенными к медицинскому применению на территории РФ в качестве лекарственных растительных препаратов, а также как растительная субстанция для получения фитопрепаратов, обладающих кровоостанавливающим эффектом, являются горец перечный и горец почечуйный. Трава этих видов включена в Государственную Фармакопею РФ XIV изд. Другие виды рода горец: горец земноводный (наземная и водная формы), горец малый, горец узловатый, горец щавелелистный, горец шероховатый и др., не подлежат заготовке и рассматриваются как возможные примеси.

Официальные и примесные к ним виды горцев крайне сходны в своих морфологических характеристиках. Произрастая в одних фитоценозах, они способны скрещиваться между собой, вызывая дополнительные затруднения при их идентификации в процессе заготовки, в результате чего сборщиками ошибочно собирается сырье других видов горцев. Учитывая, что заготовка сырья (трава) проводится только от дикорастущих растений, а также отсутствие научно-

обоснованных критериев, дающих возможность отличать близкородственные виды горцев, проведение морфолого-анатомических исследований представляет практический интерес.

Кроме того, в настоящее время горцы, близкие к официальным видам (горцам перечному и почечуйному), не применяются в медицинской практике в качестве источников растительного сырья. Все вышеперечисленное указывает на актуальность и перспективность изучения близкородственных видов горцев.

Степень разработанности темы исследования. Фундаментальное изучение семейства гречишных относится к 50-60 г.г. XX в. (работы Самарина Г.И., Беликова А.П., Юрцева О.В.). Известны публикации отечественных и зарубежных ученых (Высочина Г.И., Редкокашин Д.Е., Вагабова Р.А., Юнусходжаева Н. А., Куркина А.В., Smolarz H.D., Ishfad H., Chomenka J., Чистякова А.С. и др.), отражающие результаты изучения биохимических аспектов систематики и филогении представителей семейства гречишных (род *Polygonum* L., и, частично, *Persicaria* Mill.), основной упор поставлен на изучение фенольной фракции биологически активных веществ.

Вместе с тем результаты исследований, представленных в литературе, являются разрозненными и фрагментарными, не дающими целостного представления о составе комплекса фенольных соединений видов рода горец. Другие группы БАВ, входящие в состав низкомолекулярной части метаболома растений наряду с фенольными, и вносящие свой вклад в проявление фармакологической активности, практически не затрагивались для изучения. Отсутствуют данные о составе минерального комплекса, а также особенностях накопления макро- и микроэлементов в горцах. Возможность аккумуляции поллютантов растительным сырьем также до сих пор не оценивалась. Научно обоснованные экспериментальные данные по наличию гемостатической активности изучаемых видов не выявлены.

Цель настоящего исследования - фармакогностическое изучение растений рода горец (*Persicaria* Mill.), характеризующихся близкородственными связями, основанное на сравнительном анализе морфолого-анатомических характеристик и

профиля биологически активных соединений метаболома (на примере растений, произрастающих в Воронежской обл.) и экспериментальное обоснование возможности их использования в качестве лекарственного растительного сырья.

Для реализации поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Проанализировать и обобщить научные и нормативные данные по вопросам ресурсной базы, химического состава, стандартизации и медицинского использования видов рода горец;

2. Провести сравнительное изучение морфолого-анатомических признаков 10 видов сырья горцев, произрастающих на территории Воронежской обл.: горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) для установления идентификационных признаков сырья;

3. Изучить возможность применения перспективных методов микроскопического анализа (петиолярная анатомия, люминесцентная и растровая электронная микроскопия) для идентификации и анализа индивидуальных особенностей изучаемых видов горцев;

4. Провести изучение состава БАВ горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью современных физико-химических методов (ТСХ, СФ, ВЭЖХ-МС, капиллярный электрофорез, хромато-масс-спектрометрия, и др.);

5. Провести сравнительную количественную оценку отдельных групп БАВ среди объектов исследования. Выявить наиболее перспективные виды горцев для получения инновационных лекарственных растительных препаратов;

6. Разработать методики количественного определения отдельных групп БАВ для видов рода горец используемых и перспективных к внедрению в медицинскую практику для включения их в действующую нормативную документацию;

7. Изучить состав и особенности накопления БАВ и минеральных веществ в сырье изучаемых видов горцев на примере фармакопейных и примесных к ним видах горцев;

8. Изучить характеристики безопасности сырья растений рода горец;

9. Изучить возможность использования сырья горцев в качестве фармацевтической субстанции растительного происхождения для получения жидких экстрактов на примере травы горца почечуйного и травы горца щавелелистного;

10. С помощью веб-ресурса PASS-online выявить перспективные виды фармакологической активности для представителей рода горец. В эксперименте на животных провести фармакологический скрининг жидких экстрактов горца почечуйного травы и горца щавелелистного травы.

Новизна исследования и полученных результатов. Впервые проведен системный анализ морфолого-анатомических признаков 10 видов рода горец. Предложены оптимальные условия пробоподготовки микроскопического анализа, и получены новые сведения, позволяющие установить диагностические признаки видов. Впервые предложено использовать картину поперечного среза медиальной части черешков листьев в качестве идентификатора вида, по типу «отпечатков пальцев». Впервые показана возможность использования люминесцентной и растровой электронной микроскопии в морфолого-анатомическом исследовании горцев. Все выявленные диагностические особенности визуализированы и документально подтверждены микрофотографиями, представленными в работе и публикациях.

С помощью современных физико-химических методов (СФ, ВЭЖХ-МС, капиллярный электрофорез, хромато-масс-спектрокопия, и др.) впервые получены научно обоснованные данные о химическом составе горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы). Впервые проведен сравнительный анализ комплекса биологически активных соединений (БАВ) травы растений рода

горец. Выявлены соединения, выступающие хемотаксономическими маркерами. Дана их качественная характеристика и количественная оценка, для чего разработаны и валидированы методики, адаптированные к изучаемому сырью. Предложены показатели, характеризующие содержание БАВ в траве горца почечуйного и траве горца щавелелистного (содержание экстрактивных веществ и флавоноидов). Впервые проведено изучение характеристик подлинности и химического состава свежезаготовленной травы горца почечуйного. Установлен состав минерального комплекса. Получены, охарактеризованы и установлены нормы качества жидких экстрактов горца почечуйного травы и горца щавелелистного травы. Впервые методом компьютерного моделирования, *in silico* установлены приоритетные направления фармакологического скрининга, возможные побочные эффекты и токсическое действие 10 изучаемых видов горцев в зависимости от состава фенольного комплекса БАВ. В результате эксперимента *in vivo* впервые экспериментально установлено наличие выраженной капилляропротекторной активности жидких экстрактов (1:1) травы горцев почечуйного, щавелелистного и перечного и гемостатической активности слабой степени выраженности жидкого экстракта горца почечуйного травы. Научная новизна выполненного исследования подтверждена патентом РФ (№2605855, 28.01.2015) и положительным решением по заявке на получение патента РФ (№ 2019115706, 22.05.2019).

Теоретическая значимость. Изученные в работе виды рода горец, относящиеся к ряду *Lapathiiformes* перспективны к внедрению в медицинскую практику в качестве лекарственного растительного сырья наряду с горца почечуйного и горца перечного травой. Это дополнительно способствует решению проблемы фармацевтической науки, направленной на видовое расширение сырьевой базы для получения новых лекарственных растительных препаратов за счет использования близкородственных видов.

Проведенные комплексные исследования показали целесообразность объединения представителей рода горец ряда *Lapathiiformes* в цикл полиморфных

видов, который перспективен к внедрению в медицинскую практику в качестве лекарственного растительного сырья.

Значимость полученных автором результатов для науки и практики.

Полученные автором экспериментальные данные, позволили выявить маркерные характеристики, определяющие подлинность 10 видов рода горец: горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) по морфологическим и анатомическим признакам, а также с помощью петиолярной анатомии, люминесцентной и растровой микроскопии. На основе предлагаемой в работе пробоподготовки свежего растительного сырья сформулирован проект изменений к ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Получены новые сведения по составу метаболома 10 видов горцев. На основе проведенных исследований, разработаны 5 проектов фармакопейных статей, предоставленные в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, что является важным для регистрации неофицинальных видов рода горец и внедрения их в медицинскую практику. Сформулированные рекомендации по идентификации изучаемых видов по морфолого-анатомическим признакам, отражены в монографии «Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.».

Основные положения, выдвигаемые на защиту:

- Результаты изучения морфологических признаков травы горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью стереомикроскопии, люминесцентной микроскопии и растровой электронной микроскопии;
- Результаты анатомического изучения травы горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного,

горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью классического микроскопирования и петиолярной анатомии;

- Результаты сравнительного изучения состава метаболома травы горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью современных физико – химических методов анализа;
- Результаты изучения состава минерального комплекса травы 10 видов горцев;
- Результаты определения безопасности применения представителей рода горец;
- Результаты проведения фармакологического скрининга жидкого экстракта горца почечуйного травы и горца щавелелистного травы на наличие гемостатической и капилляропротекторной активности.

Методология и методы исследования. Методология исследования базируется на анализе литературных данных, оценке степени изученности и актуальности темы исследования. Теоретическую основу исследования составили труды российских (Комаров В.Л., Высочина Г.И., Ворошилов В.Н., Вагабова Р.А., Редкокашин Д.Е., Куркина А.В., Чистякова А.С. и др.) и зарубежных (Smolarz H.D., Chomenka J, Ishfad H., Лукина I. А., F. Steinmetz E., Linda J., Akeroyd J. R. и др.) исследователей, работы которых были направлены на решение проблем таксономии, идентификации видов и изучение химического состава и фармакологических свойств отдельных представителей рода горец. В качестве объектов в работе использовали образцы травы представителей семейства *Polygonaceae* Juss. (гречишные) рода *Persicária* Mill. (горец), рядов *Amphibiae* Kom., *Hydropiperiformes* Kom., *Persicariaeformes* Kom., *Lapathiiformes* Worosch, заготовленные в Воронежской области в период с 2014 по 2018 гг. В работе были применены современные физико-химические методы: хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), хромато-масс-спектрометрия, спектрофотометрия (СФ), титриметрия, а также иммунно-ферментный анализ, микробиологические методы и др. Изучение морфолого-анатомических особенностей проводили с помощью метода прямой

микроскопии в проходящем и отраженном свете (стереомикроскопия, люминесцентная микроскопия) и растровой электронной микроскопии. Оценку фармакологической активности проводили согласно руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Для валидации разработанных методик и статистической обработки результатов использовали ОФС.1.1.0012.15 «Валидация фармакопейных методик» и ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» ГФ РФ XIII и XIV изд.

Достоверность научных положений и выводов. Полученные в ходе выполнения экспериментальной работы результаты, выводы и практические рекомендации базируются на достаточном количестве исследований, выполненных на сертифицированном оборудовании, имеющем свидетельства о поверке, достоверность исследований подтверждается большим количеством табличного материала, микрофотографиями и рисунками. Разработанные методики валидированы, полученные результаты статистически обработаны, согласно требованиям действующей нормативной документации с помощью программы «Microsoft Excel 2010». Проработан достаточный объем литературных источников отечественных и иностранных авторов.

Апробация работы. Основные результаты исследования доложены на конференциях: 5-ая Всероссийская с междунар. участием научно-метод. конф. «Фармобразование - 2013» (Воронеж, 2013); III, IV и V научно-практич. конф. «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 2015, 2016, 2017); VII и VIII научно-практич. конф. «Актуальные вопросы оценки безопасности применения лекарственных средств» (Москва, 2016, 2017); 6-ая междунар. научно-метод. конф «Фармобразование - 2016» (Воронеж, 2016), 7-ая междунар. научно-метод. конф. «Фармобразование - 2018» (Воронеж, 2018), междунар. науч. конф. "Перспективы лекарственного растениеводства" (Москва, 2018), научно-практич. конф. «IV Гаммермановские чтения 2019» (Санкт-Петербург, 2019), междунар. XXIII конгресс Phytopharm 2019 (Санкт-Петербург, 2019). Апробация диссертационной работы прошла на совместном заседании кафедр

фармацевтической химии и фармацевтической технологии, фармакологии; управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ 26.06.2019 г. и на научной межкафедральной конференции кафедры фармацевтического естествознания и кафедры химии Института Фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 20.12.2019 г.

Личный вклад автора. Автором проведен выбор научного направления, выполнена основная часть экспериментальных исследований, обоснованы и обобщены полученные экспериментальные данные. Результаты научных исследований опубликованы, ведущая роль в подготовке и написании научных трудов с соавторами принадлежит автору. Внедрение результатов диссертационного исследования осуществлено автором.

Внедрение результатов исследования. Проведенные исследования послужили основой для разработки фармакопейной статьи (ФС) «Горца почечуйного трава», которая включена в ГФ РФ XIV изд., а также проектов ФС: «Горца почечуйного трава свежая», «*Polygoni persicariae* L. herbae, *Persicaria* - Настойка гомеопатическая матричная», «Горца щавелелистного трава», «Горца почечуйного экстракт жидкий», «Горца щавелелистного экстракт жидкий» (проекты ФС направлены в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). Разработаны проекты «Инструкция по заготовке и сушке горца щавелелистного травы», «Инструкция по заготовке и сушке горца почечуйного травы». Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии, кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, при подготовке курсов повышения квалификации по направлению «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» фармацевтического факультета Воронежского государственного университета, кафедры ботаники и микологии медико– биологического факультета Воронежского государственного университета, а также стали основой для написания монографии А.А. Гудковой, А.С. Чистяковой, А.А. Сорокиной

«Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.»).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3, 5, 6 и 7 паспорта специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «ВГУ» Министерства науки и высшего образования РФ по научной проблеме «Стандартизация и оценка качества некоторых представителей рода *Polygonum* L., а также лекарственных растительных препаратов на их основе» (номер государственной регистрации СП-2086.2018.4).

Публикации. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, частично опубликованы в 62 печатных работах, в том числе, 19 статьях в журналах списка ВАК, 2 работы в журналах базы данных Scopus, 2 патента на изобретение РФ, а также включены в монографию: «Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.» (Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2019.).

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа включает 10 глав, изложенных на 450 страницах печатного текста, проиллюстрирована 122 рисунками (в т.ч. микрофотографиями), содержит 65 таблиц и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, использованных в работе, 8 глав собственных экспериментальных исследований, общих выводов, списка литературы, представленного 288 источниками (в т.ч. 80 на иностранном языке), и приложений (164 стр.).

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Ботанико – фармакогностическая характеристика видов рода *Persicaria* Mill.

Семейство гречишные принадлежит к отделу *Magnoliophyta* (*Angiospermae*), классу *Magnoliopsida* (*Dicolydones*), подклассу *Caryophyllidae*, надпорядку *Polygonanae*, монотипному порядку Гречихоцветные (*Polygonales*) [194, 207].

1.2. Общая характеристика семейства *Polygonaceae* Juss.

Представители порядка гречихоцветные это травы или кустарники с листьями по большей части простыми, снабженными у основания сухими или травянистыми раструбами; характерны цветки циклические однопокровные или двупокровные, долей околоцветника 3—6, тычинок 6—9, редко более или менее; завязь верхняя одногнездная односемянная, плод орешек [194, 207].

Семейство гречишные представлено травами и кустарниками, распространенными повсеместно, образующими, зачастую, обширные заросли. Характерной особенностью листьев является очередное расположение, зачастую цельная листовая пластинка (реже листья лапчатые и/или разрезные), в большинстве случаев со стеблеобъемлющими пленчатыми или травянистыми прилистниками (раструбами) и сравнительно мелкими, скученными в колосовидные, кистевидные или метельчатые соцветия цветками.

Цветки циклические, однопокровные с переходами к двупокровным правильные, обоеполые или раздельнополые, листочков околоцветника 3—6, тычинок 6—9, редко более или менее, в некоторых случаях наблюдается частичное их удвоение; плодолистиков 3 или 2, редко 4, столбиков также 2—4; плод орешек; с обильным мучнистым эндосперм обильный, мучнистый, зародыш прямой, иногда согнутый [194, 207]. В семействе гречишных выделяют 3 подсемейства в зависимости от строения эндосперма и расположению околоцветника: шавелевые (*Rumicoideae*), гречишные (*Polygonoideae*), эригоновые (*Erigoideae*) и кокколобовые (*Coccoloboideae*), для которых

характерно нециклическое строение околоцветника [93, 167]. Среди учёных существуют различные взгляды количество видов и родов семейства гречишные, кроме того, нет единого мнения, касающегося количества видов и родов внутри семейства. Миркин Б.М. [85, 109] насчитывает 50 родов и 800 видов, Маевский П.Ф. - около 40 родов и более 800 видов [99, 100, 185], согласно Тахтаджяну А.Л. около 30-35 родов и более 1000 видов [167, 246]. В работах зарубежных ученых также ведутся споры по поводу номенклатуры родов и видов данного семейства [227, 246]. Согласно данным источников [207, 224] выделяют 48 родов и около 1200 видов.

Одни из первых работ по изучению семейства гречишные, под руководством К. Haraldson, 1978 посвящены включению представителей современного рода горец *Persicaria* Mill. в трибу *Persicarieae*, вместе с *Bistorta*, *Aconogonon*, *Koenigia*, основываясь на изучении анатомо-морфологических признаков.

Дальнейшее подробное изучение морфологических особенностей представителей семейства влекло за собой изменение систематики семейства (Цвелев Н.Н., 1993) [197]. В семействе были выделены естественные роды, которые вошли в три таксономических ранга (трибы): *Polygoneae*, *Persicarieae* Dumort., и *Coccoiobae* Dumort. подсемейства *Polygonoideae*, данное разделение подтвердилось исследованиями Высочиной Г.И. [30].

Во "Флоре Сибири" (т. 5) Н.Н. Тупициной и Л.И. Кашиной (1992) отмечено 13 родов семейства *Polygonaceae*. Роды *Bistorta*, *Persicaria*, *Knorringia*, *Aconogonon*, *Polygonum*, *Fallopia* ранее находились в составе рода *Polygonum* L. s. [30].

Согласно современным исследованиям, семейство гречишковые включает 10 родов: *Rhéum* L. (Ревень), *Rúmex* L. (Щавель), *Persicária* Mill. (Горец), *Bistórta* Scop. (Змеевик), *Aconogónon* (Meisn.) Reichb. (Таран), *Fagopyrum* Mill. (Гречиха), *Polýgonum* L. (Спорыш), *Reynouútria* Houtt. (Рейнүтрия), *Fallópia* Adans. (Гречишка), *Atrapháxis* L. (Курчавка) [100].

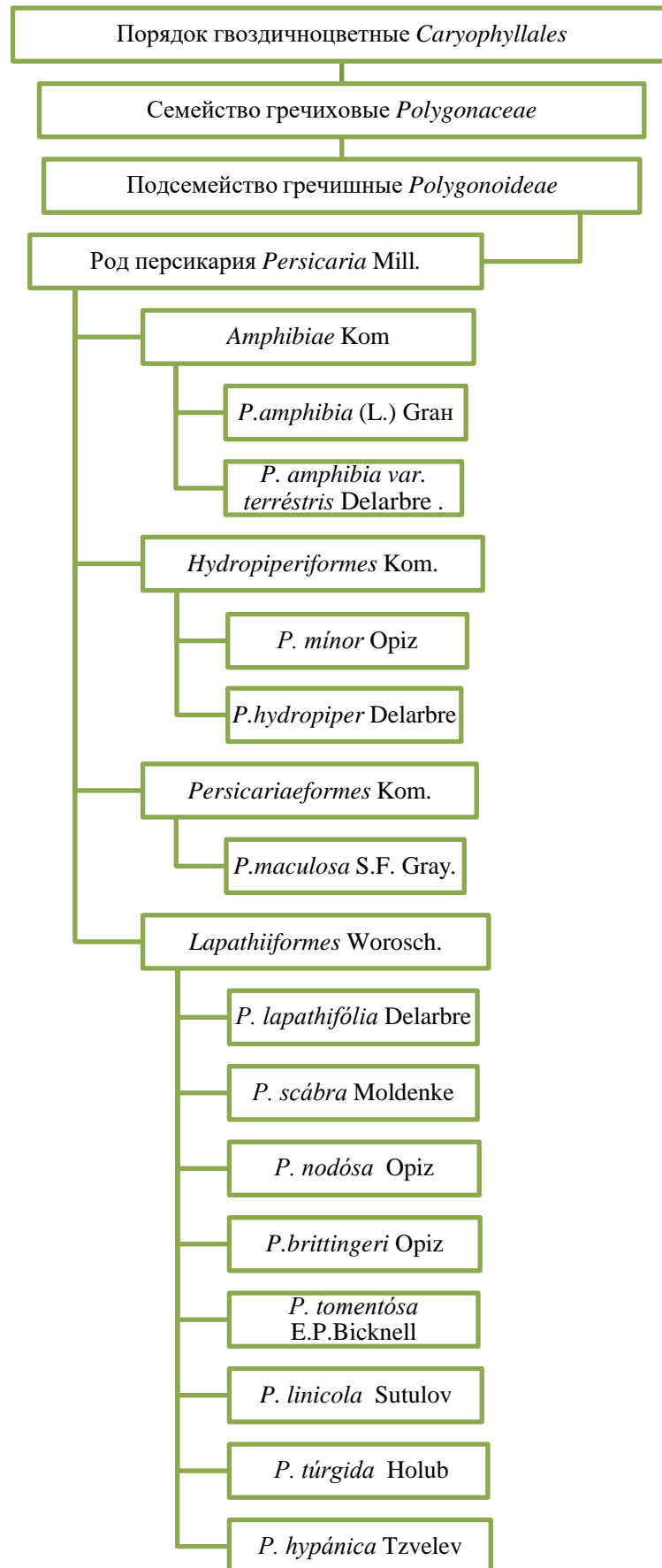


Рисунок 1 - Классификация видов рода *Persicaria* Mill. [194,167]

1.3. Общая характеристика рода горец *Persicaria* Mill.

Род горец *Persicaria* (smartweeds) был основан Миллером в 1754 году [227], ранее растения данного рода были включены в род *Polygonum* L. и, в результате критико-систематической таксономической ревизии, связанной с изменением таксономических критериев и объемом накопленной информации, было уточнено название рода и часть представителей вошли в род *горец*, включающий как однолетние, так и многолетние виды, у некоторых из них жизненный цикл длится несколько недель [101].

По территории РФ и соседних стран (Черепанов, 1995) было выделено 27 видов (рисунок 1) и 2 подвида, отнесенных к *P. lapathifolia* (L.) S.F. Gray [30].

В роду горец выделены сильно ксерофилизированные формы, которые встречаются на территориях с влагодефицитом (пустыни и полупустыни), засоленными почвами. В род включены как гигрофильные растения (горец перечный *P. hydropiper* (L.) Spach.), так и виды с широкой экологической амплитудой (горец щавелелистный *P. lapathifolium* L.), вплоть до вида горец земноводный (*P. amphibium* L.), который представлен двумя формами, водной (*var. amphibium*) и наземной (*var. terrestre*) [101].

В источнике “Флора СССР” (т. 5, 1936), виды секции *Persicaria* рода *Polygonum* L., разделены на 7 рядов. Н.Н. Цвелёвым (1987, 1989) разработана новая систематика *Persicaria* Mill. [31, 197], на примере дальневосточных видов, где были выделены 4 секции: *Persicaria*; *Truelloides* Tzvel.; *Amblygonon* (Meissn.) Tzvel.; *Amphibia* Tzvel. [30].

Кроме того, в работах В.Л. Комарова виды рода *Persicaria* Mill. были отнесены к ряду *Persicariaeformes* Ком. А позже, В.Н. Ворошилов (1953) внес поправки, выделив в дополнительный ряд *Lapathiiiformes* Worosch. горец щавелелистный *Polygonum lapathifolium* L. (Syn. *P. nodosum* Pers. горец узловатый), горец войлочный *P. tomentosum* (Syn. *P. incanum* Schmidt. горец серый), горец шероховатый *P. scabrum* Schranck (Syn. *P. tomentosum* auct. Fl.

Sib., *P. tomentosum* var. *viride* Kryl.), после чего в ряду *Persicariaeformes* сохранился один вид – *P. persicaria* L. (горец почечуйный)[30].

До сих пор нет единого мнения среди отечественных и зарубежных ученых, касающегося обособленного существования видов ряда *Lapathiiformes*. Подробная систематизация данных о классификации видов рода горец представлена в работах Высочиной Г.И. [30, 31].

Изначально, под наименованием *Polygonum lapathifolium* L. (К. Линней) понималась совокупность трёх видов – *Polygonum tomentosum*, *P. nodosum* и *P. linicola* Sutulov, что отражено в работах Комарова В.Л., Высочиной Г.И. В.Н. Ворошиловым (1953) перечисленные виды рассматривались как самостоятельные. М.Г. Попов (1959) считал горец щавелелистный (*P. lapathifolium*) синонимом горца войлочного (*P. tomentosum*) [26, 30, 31].

P. lapathifolium считался сборным видом во “Flora Europaea” (1964), который включал *P. scabrum*, *P. nodosum*, *P. tomentosum*, *P. linicola*. М.М. Иванова (1979) объединяет *P. scabrum*, *P. nodosum*, *P. tomentosum* под названием *P. lapathifolium*, указывая на полиморфизм последнего и характерное для этого вида различие в количестве трихом листьев и варьирующей от белой до розовой окраски околоцветника [30].

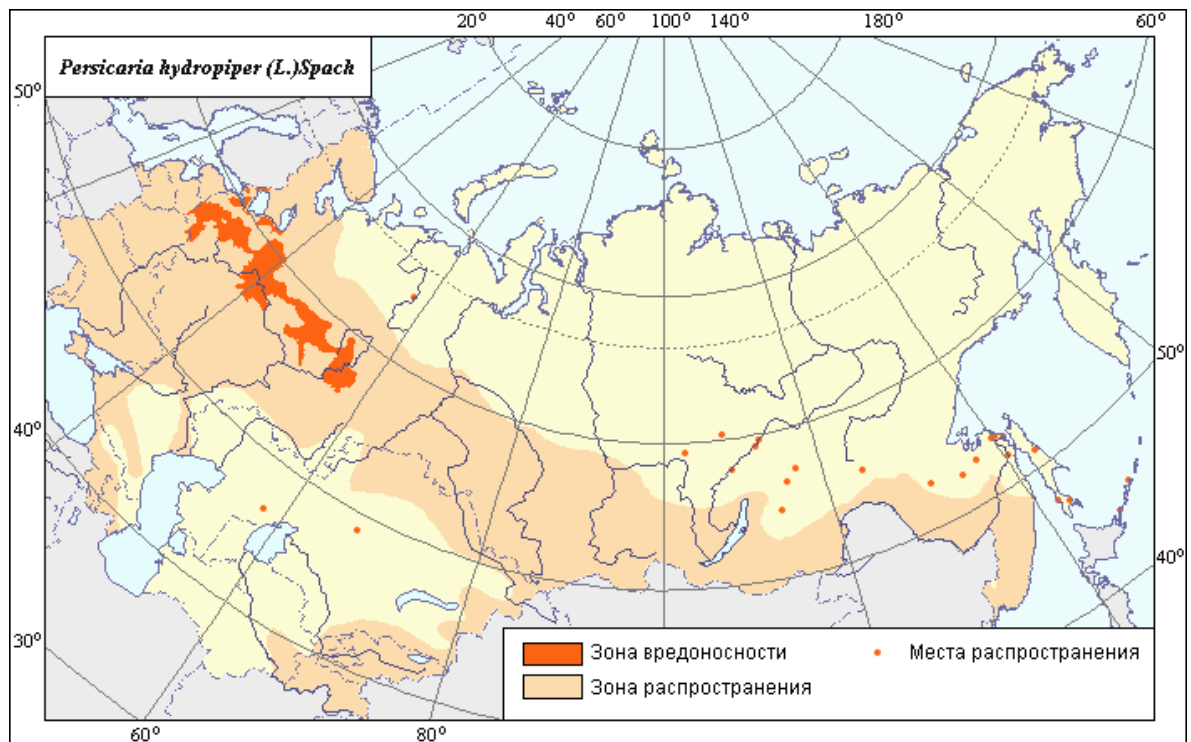
Согласно Н.Н. Цвелёва (1989), а позднее Л.И. Кашина (1992) и Н.Н. Тупицына, признают вероятность существования горца шероховатого *P. scabra* (Moench) Mold. (Syn. *Polygonum tomentosum* auct. non Schrank, *P. incanum* F.W. Schmidt) наряду с *Persicaria lapathifolia* (L.) S.F. Gray, [30].

В настоящее время, род *Persicaria* Mill. включает ряд *Amphibiae* Kom., включающий *P. amphibia* (L.) Gran. (водная и наземная формы), ряд *Hydropiperiformes* Kom., куда отнесены *P. hydropiper* (L.) Delarbre, *P. minor* (Huds.) Opiz. и др., ряд *Persicariaeformes* Kom., где присутствует один вид – *P. maculosa* S.F. Gray [30, 194], ряд *Lapathiiformes* Worosch. [26], куда относятся *P. lapathifolia* (L.) Delarbre, *P. tomentosa* (Schrank) E.P. Bicknell *P. scabra* (Moench) Moldenke, *P. brittingeri* Opiz, *P. hypánica* Tzvelev, *P. túrgida* Holub, *P. linicola* Nenukow ex Büscher et G.H. Loos. и др. [3, 197, 229, 235, 245]. На вариабильность

видов данного рода обратили внимание Ghazalah Yasmin [226], указавший, что род содержит около 120 видов. Согласно современной базе данных The Plant List, род горец насчитывает 66 видов [282]. Виды данного ряда крайне сходны в своих морфологических характеристиках, кроме того, все представители рода способны скрещиваться между собой, что вызывает дополнительные затруднения при их идентификации [31, 168].

1.4. Ареал распространения представителей рода *Persicaria* Mill.

Ареал произрастания большинства горцев локализован в Европейской части России и стран бывшего СССР, Дальнем Востоке, южной Сибири и в Азии, на Северном Кавказе, а также некоторые виды произрастают в Румынии, Северной Америке и Великобритании [65, 74, 207, 234, 241, 256, 285], странах Восточной Азии (Японии, Тайвани, Китае, Корее), Непале и Индонезии (рисунок 2).



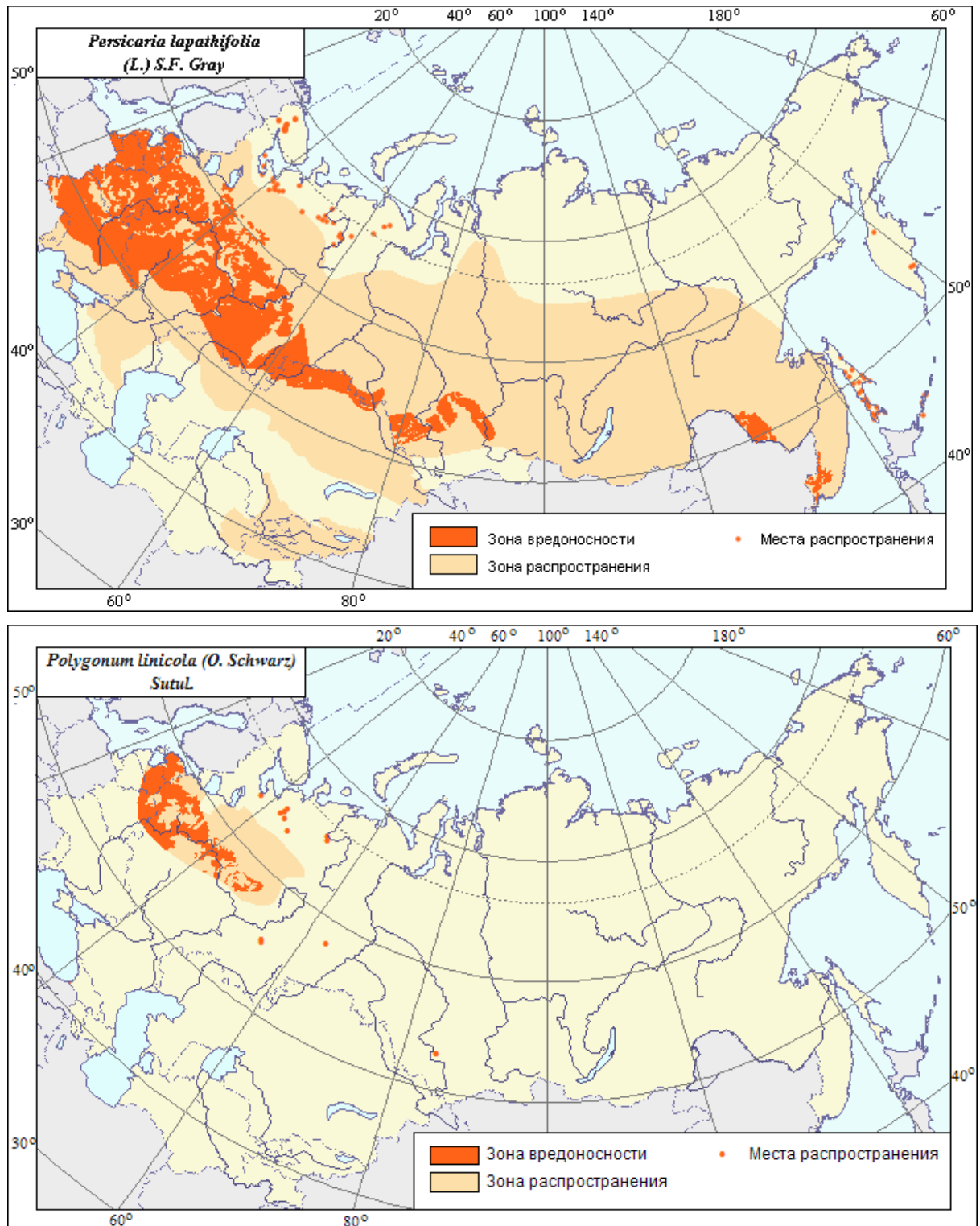


Рисунок 2 - Ареал распространения некоторых представителей рода *Persicaria* Mill. [7, 8, 74, 79, 112, 156, 202, 203]

На территории Европейской части РФ виды горцев образуют смешанные заросли и зачастую, в момент заготовки официального сырья (травы горца почечуйного и горца перечного) сборщиками ошибочно собирается трава горца

щавелелистного и др. Большинство растений рода горец являются сорняками, которые произрастают повсеместно, не имеют определенного местообитания, селятся преимущественно на влажных территориях [186], оврагах, низинах, заболоченных местах, заливных лугах, вдоль берегов водоемов, около жилья [106, 139, 186, 279]. Более подробно распространение представителей рода *Persicaria* Mill. представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Распространение некоторых представителей рода *Persicaria* Mill. [7, 8, 74, 79, 112, 156, 202, 203]

Название растения	Распространение
Г. земноводный Willow Grass, Water knotweed, Longroot smartweed, Water smartweed (водяная гречиха, щучья трава) (рисунок 3)	Арктика, Средняя Азия, Кавказ, Европейская часть, Западная и восточная Сибирь, дальний Восток, водная форма в медленно текущих или стоячих водоемах, часто образует большие заросли [7, 8, 250].
Г. почечуйный, Spotted ladythumb [268] (рисунок 4)	Европейская часть РФ и странах бывшего СССР, в горах и побережье Северного Кавказа, Дальний Восток, юг Сибири (1930 г), Алтайский край [94, 132, 136], Армения; Азербайджан; Грузия; Средняя Азия, а также в Румынии, Великобритании, Северной Америке [74, 207, 268, 278, 285], Восточная Азия, Непал и Индонезия.
Г. шероховатый (рисунок 5.)	Европейская часть, Дальний Восток, Кавказ, Западная Сибирь, Восточная Сибирь, Средняя Европа, Средиземноморье, Иран, Монголия, Северная Америка. На сорных местах, по пашням, на песках, по водоемам среди лугов.
Г. щавелелистный, горец развесистый, curlytop knotweed (кудрявый горох) [267] (рисунок 6)	Европейская часть, Дальний Восток, Западная и Восточная Сибирь, Кавказ,. По берегам водоемов, канавам, кюветам, дорогам, пустырям, полям
Г. Бриттингера (рисунок 7)	Европейская часть, Западная и Восточная Сибирь, Дальний Восток, Кавказ,. По берегам водоемов, канавам, кюветам, дорогам, пустырям, полям
Г. узловатый (рисунок 8)	Европейская часть, Дальний Восток, Западная Сибирь, Восточная Сибирь, Кавказ, Средняя Европа, Средиземноморье, Индостан –Гималаи, Япония, Китай. На влажных пашнях, по канавам у

	дорог, садам, по берегам озер, оснований в воде
Г. войлочный (рисунок 9)	Европейская часть, Западная и Восточная Сибирь, Дальний Восток, Кавказ. По берегам водоемов, канавам, кюветам, дорогам, пустырям, полям
Г. малый <i>small water-repper, small smartweed, rugmy smartweed, spotted lady's thumb and kesum</i> [258, 260] (рисунок 10)	По сырым лугам, берегам водоемов, проселочным дорогам, канавам, во всех областях Европейской части России, Кавказ, Западная Сибирь, Восточная Сибирь, Средняя Азия, Дальний Восток.
Горец перечный. Вид широко известен как болотный перец <i>smartweed</i> или водяной перец и также называется <i>la liao</i> в Китае, <i>bishkatali</i> или <i>rakarmul</i> в Бангладеш, и <i>daun senahun</i> в Малайзии (рисунок 11)	распространяется по всему миру и нашли родные в умеренных и тропических странах Азии, в том числе Западной Азии, Кавказа, Сибири, Средней Азии, Дальнего Востока, Китая, Восточной Азии, на полуострове Индостан, Индо-Китай, и Малишия; Европы, таких как Северная Европа, средняя Европа, Восточная Европа, Юго-Восточной Европе и Юго-Восточной Европы; Северной Африки и Австралии. Растение, как правило, произрастает на влажных участках у водоемов и на болотах и обычно преобладает на сельскохозяйственных полях. Он также обыкновенно распределен к местам нагорья с сильно органическими, влажными, или илистыми областями [240, 247].
Г. льняной	В посевах льна. Европейская часть, Западная Сибирь.
Г. тучный	Европейская часть, Западная и Восточная Сибирь, Дальний Восток, Кавказ. По берегам водоемов, канавам, кюветам, дорогам, пустырям, полям
Г. мягкий	Европейская часть России. По сырым лугам, чаще на глинистой почве, по канавам, в ольшаниках, по сырым кустарниковым зарослям, берегам ручьев.

1.5. Особенности морфологического строения представителей рода *Persicaria* Mill.

Обобщенные данные по морфологическим признакам представителей рода горец, представлены в таблице 2.

Виды рядов *Hydropiperformes* и *Amphibiae* имеют специфические характеристики, позволяющие их легко узнать в местах произрастания. Виды рядов *Lapathiiformes* и *Persicariaformes* имеют похожие морфологические

признаки, что затрудняет их идентификацию как между собой, так и внутри ряда, что особенно актуально для ряда *Lapathiiiformes*, куда включены виды, ранее не выделенные в отдельные (см. п. 1.2.).

Таблица 2 - Основные морфологические характеристики представителей рода горец [3, 74, 99, 100, 207, 223, 268, 285]

Морфологический орган	Описательная характеристика												
		<i>P. maculosa</i>	<i>P. linicola</i>	<i>P. scabra</i>	<i>P. lapathifolia</i>	<i>P. hydropper</i>	<i>P. minor</i>	<i>P. tomentosa</i>	<i>P. brittingeri</i>	<i>P. amphibia ter.</i>	<i>P. amphibia</i>	<i>P. nodosa</i>	<i>P. turgida</i>
Лист	Ланцетный	+	+	+	+	+	+	+		+	+		
	Узколанцетный		+										
	Яйцевидно-ланцетный			+	+				+				
	Широколанцетный								+				
	Продолговатый			+		+				+		+	
	Овально-продолговатый									+			
	Округлый						+			+			
	Яйцевидный												+
	Ромбический								+				
	Широкоэллиптический				+								
	Туповатый	+	+	+		+			+				
	Острый или заостренный	+	+			+						+	
	Сердцевидный										+		
	Усеченный										+		
	Трихомы по поверхности	+		+									
	Голый	+	+		+		+				+		
	Войлочный		+	+				+	+	+			
	Железки		+	+	+	+						+	
	Наличие темного пятна	+		+	+		+	+	+	+	+	+	+
	Отсутствие темного пятна		+				+	+			+		
	Длинночерешковый			+							+		
	Короткочерешковый	+									+		
	Сидячий	+											
	Трихомы по краю	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
Жгучий вкус					+								
Стебель	Прямостоячий	+	+	+	+	+	+			+		+	
	Лежачий			+			+				+		
	Восходящий				+	+	+		+		+		
	Распростертый	+			+	+			+		+		
	С утолщением в узлах	+		+	+						+	+	

	С придаточными корнями в узлах											+		
	Красноватый				+	+							+	
	Ветвистый			+			+					+	+	+
	Низкий							+	+					+
	Опушенный	+									+			
	Гладкий		+					+				+		
	Приподнимающийся				+									+
	Железистый в верхней части				+	+			+					
Раструб	Голый	+		+	+	+							+	
	Опушенный			+	+		+	+		+	+	+		
	Реснички	+	+	+		+	+	+				+	+	
	Железистые волоски	+			+								+	
	Узкие		+											
	Железки						+							
Цветок	Околоцветник скрывает плод	+			+	+		+						+
	Околоцветник открывает плод		+	+					+					
	Розовый	+	+		+		+	+	+			+	+	
	Белый	+	+				+					+		
	Желто-зеленый		+	+		+								+
	Красный			+		+		+						+
	Кистевидное соцветие	+		+		+	+	+					+	
	Колосовидное соцветие							+			+	+		
	Метельчатое соцветие				+									+
	Железки		+	+	+	+		+	+					
	Толстые соцветия	+		+	+			+	+			+	+	+
	Узкие соцветия						+							
Плод	Трехгранный	+					+							
	Чечевицеобразный	+					+						+	
	Черный	+	+		+	+	+					+	+	
	Гладкий	+	+											
	Блестящий	+	+				+					+		
	Плоский	+			+									
	Двойковыпуклый	+					+							
	Округлый		+	+										
	Яйцевидный	+	+		+									
	Сплюснутый		+	+									+	
	Шероховатый						+							
	Двугранный											+		

Многие ученые сошлись во мнении, что основной характеристикой растений данного ряда, которая их отличает друг от друга, позволяя выделять в отдельные виды, является не только форма, но и размер плодов, однако, некоторые считают, что этот параметр на самом деле, во многом зависит от

воздействия на растения окружающих факторов. Бриттон утверждает, что железки на цветоносах и околоцветниках менее многочисленны у горца узлового. В литературе также имеются разногласия о возможности использования в качестве диагностического признака количества железок.



Рисунок 3 - Внешний вид наземной (А, Б) и водной формы горца земноводного (В) [251]



Рисунок 4 - Внешний вид горца почечуйного: А – внешний вид растения, Б – соцветие, В, Г – раструб [254, 255]



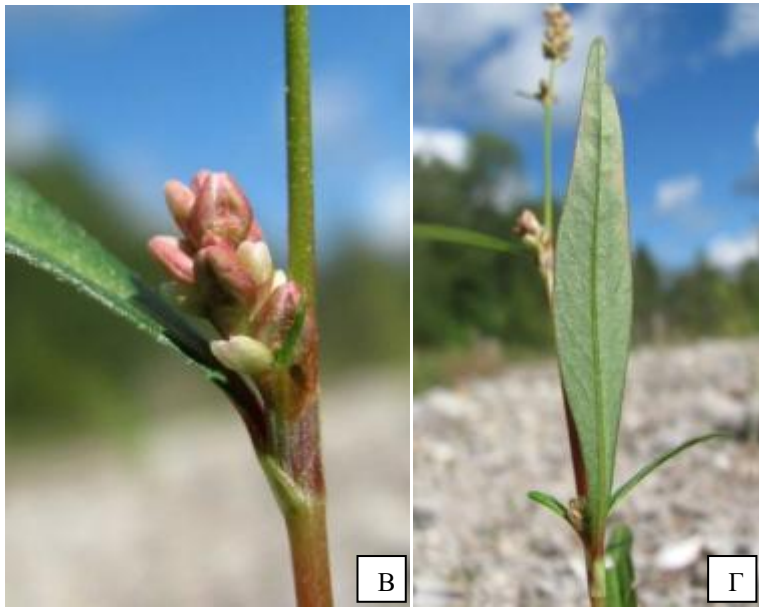


Рисунок 5 - Внешний вид горца шероховатого: А, Б – внешний вид растения, В – соцветие, Г - нижняя сторона листа [261]

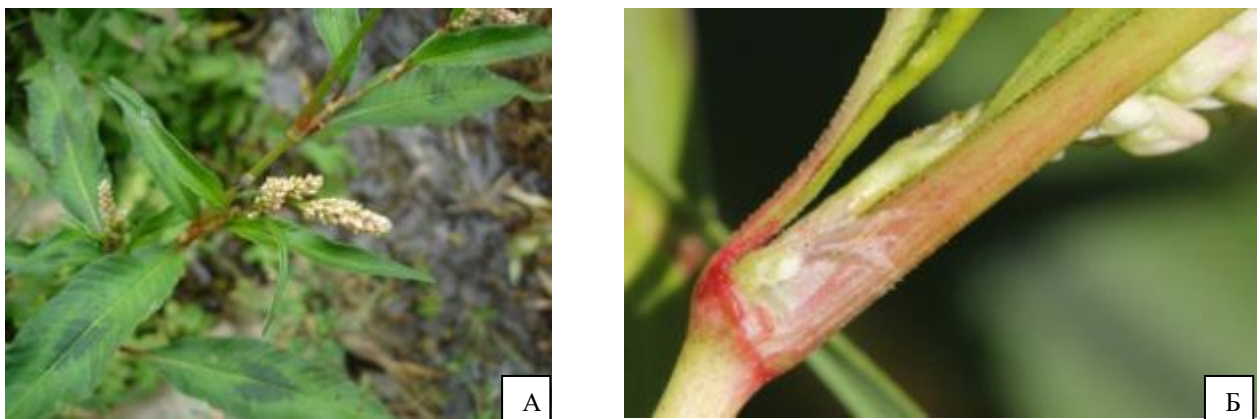


Рисунок 6 - Внешний вид горца щавелелистного: А – внешний вид растения, Б – раструб [253]



Рисунок 7 - Внешний вид горца Бриттингера



Рисунок 8 - Внешний вид горца узловатого: А, Б – внешний вид растения, В, Г, Д – раструб [260]



Рисунок 9 - Внешний вид горца войлочного [261]



Рисунок 10 - Внешний вид горца малого: А – внешний вид растения, Б – нижняя сторона листа, В – раструб [258, 259]



Рисунок 11 - Внешний вид горца перечного: А – внешний вид растения, Б – раструб [252]

Тутин (1952) использует понятие «редко железистые цветоносы» против «цветоносов» плотно железистых, чтобы отделить горец щавелелистный от горца узловатого соответственно. Тутин также утверждает, что у горца щавелелистного есть «листья с затонувшими прозрачными железами внизу», в то время как горец узловатый имеет «листья с золотыми железками внизу». Мосс (1914) и Дейви (1909) рассматривают присутствие красных пятен на стебле как характерный для горца узловатого, и Персон в своем первоначальном описании дает стебель как пятнистый [284]. Стебли всех представителей рода имеют узлы, в некоторых случаях довольно сильно вздутые и содержат много крахмала. Отечность узлов некоторые авторы предлагают использовать как идентификационный признак, однако, многие считают это результатом произрастания на влажных территориях. Пленчатые перепонки, известные как раструбы, которые характерны для семейства гречишные имеет небольшую таксономическую ценность в разрезе рода горец, в котором находится горец щавелелистный. Считается, что реснички раструба у горца почечуйного длиннее, чем у горца щавелелистного [284].

1.6. Особенности анатомического строения представителей рода

***Persicaria* Mill.**

Все представители рода горец имеют сходный набор анатомических признаков. К таковым относятся устьица аномоцитного типа, наличие железок с двухклеточной или четырехклеточной (редко) ножкой и 4 (горец перечный) - 12 выделительными клетками (горец почечуйный), железки увеличиваются в своих размерах при расположении от верхушки к черешку листа (у горца почечуйного). Вместилища схизогенного типа (с бесцветным содержимым у всех представителей, кроме горца перечного, у которого вместилища желтовато-бурого цвета), друзы оксалата кальция крупные и многочисленные. Пучковые волоски (простые волоски, сросшиеся у основания) характерны для всех представителей [221, 288]. Пучковые волоски у горца почечуйного и горца малого [224] располагаются как по краю, так и всей поверхности листа, у горца перечного

по краю и жилкам листа проводящая система имеет спиральный тип утолщения [12, 13, 53, 70, 150, 164, 201].

Достаточно сложно идентифицировать представителей близкородственных видов. Например, при сравнительном анализе травы горца почечуйного и горца шероховатого можно визуализировать незначительные отличия: у горца шероховатого – железки преимущественно с нижней стороны листа, поверхность раструба голая или с паутинистым опушением, в то время как у горца почечуйного прижато - волосистая. Так же отличается и плод – у горца шероховатого сжатый с боков, с обеих сторон с углублениями, а у горца почечуйного трехгранный, чечевицеобразный, без углублений [12]. Представители данного рода могут отличаться между собой не только по наличию и строению, но и количеству и расположению железок, трихом, вместилищ и друз оксалата кальция. Для данного рода не характерно наличие призматических кристаллов оксалата кальция (рисунок 12) [241]. Анатомическое строение стеблей представителей рода горец (*Persicaria capitata*, *Persicaria emodi*, *Persicaria glabra*, *Persicaria hydropiper* и *Persicaria maculosa*) было изучено Manju Sahney and Vibhasa (2013).

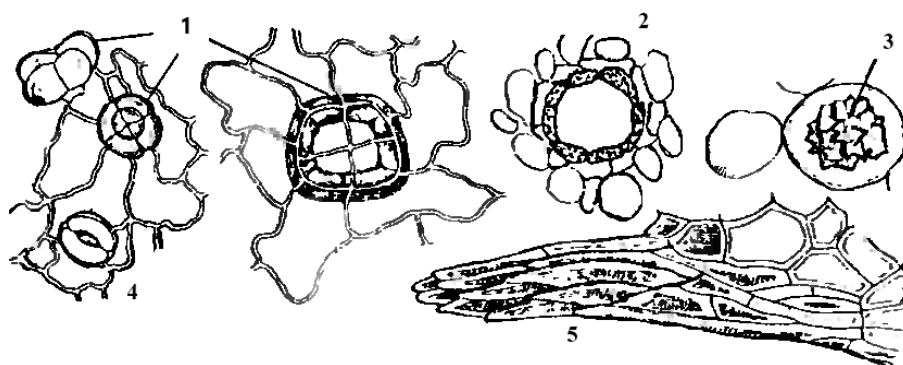


Рисунок 12 - Характерные диагностические признаки рода горец: 1 – секреторные железки, 2 - секреторные схизогенные вместилища, 3 – друзы оксалата кальция, 4 – устьица аномоцитного типа, 5 – пучковые волоски

Основными особенностями выделены наличие колленхиматозной гиподермы, склеренхиматозного перицикла, внутриксиллярной флоэмы в

некоторые из сосудистых пучков и наличие одного или нескольких участков межфазной флоэмы, которые являются общими для видов [271, 280, 288].

Большое значение для диагностики представителей рода горец играет строение плода. Орешки мелкие, образованные тремя плодолистиками. Толщина экзокарпа варьируется от 50 до 120 мк. Поверхность редко гладкая, часто с ямками вдоль клеточных стенок или с антиклинальными стенками покрыта бугорками [229].

В работе [283] установлено, что феномен полиморфизма плодов у данного рода практически отсутствует. На одном растении, по мере его развития, могут возникать орешки трех форм по строению. К осени больше преобладают орешки треугольной формы.

Авторы работы [266] предложили идентификацию видов данного рода по строению пыльцевых зерен, но в комплексе с морфолого – анатомическим, цитологическим анализом, а также с учетом и географического распределения видов рода. В основном для представителей рода характерно наличие двух типов пыльцевых зерен, пантопоратного (в основном характерно для видов умеренного климата) и триколпатного типа. Средний диаметр пыльцевых зерен рода составлял в диапазоне 17,5 - 51 мкм. Пыльцевые зерна радиально симметричны. Все пантопоратные пыльцевые зерна сфероидальные по форме, а в триколпатной пыльце полярный контур круглый и экваториальный от сфероидального до вытянутого сфероидального.

1.7. Химический состав и особенности стандартизации представителей рода *Persicaria* Mill.

Из 61 вида горцев встречающихся на территории бывшего СССР, кроме видов, включенных в фармакопею (горца перечного, почечуйного, птичьего, змеиного) в 60 – 70 гг XX века были изучены подробно и другие виды [93, 192]: *P. alpinum* All., *P. amphibium* L., *P. coriarium* Grig., *P. divaricatum* L., *P. lapathifolium* L., *P. viviparum* L., *P. weyrichii* Fr. Schmidt. Виды рода горец включают в себя соединения фенольной природы, эфирные масла, разные группы

витаминов, органические кислоты, полисахариды, аминокислоты, минеральные соединения [34, 186, 192, 286]. Плоды богаты жирным маслом, подземные органы некоторых видов содержат оксиметилантрахиноны. При этом, все перечисленные соединения довольно равномерно распределены во всех органах растения.

Изучением химического состава представителей рода горец занимались ученые как из России, так и зарубежных стран (Узбекистана [247], Литвы [225], Польши [275], Пакистана [239], Украины [4], Беларуси, Азербайджана [273]. Особое внимание при этом уделяется изучению флавоноидов, являющихся основной группой соединений представителей изучаемого рода [30, 244]. Для их выделения из растительного сырья учеными предложен ряд методов, в т.ч. экстракция спирто – водными смесями (70, 80% спиртом этиловым) [82, 225], а также, извлечение флавоноидов после осаждения борной кислотой или свинца ацетатом [143].

При изучении распределения флавоноидов, на примере травы горца почечуйного, установлено, что надземная часть содержит авикулярин, гиперозид, кверцетин; листья - кверцетин, гиперин, изокверцетин, цианидин, дельфинин; плоды – гиперин, рутин, кверцетин, два флавоно-3-гликозида, 5,7-дигидрооксихромон, кемферол, кверцетин, гиперин, 3-галактозид, кемпферол; лепестки цветов – цианидин-3-рутинозид [23, 68, 231].

Высочинной Г.И. [30] методом двухмерной хроматографии на бумаге исследованы флавоноиды многих представителей семейства гречишных, отмечено, что все виды различаются между собой по составу и комбинациям флавоноидов в растениях внутри семейства и родов, а также, делятся на две группы по наличию антраценпроизводных. Основными флавоноидами, встречаемыми в растениях, авторы выделяют кемферол, кверцетин, лютеолин и их гликозиды. Отличительной особенностью горца земноводного является присутствие мирецетина и нескольких его гликозидов, отсутствующих в других видах, что, по мнению автора, показывает отсутствие межвидовой гибридизации. Кроме того, ученые установили, что флавоноиды играют важную роль в приспособлении к изменению условий окружающей среды. Специфическими

соединениями флавоноидного состава горца перечного являются рамнетин и изорамнетин, благодаря содержанию которых горец перечный вынесен в отдельный ряд, что подтверждено и зарубежными учеными [247]. Также, в работе описано присутствие в траве горца перечного скутелярина, тамариксетина-3-О-β-глюкозид-7-сульфата, производных гидроксиапигенина, гидроксилитеолина, диметилкверцетина [73, 206, 247].

Главной особенностью горца щавелилистного является присутствие гликозидов кемпферола и кверцетина, которые ацилированы галловой кислотой. В работе Г.И. Высочинной также приводится информация, что в горце восточном, кроме флавоноидов, характерных для большинства видов рода *Persicaria*, выявлены С - гликозиды - витексин, ориентозид, ориентин, гомоориентин, изоориентин, а также полиметирированные флавоноиды, что по мнению авторов, сближает род горец с родом змеевик. Также в работе отмечено, что для других представителей рода горец такие соединения не обнаружены [30]. Данные исследования позволяют считать качественный состав флавоноидов уникальным хемотаксономическим признаком.

Присутствие в различных видах горцев дигидрокверцетина, кверцетина, кемпферола и лютеолина было подтверждено методом ВЭЖХ [32, 33, 34].

Наиболее часто используемым методом количественного определения флавоноидов в различных видах горцев является метод дифференциальной спектрофотометрии. Пересчет суммы флавоноидов, в зависимости от вида горцев будет производиться на разные стандартные соединения: в горце почечуйном осуществляется в пересчете на гиперозид [144], изокверцетрин [92], рутин [68, 82, 231] пиностробин [91]. Пиностробин, а также новое соединение 2',6'-дигидрокси-4,5'-диметоксихалкон были идентифицированы методом ¹H-ЯМР в траве горца перечного [91]. Содержание флавоноидов варьирует от 1,1 [68] до 2,58% [92].

Редкокашиным Д.Е. показано, что максимумы на спектрах поглощения извлечений, полученных спиртом этиловым 70%, наблюдаются при длине волны 267 и 364 нм для горца птичьего, 278 и 350 нм для горца перечного и 270 и 340 нм для горца почечуйного. Для количественного определения, флавоноидов автор

использовал дифференциальную спектрофотометрию, в основу метода положена реакция комплексообразования флавоноидов с раствором хлорида алюминия, определение содержания суммы флавоноидов проводилось в пересчете на гиперозид. Максимумы регистрировались при длине волны 410 нм для горца птичьего и перечного и 405 нм для горца почечуйного, максимальное содержание флавоноидов было характерно для горца перечного (1,47%) [72, 143].

Smolarz H.D. в г. перечном, почечуйном, щавелелистном, войлочном, узловатом, земноводном и малом методом ВЭЖХ идентифицированы таксифолин, мирицетин, изорамнетин, рамнетин дигидрокверцетин, кверцетин, кемферол и лютеолин [275], а также, в траве горца перечного, учеными из Узбекистана впервые был обнаружен лютеолин-3'-О-β-глюкопиранозид [275]. В траве горца почечуйного, произрастающего в Воронежской области выявлено преобладание кемпферола и его гликозидов [193]. Максимальное содержание кверцетина, авикулярина и рамнетина достигается во время цветения [143].

Абдыкаликовой К.А. с соавторами [1] исследованы горцы почечуйный, перечный и птичий. Автором проведено изучение зольности, общей кислотности, аскорбиновой кислоты, дубильных веществ, установлено, что кислотность водного извлечения травы горца почечуйного в 10 раз выше, чем у других объектов, содержание аскорбиновой кислоты в образца горцев примерно одинаково, а количество дубильных веществ превалирует в горце почечуйном.

Состав фенолокислот представлен салициловой, кумаровой, кофейной [274, 277] и хлорогеновой [193, 257].

E. Svircev, N Simin, D Orcic, K Bekvalac, M Franciskovic, F Sibul, N Mimica-Dukic [257] обратили внимание, что существует большая разница в химическом составе, особенно в флавоноидном содержании, между надземной и подземной частями горца почечуйного травы, хотя есть значительное количество галловой и хининовой кислот, как в надземной части, так и в извлечениях из корней.

Кроме фенольных соединений в растениях рода горец методом газовой хроматографии с масс – детектором идентифицированы эритритол, ксилит, сахароза, фруктопираноза, фруктоза, галактопираноза, галловая кислота, 2

соединения антоциановой природы, жирные кислоты, риботимидин и фитостерол, органические кислоты (пироглизиновая кислота и др.) [76]. Тем же методом в эфирном масле травы горца почечуйного, полученного методом Клевенджера, определен 21 компонент, преобладающими являются гексакозан, трикозан и декан [96]. В траве горца малого были обнаружены летучие соединения, среди которых идентифицировано 77 метаболитов, основными алифатическими соединения являются деканал и додеканал, а также ундеканал, тетрадеканал, 1-ундеканол, нонанал, и Р-кариофиллен [210, 287].

В результате ГХМС анализа в траве горцев почечуйного, перечного и малого обнаружены сесквитерпеновые соединения дриманового ряда [227].

В результате подробного изучения аминокислотного состава методами ВЭЖХ и капиллярного электрофореза, установлено присутствие 17 аминокислот, 7 из них являются незаменимыми [4, 69, 71]. Суммарное содержание аминокислот (АК) в траве горца почечуйного, произрастающего в Воронежской области составило 9,5%. Сравнительный анализ аминокислотного состава травы горца перечного и горца почечуйного флоры Украины, Запорожье, методом ВЭЖХ [78, 275] показал, что исследуемые объекты содержат около 15 различных АК, при этом, в траве горца перечного содержание АК выше, чем в горце почечуйном (8,88% и 6,49% соответственно). Нужно отметить, что на количественное содержание АК как индивидуальных, так и в сумме большое влияние оказывает место произрастания объектов. Растения, заготовленные в Запорожье, являются источниками аланина, аргинина, лейцина, изолейцина, лизина. В траве растений, заготовленных в России доминируют совсем иные АК - валин, треонин, серин, фенилаланин и аспарагиновая кислота.

Кровоостанавливающую активность горцев ученые связывают с содержанием в них филлохинона (витамина К). В работе [97, 144] представлены результаты определения витамина К₁ в растениях семейства гречишные методом ВЭЖХ. Наибольшее содержание которого отмечено в горце щавелелистном (1,01 мг/%), далее по содержанию филлохинона следует горец перечный (0,71 мг/%), затем горец шероховатый (0,25 мг/%). Наименьшее содержание филлохинона

характерно для травы горца почечуйного (0,02 мг/%) и горца малого (0,01 мг/%). Ввиду неустойчивости филлохинона при хранении сырья, что было подтверждено авторами при изучении сырья разных лет заготовки, для использования растений семейства гречишные в качестве источника филлохинона, необходимо использовать сырье в течение одного года после заготовки.

Отдельные работы посвящены изучению минеральных компонентов. Методом хромато-масс – спектрометрии в горце почечуйном и горце перечном идентифицировано 56 элементов. Показано, что накопление элементов среди представителей рода не однородно. Наибольшая аккумуляция характерна для Mg, P, K, Ca, Zn, Sr, Ba, Mn [161, 165, 202, 205]. В результате изучения особенностей накопления поллютантов, на примере травы горца почечуйного [199], установлено, что данный вид не концентрирует в себе тяжелые металлы, пестициды и радионуклиды.

1.8. Фармакологическое действие и применение

В народной медицине изучаемые виды горцев используются давно, что связано с широким спектром их фармакологической активности [95, 103].

Горец почечуйный с давних времен известен в медицинской практике. Так, о его лечебных свойствах упоминают Гиппократ, Гален, Диоскорид. Траву горца почечуйного использовали в народной медицине разных стран: Индии, Польше Болгарии, и других странах [103, 132, 141, 172].

Водным извлечениям травы горца почечуйного приписывают кровоостанавливающие свойства, в эксперименте он способен повышать сократительную способность гладкой мускулатуры [186, 279]. Настой применяется для лечения геморроя (в т.ч. проктогенного) [11, 154, 157, 213, 214], как мочегонное при заболеваниях почек и мочекаменной болезни [148, 216, 279]. Водные извлечения, благодаря наличию дубильных веществ используют как вяжущее и противомикробное при диарее, при простудных и венерических заболеваниях. Наружно используют для полоскания ротовой полости при цинге,

как средство ранозаживляющее и дезинфицирующее; свежезаготовленная трава горца почечуйного может применяться вместо горчичников при радикулите, подагре, головной боли, обладают мембранопротекторной и антиоксидантной активностью [17, 103, 157, 201, 219, 286].

При изучении на кроликах водная и спиртовые лекарственные формы горца почечуйного повышают тонус и способствуют усилению моторики кишечника, суживают сосуды, способны повышать свертываемость и вязкость крови (И. И. Сиверцев, Г. И. Самарина). Жидкий экстракт проявляет противовоспалительную активность в экспериментах на крысах [154, 213, 215, 216, 230, 236, 286].

Метанольные извлечения травы горца почечуйного в концентрации 10 мг/мл способны проявлять антибактериальную активность в отношении *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, противогрибковую в отношении *Aspergillus niger* и инсектицидную в отношении *Sitophilus oryzae*, *Rhizopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, и *Callosobruchus analis* [215, 232, 238].

В ряде стран, горец почечуйный считается противораковым средством [9]. В Аргентине применяется для лечения грибковых инфекций кожи [230]. В Бразилии обозначение «сорняк» было приписано некоторым растениям рода горец, широко используемым для лечения паразитозов, в частности трава горца почечуйного. Это наименование было связано с убеждением, что анальные узлы у людей с геморроем были вызваны паразитом, так как часто эти люди страдали от гельминтов, таких как трихоцефалия [157, 220].

В гинекологической практике при фиброматозе матки применяют настой травы горца почечуйного. При болезненных менструациях горец почечуйный проявляет обезболивающее действие. При кольпитах рекомендуют спринцевания настоем горца почечуйного травы [103]. Горца почечуйного экстракт жидкий как кровоостанавливающее средство используется при маточных кровотечениях при отсутствии тонуса, воспалениях матки и придатков, при гиперменорее. Может использоваться для усиления родовой деятельности [232].

Этанольные извлечения из горца малого обладают антибактериальной активностью [212] в отношении *S. aureus*, *E. faecalis* и *E. coli*. Растение

способствует удалению радикалов DPPH для всех тестируемых тканей. Водные и метанольные экстракты листьев проявили ингибирующую активность ацетилхолинэстеразы [270, 287]. Гексановые извлечения дают высокую противомикробную активность против метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) [212, 216, 228].

Метанольное извлечение листьев горца малого тормозит рост колонии штамма бактерии *Helicobacter pylori*, устойчивого к противопротозойным и противомикробным средствам (метронидазолу) [238], обладает гастропротекторными свойствами [264], благодаря антиоксидантным свойствам улучшает когнитивные функции после применения скополамина [219, 237].

Хлороформное и ацетоновое извлечения горца земноводного проявляет антибактериальную активность в отношении *Bacillus subtilis* [249, 263] и умеренную антипролиферативную активность в отношении клеток эпидермоидной карциномы кожи и аденокарциномы молочной железы [263, 279].

Настой и жидкий экстракт травы горца перечного используется в качестве кровоостанавливающего средства при физиологических гиперменореях, слабых кровотечениях после в лечения эрозии шейки матки (посткоагуляционный период) [247]. Гавайские индейцы использовали настои из этого растения для лечения глазных заболеваний, а также как abortивное, так как он способен вызывать выкидыш [247, 272]. Метанольный экстракт обладает антифертильной активностью, вызывает пролиферацию эндометрия и рост фолликулов [216, 232]. Персикарин, изолированный из метанольного экстракта листьев растения обладает нейротропной активностью [243]. Экстракты из корней горца перечного выраженной противомикробной активностью по отношению к грамположительным бактериям *A. flavus*, *Escherichia coli* и *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis*, и активностью против *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigates*, *Candida albicans* и *Saccharomyces cerevisiae* [216, 233, 247, 269, 281]. Метанольный экстракт травы горца перечного показал противопаразитарную активность в отношении взрослых особей *Pheretima posthuma*, а также противоопухолевую активность [211, 247, 269], обладает антиоксидантными

свойствами и снижает активность ацетилхолинэстеразы [206]. Эфирное масло листьев горца перечного показало сильную противобактериологическую деятельность против *Enterococcus faecalis* [216, 218, 269, 281]. Обнаружено, что извлечение, сапонины и эфирное масло горца перечного проявляют противоязвенную активность благодаря высокому содержанию кверцетина [269].

Метанольное извлечение из травы горца щавелелистного обладает антигельминтными и противорвотными свойствами [222], антиоксидантной активностью и способностью ингибировать активность ацетилхолинэстеразы и α-глюкозидазы [279]. Биологический анализ направленной экстракции семян горца щавелелистного показали, что экстракты и выделенные соединения продемонстрировали значительное антибактериальное и противогрибковое действие с самой высокой зоной ингибирования роста против *S. Aureus* штамм бактерий и грибов *Trichoderma spp*s [213, 217, 222, 265].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. В настоящее время имеются не систематизированные, единичные работы, касающиеся отдельных аспектов изучения метаболома представителей рода горец *Persicaria* Mill.

2. Установлено отсутствие системного методического подхода к идентификации представителей рода горец по морфологическим и анатомическим характеристикам.

3. Выявлена необходимость совершенствования нормативной документации, регламентирующей как заготовительный процесс, так и оценку качества лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на его основе.

4. В результате проведенного аналитического исследования литературных источников не выявлено достоверной информации, касающейся подтверждения гемостатической активности травы горца почечуйного, а также установлено, что единственным видом, реализуемым через аптечную сеть в виде ЛРС и ЛРП (жидкий экстракт), является горец перечный, ЛРП на основе остальных видов отсутствуют.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Характеристика объектов исследования

В качестве объектов в работе служили образцы травы следующих представителей семейства *Polygonaceae* Juss. (гречишные) рода *Persicaria* Mill. (горец): *Persicaria maculosa* S.F. Gray (горец почечуйный), *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre (горец щавелелистный), *Persicaria scabra* (Moench) Moldenke (горец шероховатый), *Persicaria nodosa* (Pers.) Opiz (горец узловатый), *Persicaria brittingeri* Opiz (горец Бриттингера), *Persicaria tomentosa* (Schrank) E.P. Bicknell (горец войлочный), *Persicaria hydropiper* (L.) Delarbre (горец перечный), *Persicaria minor* (Huds.) Opiz (горец малый), *Persicaria amphibia* var. *terrestris* (Leyss.) Munshi & Javeid (горец земноводный (наземная форма)), *Persicaria amphibia* (L.) Delarbre (горец земноводный (водная форма)). Идентификацию объектов проводили с использованием определителей растений [100, 167] и гербарных образцов, предоставленных кафедрой микологии и ботаники ФГБОУ ВО ВГУ (таблица 3).

Таблица 3 - Растения рода *Persicaria* Mill. (горец), используемые в работе

№	Виды горцев		Место заготовки
1	горец почечуйный	<i>Persicaria maculosa</i> S.F. Gray	пос. Углянец, Воронежская обл.
2	горец щавелелистный	<i>Persicaria lapathifolia</i> (L.) Delarbre	
3	горец шероховатый	<i>Persicaria scabra</i> (Moench) Moldenke	
4	горец земноводный (наземная форма)	<i>Persicaria amphibia</i> var. <i>terrestris</i> (Leyss.) Munshi & Javeid	прибрежная зона реки Воронеж, Воронежская обл.;
5	горец земноводный (водная форма)	<i>Persicaria amphibia</i> (L.) Delarbre	
6	горец малый	<i>Persicaria minor</i> (Huds.) Opiz	пос. Рыбачье, Воронежская обл.
7	горец перечный	<i>Persicaria hydropiper</i> (L.) Delarbre	
8	горец узловатый	<i>Persicaria nodosa</i> (Pers.) Opiz	Ботанический сад им. Козо-Полянского, г. Воронеж
9	горец войлочный	<i>Persicaria tomentosa</i> (Schrank) E.P. Bicknell	
10	горец Бриттингера	<i>Persicaria brittingeri</i> Opiz	пос. Отрада, Панинский р-н, Воронежская обл.

Все объекты были заготовлены в момент массового цветения в Воронежской и Липецкой областях в 2013 – 2018 гг, для чего срезали облиственные цветущие побеги. После сбора часть объектов высушивали воздушно – теневым способом, часть подвергали консервации в свежем виде.

Фиксацию свежезаготовленных объектов проводили с использованием спирта этилового 95%, который не только способствовал консервированию объектов на долгое время, но и его уплотнению, что способствовало облегчению выполнения поперечных срезов, а также обесцвечивания сырья посредством удаления из тканей хлорофилла [120, 135, 151].

Морфолого – анатомический анализ видов рода *Persicaria Mill.* проводили в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XIV изд. [53].

Для приготовления препаратов с поверхности для высушенного сырья все части растения подвергались кипячению в 2,5% водном растворе натрия гидроксида с последующим промыванием дистиллированной водой. Для микроскопического изучения стебля выполняли срезы в нижней, средней и верхней части стебля нескольких экземпляров, после их предварительного выдерживания в растворе состава спирт – глицерин - вода (1:1:1) [14, 53, 120, 135, 148, 151].

При изучении объектов с помощью метода петиолярной анатомии делали поперечные срезы в медиальной части черешка листьев нескольких экземпляров одного вида, после их предварительного выдерживания в растворе состава спирт – глицерин - вода (1:1:1). Одревесневшие оболочки клеток при идентификации анатомических маркеров выявляли обработкой препаратов 1% раствором флороглюцина и 25% раствором серной кислоты [14, 120, 135, 151].

Стереомикроскопический анализ осуществляли без пробоподготовки [14,53] с использованием прямого микроскопа Olympus SC50 (Япония) в отраженном свете (светлое поле) при увеличении x100, «Биомед-2М» (Россия) с объективами x40, x100. Визуализация диагностических признаков проводилась с помощью цифровой видеокамеры «Levenhuk» C310 NG (КНР).

Изучение объектов с помощью люминесцентной микроскопии [53] осуществляли на оптическом микроскопе Nikon ECLIPSE Ni-E/Ni-U (Япония) (Центр коллективного пользования Воронежского государственного университета

(ЦКП ВГУ) URL: <http://ckp.vsu.ru>»), Микромед 3 ЛЮМ (Россия), оснащенный корпусом люминесцентной насадки с четырьмя люминесцентными блоками «В»; «G»; «V» и «UV» LED (Россия) (Лаборатория Фитониинга ФГБОУ ВО ВГУ).

Микроскопические исследования законсервированных в спирте свежезаготовленных и высушенных объектов проводили на микроскопе Биомед 6.0 (Россия) с увеличением $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ оборудованном цифровой видеокамерой Livenhuk C310 NG и программным обеспечением Top View ($\times 86$).

Исследования образцов методом растровой электронной микроскопии в качестве пробоподготовки подразумевало предварительное напыление тонкой металлической плёнки золота на установке магнетронного типа для обеспечения проводимости. С помощью форвакуумного насоса откачивался воздух до давления 10 Па. На мишень подавали высокое напряжение, в камере начинался газоразрядный процесс и мишень из металлической фольги бомбардировалась атомами воздуха, которые выбивали из нее атомы металла. Эти атомы осаждались на поверхности образца и образовали слой металла, толщина которого определяется током разряда и временем напыления, что в данном случае составило $\sim 10\ 30$ нм. Для подавления разогрева образца (при бомбардировке их электронами) катод и анод располагали коаксиально, над которыми располагали также коаксиально магнит. Определение проводили на электронном микроскопе JSM-6510LV (Япония) (ЦКП ВГУ URL: <http://ckp.vsu.ru>). Дизайн исследования морфолого – анатомических признаков растений рода горец представлен на рисунке 13.

Получение водных и спиртовых извлечений из растительных объектов для качественного анализа состава комплекса БАВ.

Навеску растительного сырья, размер частиц менее 1,0 мм, экстрагировали (в соотношении сырье – экстрагент 1:10) водой или спиртом этиловым 70% в конической колбе объемом 250 мл при нагревании в течение 30 мин на водяной бане с обратным холодильником. Колбу с содержимым взвешивали до и после экстракции, в случае необходимости, доводя дистиллированной водой (или

спиртом этиловым 70%) до первоначальной массы [195, 201]. Далее извлечение отфильтровывали и использовали в работе.

Приготовление необходимых для исследования реактивов проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XI – XIV изд. из субстанций марки х.ч. и ч.д.а. (ЗАО «Вектон», СПб, Россия).

Качественный состав низкомолекулярной части метаболома растений рода горец проводили методом ТСХ, условия анализа отдельных групп БАВ представлены в таблице 4. Идентификацию всех соединений проводили на основании совпадения значений R_f зон, а также их окраски с результатами, полученными для стандартных образцов. Для нанесения проб на ТСХ – платины использовали микрошприцы объемом 1 и 10 мкл (МШ – 10, МШ – 1, Россия). Для приготовления элюирующих систем использовали растворители марки х.ч. (ЗАО «Вектон», СПб, Россия).

Содержание экстрактивных веществ в ЛРС определяли по методу 1 согласно ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XIV изд. [53].

Содержание некоторых групп БАВ в видах рода горец проводили по соответствующим фармакопейным методикам [53].

Содержание **полисахаридов** определяли гравиметрически согласно методике ФС 2.5.0032.15 «Подорожника большого листа» ГФ РФ XIV изд.

Содержание **аскорбиновой кислоты** и **суммы органических кислот** в пересчете на яблочную кислоту устанавливали титриметрически согласно методикам ФС.2.5.0093.18 «Рябины обыкновенной плоды» ГФ РФ XIV изд [53].

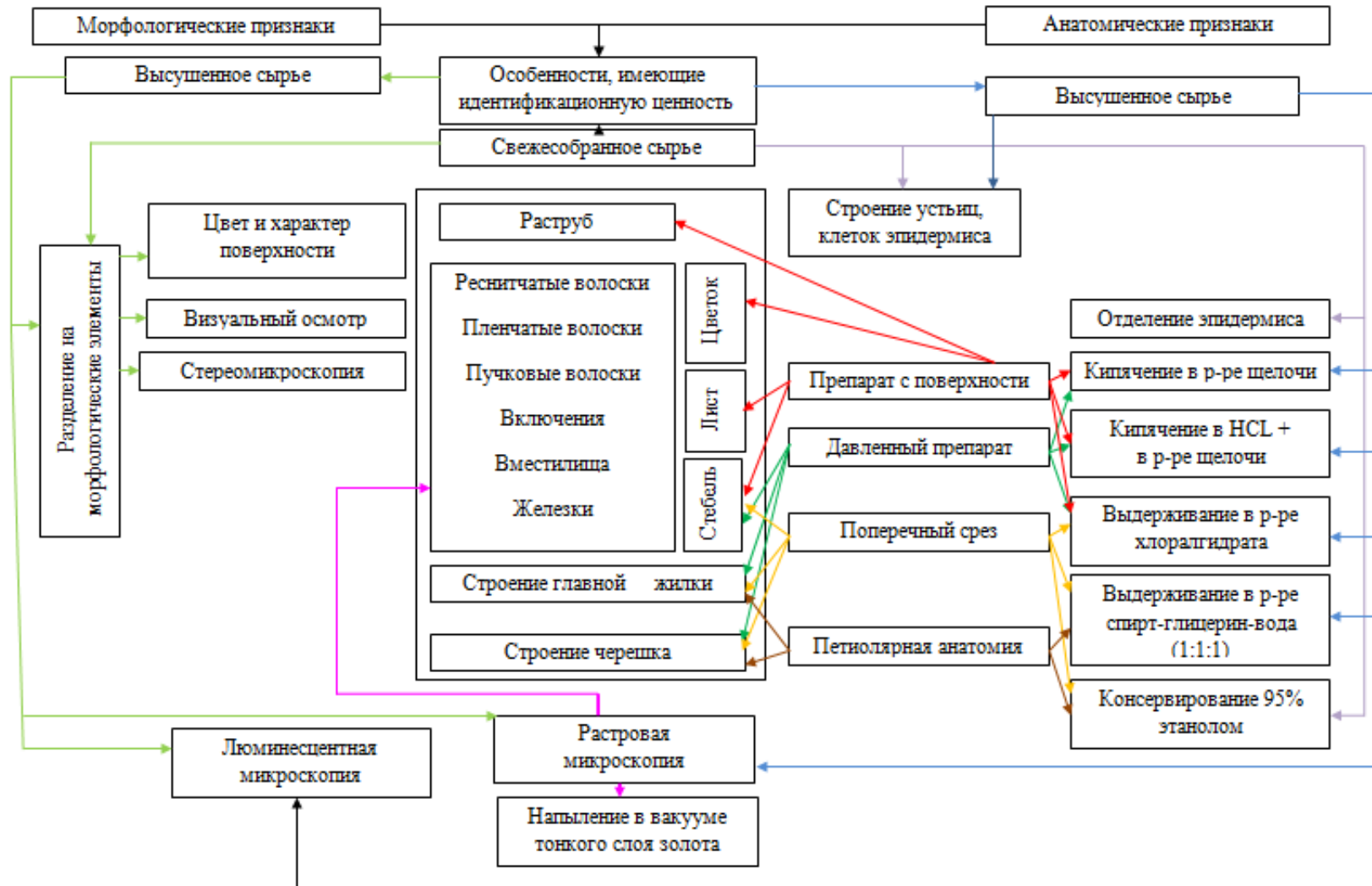


Рисунок 13 - Дизайн исследования морфолого – анатомических признаков видов рода горец

Таблица 4 - Качественный анализ метаболома видов рода горец методом ТСХ

Группа БАВ	Объем пробы	Элюирующая система	Детектирование	Цвет пятен	Стандартный раствор	Источник
Свободные сахара	5 мкл	бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:2) (БУВ)	0,1М водный раствор серебра нитрата	Сероватый	Глюкоза 0,1%, фруктоза 0,1% (Россия)	[29, 182] [202]
Свободные аминокислоты	4 мкл	бутанол:уксусная кислота : вода (4:1:2)	0,2% раствор нингидрина в спирте	желтые, розовые и розово-фиолетовые пятна на белом фоне	0,1% лизина, аргинина, гистидина, цистеина, пролина, глицина, метеонина, глутаминовой кислоты, аланина, тирозина, лейцина, фенилаланина, валина (Россия).	[182, 202] [69, 118] [195].
Флавоноиды	10 мкл	этилацетат - муравьиная кислота - вода (10:2:3)	раствор хлористого алюминия в спирте 5% с последующим проявлением зон в УФ-свете	желтое, голубоватое, коричневое свечение, после обработки пластин пятна флуоресцируют более ярко	Рутин, кверцетин (Sigma)	[173].

Количественное определение суммы *флавоноидов* в ЛРС определяли *методом спектрофотометрии* с использованием известной спектрофотометрической методики [53, 82, 202], адаптированной для анализа изучаемых объектов (глава 7).

Определение в объектах изучения суммы *дубильных веществ* в пересчете на танин выполняли методом перманганатометрического титрования по методике ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XIV изд.[53].

Для установления содержания других окисляющихся веществ использовали осаждение дубильных веществ из водных извлечений желатином, учитывая их свойство образовывать комплексы с белками [66].

Спектрофотометрическое определение дубильных веществ в пересчете на танин проводили согласно методике, описанной [66]. В качестве стандартного образца использовали 0,1% раствор танина (Россия).

Количественное определение *суммы свободных аминокислот (АК)* в траве изучаемых видов определяли спектрофотометрическим методом по реакции с нингидрином в аналитическом максимуме 568 нм, характерном для продукта реакции глутаминовой кислоты и нингидрина [118, 138]. Точную навеску растительного сырья измельчали до порошкообразного состояния (размер частиц 2,0 мм) и экстрагировали водой (в соотношении 1:12,5) в колбе с притертым шлифом вместимостью 100 мл, периодически встряхивая, на кипящей водяной бане с обратным холодильником 30 минут. Не охлаждая извлечение фильтровали через бумажный складчатый фильтр (белая лента) в мерную колбу объемом 100 мл. Фильтр вместе с кусочками сырья вновь подвергают экстрагированию в течение 30 минут, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. Охладив, фильтрат в колбе доводили водой до метки и перемешивали (раствор А).

Далее 2 мл раствора А помещали в мерную колбу объемом 100 мл, добавляли 4 мл фосфатного буфера (рН 6,4); 2 мл 1% раствора нингидрина в 95% спирте этиловом и 2 мл 0,05% водного раствора аскорбиновой кислоты и

нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут; после охлаждения под струей воды, доводили объем раствора до метки и затем перемешивали.

Параллельно проводили контрольный опыт: с 2 мл раствора РСО глутаминовой кислоты и 2 мл воды [118].

$$X = \frac{D * m_0 * 50 * 100}{D_0 * m * (100 - W)}$$

где, D – оптическая плотность испытуемого раствора после реакции с раствором нингидрина; D_0 – оптическая плотность РСО глутаминовой кислоты после реакции с раствором нингидрина; m – масса навески сырья, г; m_0 – масса навески РСО глутаминовой кислоты, г; W – потеря в массе при высушивании растительного сырья, %.

Некоторые группы БАВ (простые восстанавливающие сахара, водорастворимые витамины, сумма аминокислот, органических кислот) в растениях рода горец устанавливали методом капиллярного электрофореза.

Количественное определение *простых восстанавливающих сахаров* проводили методом капиллярного электрофореза. Метод измерений основан на разбавлении жидких проб дистиллированной водой и экстракции сахаров из твердых объектов дистиллированной водой. Разделение и определение количественного содержания простых сахаров проводили методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-105/105М» («Люмэкс», СПб, Россия) [81, 200]. Детектирование исследуемых компонентов проводили косвенным способом, регистрируя поглощение при длине волны 254 нм. Фоновый электролит: рН=12,1 на основе сорбата калия с добавкой ЦТАБ. Капилляр: ID = 50 мкм Lэфф/ Lобщ = 65/75 см. Напряжение: — 25 кВ. Ввод пробы: 150 мбар*с. Температура: 20 °С [84, 86].

Анализ содержания *водорастворимых витаминов*. Метод измерений массовой доли витаминов В₁ и В₂ основан на кислотном и ферментативном гидролизе пробы, в результате которого происходит освобождение связанных форм витаминов. Для определения массовой доли тиамин полученный гидролизат очищали изобутиловым спиртом; тиамин окисляется в щелочной

среде железосинеродистым калием в тиохром, экстрагируемый изобутиловым спиртом и затем измеряют интенсивность флуоресценции полученного извлечения с применением анализатора жидкости «ФЛЮОРАТ® - 02». Массовую долю витамина В₂ определяют с использованием жидкостного анализатора «ФЛЮОРАТ® - 02» (Россия). Концентрацию витамина В₂ вычисляют по разнице значений интенсивности флуоресценции до и после ее тушения тиомочевинной, что бы избежать влияние люминесцирующих примесей (М 04-56-2009 Продукты пищевые и продовольственное сырье, БАД. Методика измерений массовой доли витаминов В₁ и В₂ флуориметрическим методом с использованием анализатора жидкости Флюорат-02) [98].

Определение витамина В₃ (пантотеновая кислота) проводили методом капиллярного зонного электрофореза. Детектирование витаминов проводили, используя программируемое переключение длин волн по поглощению витаминов при длинах волн 200 нм и 267 нм [42].

Анализ содержания свободных форм холина (витамин В₄) проводили в соответствии с МВИ М 04-82-2014. В основе метода лежит извлечение свободных форм холина дистиллированной водой, их разделении и количественном определении с помощью капиллярного электрофореза («Капель-105/105М», «Люмэкс», СПб, Россия). Анализ проводился при следующих условиях: капилляр: состав рабочего буфера 10 мМ бензимидазол, 5 мМ винная кислота, 2 мМ 18-краун-6, Lэфф/ Лобщ= 50/60 см, ID=75 мкм; рабочее напряжение +13 кВ; температура 40°C; детектирование при 267 нм, косвенное; ввод пробы под давлением 150 мбар×с (ГОСТ 31483-2012. Премиксы. Определение содержания витаминов методом капиллярного электрофореза) [86].

Метод определения витамина В₅ (PP) основан на освобождении путем гидролиза, очистке гидролизата от мешающих определению веществ, количественном получении окрашенного глутаминового альдегида, интенсивность окраски которого измеряют фотометрически. Контрольным раствором служит дистиллированная вода (ГОСТ Р 50479-93. Продукты

переработки плодов и овощей. Метод определения содержания витамина РР [47].

Полный состав аминокислот (АК) (*свободные и связанные АК*) изучаемых видов определяли методом капиллярного электрофореза («Капель-105/105М», «Люмэкс», СПб, Россия) [72, 175].

Навески образцов подвергали гидролизу раствором 6 М кислоты хлороводородной в течение 16-18 часов при температуре 110 ± 5 °С [86]. Метод включал получение фенилизотиокарбамильных производных из свободных форм аминокислот, их разделении и количественном определении. Условия эксперимента: капилляр (Lэфф/Лобщ = 65/75 см, ID=50 мкм); буфер 30 мМ фосфатный, 4 мМ β-циклодекстрин (рН 7,4); напряжение +25 кВ; ввод пробы 150 мбар×с; температура 30°С; УФ-детектирование 254 нм [38, 78, 86].

Определение содержания *органических кислот*. Состав профиля органических кислот в траве изучаемых видов горцев проводили методом капиллярного электрофореза. Условия эксперимента: буфер фосфатный для анализа органических кислот, напряжение – 17 кВ, капилляр: Lэфф/Лобщ = 40/50 см, ID = 50 мкм. Ввод пробы: 300 мбар·с, температура: +20 °С. Детектирование косвенное при 190 нм [179, 182].

Качественный состав и количественное содержание *флавоноидов и гидроксикоричных кислот* определяли методом ВЭЖХ [34, 62, 193].

Количественное определение *флавоноидов и гидроксикоричных кислот*. *Пробоподготовка*. Растительное сырье измельчали до порошкообразного состояния (размер частиц 1 мм) и около 2,0000 г, экстрагировали метиловым спиртом (50 мл) в концентрации 60% в круглодонной колбе (объем 100 мл), нагревая на водяной бане с обратным холодильником (при температуре 95°С). Для выделения флавоноидов время экстракции составило 60 минут, для извлечения гидроксикоричных кислот 120 мин. Выделение фенольных соединений интенсифицировали, выдерживая 5 мин на ультразвуковой ванне. Полученный экстракт, фильтруя, переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл через бумажный фильтр «Красная лента», доводили до метки экстрагентом (60%

метанол) и перемешивали. Отбранную аликвоту объемом 1,5 мл, подвергали центрифугированию 5 мин при 15000 об/мин. Супернатант помещали в виалу для автосамплера [34, 193].

Анализ проводили с помощью системы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Agilent 1100 (AgilentTechnologies, США), оснащенной дегазатором, термостатом колонок, термостатируемым автосемплером, бинарным насосом, диодно-матричным спектрофотометрическим (Agilent 1100 SeriesDiodeArray) и масс-спектрометрическим времяпролетным детектором (Agilent TOFLC/MS 6200). В качестве стандартных образцов для анализа флавоноидов использовали индивидуальные соединения: кверцетин ($\geq 98\%$, Sigma), изокверцитрин (HWI ANALYTIK GMBH, $\geq 94\%$), рутин (Sigma, $\geq 94\%$), авикулярин (ChromaDex), гиперозид (HWI ANALYTIK GMBH, $\geq 95\%$), кемпферол-3-глюкозид ($\geq 95\%$, PhytoLab), витексин ($\geq 96\%$, Fluka), изовитексин ($\geq 99\%$, Extrasynthese), лютеолин-7-глюкозид ($\geq 98\%$, Extrasynthese), мирицетин (appr. 85%, Sigma), изорамнетин ($\geq 99\%$, Fluka), кемпферол ($\geq 99\%$, Extrasynthese), лютеолин ($\geq 99\%$, Extrasynthese), апигенин ($\geq 95\%$, Sigma).

Для анализа гидроксикоричных кислот в качестве стандартных соединений выступали: кафтаровая кислота ($\geq 98\%$, Fluka), кофейная кислота ($\geq 98\%$, Sigma), синаповая кислота ($\geq 98\%$, Sigma), розмариновая кислота ($> 96\%$, Aldrich), хлорогеновая кислота ($\geq 95\%$, Sigma), феруловая кислота ($\geq 99\%$, Aldrich), п-кумаровая кислота ($\geq 98\%$, Sigma).

Условия ВЭЖХ. Подвижная фаза: А – ацетонитрил, В - 0,1% раствор муравьиной кислоты. Неподвижная фаза: колонка ProteColC18 НРН 125 250×4.6 мм с размером частиц 5μм. Градиентное элюирование 0-40 мин, 10-60% В, затем регенерация колонки 41-50 мин, 10% В. Скорость подачи элюента 0,5 мл/мин, температура колонки 30 °С, объем вводимой пробы 10 μл. Спектрофотометрическое детектирование в 5 аналитических длинах волн: 290 нм, 330 нм, 338 нм, 350 нм, 370 нм.

Условия масс-детектирования. Рабочие параметры источника ионизации: поток газа-осушителя (азот) 9 л/мин, напряжение на капилляре 3500 В, давление

на распылителе 0,27 МПа, температура 325 °С. Напряжение на фрагменторе 175 В, на октополе ОСТ 1RF Vpp – 250 В, на конусе – 65 В. Сканирование масс – в режиме регистрации положительных ионов (ESI-MS⁺) в диапазоне m/z 100-1000 Да, ионизация электроспреем. Обработка полученных результатов проводилась с помощью программного обеспечения Agilent Mass Hunter Workstation Software [193]. Метрологические характеристики методики оценивали согласно РМГ 61-2010 [34, 182, 193].

Изучение *состава минерального комплекса* проводили методом хромато-масс-спектрологии с индуктивно связанной плазмой ("ELAN-DRC"), для чего объекты подвергали кислотному разложению с помощью систем микроволновой пробоподготовки. Для расчета коэффициента биологического накопления элементов в изучаемом сырье был изучен элементный состав почв с места произрастания растений.

Правильность определения контролировали методом добавок. Для получения рабочих стандартных растворов смешивали нескольких опорных многоэлементных стандартных растворов для масс-спектрометрии (Perkin-Elmer).

Применяемые референс-стандарты:

Для анализа почв: почва дерновоподзолистая и почва дерновоподзолистая супесчаная ГСО 2498-83-2500-83, ГСО 5360-90, ООКО-153, СДПС-1 2, 3.

Для анализа проб растительного происхождения:

ГСО состава стравосмеси (Тр-1), ГСО 8922-2007

ГСО состава элодеи канадской (ЗК-1), ГСО 8921-2007

ГСО состава листа березы (ЛБ-1), ГСО 8923-2007 [202, 205].

Анализ *пестицидов* (ДДТ и его метаболиты, ГХЦГ (α -, β -, γ -изомеры) проводили на приборе «Цвет 500М» методом газовой хроматографии [35, 181]. Анализ *радионуклидов* (Цезий-137, Стронций-90) осуществляли на комплексном универсальном спектрометре УСК «Гамма-Плюс» с применением программного обеспечения «Прогресс» [20].

Определение *тяжелых металлов и мышьяка* в образцах проводили методом атомно-абсорбционной спектрометрии («ААС Квант-2А») согласно НД:

ГОСТ 30178-96 «Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов» [49], ГОСТ 26929-94 «Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов» [40], ГОСТ Р 51766-2001 «Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка» [49, 53], ОФС.1.5.3.0009.15 ГФ РФ XIV изд. «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Наличие в изучаемых объектах *микотоксинов* методом непрямого иммуноферментного анализа определяли согласно ГОСТ 31653 - 2012. Метод иммуноферментного определения микотоксинов [43]; ГОСТ Р 51116. Метод определения содержания дезоксиниваленола (вомитоксина) (ДОН) [48].

Определение *присутствия плесневых грибов* проводили с помощью микроскопического анализа, выполненного в соответствии с ГФ XIV ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [53] на микроскопе Биомед 6, при использовании увеличения x100 и x400. Микрофотографии получали с помощью видеокамеры Levenhuk.

Микробиологическую чистоту устанавливали в соответствии с ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота» ГФ РФ XIV изд. [53], а также ГОСТ 10444.15-94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микро - организмов (КМАиФАМ) [37]; ГОСТ 10444. 12 - 88. Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов [36]; ГОСТ 31747-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) (БГКП) [46]; ГОСТ 31746-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus* [45]; ГОСТ 31659-2012. Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella* [44].

Оценку вероятности наличия того или иного фармакологического эффекта у изучаемых видов горцев, а также побочных эффектов проводили методом компьютерного моделирования *in silico* [59, <http://www.pharmaexpert.ru/PASSOnline/index.php>.] Были использованы структурные формулы основных биологически активных соединений фенольной природы (флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества).

Жидкие экстракты 1:1 из высушенной травы горца почечуйного и горца щавелелистного получали в лабораторных условиях методом перколяции, используя в качестве экстрагента спирт этиловый 70% [201]. Качество полученных лекарственных форм устанавливали согласно ОФС.1.4.1.0021.15 ГФ XIV «Экстракты» [53].

Изучение гемстатической и капилляропротекторной активности жидких экстрактов горцев почечуйного, перечного и щавелелистного проводили на 30 белых аутбредных мышах-самцах массой тела 20-27 г, не менее чем по 7 особей в каждой из групп*. Вводимая доза 50 мг/кг массы тела животного. Предварительно, жидкие экстракты упаривали под вакуумом для удаления спирта этилового, сухой остаток вводили желудочным зондом в виде суспензии в свежеприготовленной 1% крахмальной слизи. В качестве образца сравнения выступал жидкий экстракт горца перечного травы, изготовленный в заводских условиях (серия 010119, ООО Камелия НПП).

Для определения гемостатической активности использовали тест «время остановки кровотечения» [146], для чего осуществляли резекцию дистального участка хвоста животного, засекали время до полной остановки кровотечения в секундах и определяли размер кровопотери путем вычисления массы крови в граммах, собранной на ватные диски. Предварительно осуществляли сушку ватных дисков до постоянной массы, взвешивание проводили на аналитических весах.

*Автор выражает благодарность компании ООО «БИОНОРИКА» за оказанную помощь в проведении эксперимента

В эксперименте для определения капилляропротекторной активности использовали модель повышенной сосудистой проницаемости кожи в тесте выхода трипанового синего в место воспаления (тест ксилоловых петехий) [189].

В момент проведения эксперимента, животным контрольной и опытных групп вводили 250 мкл 1% водного раствора трипанового синего и через 10 минут на заранее депилированный участок кожи передней брюшной стенки наносили шприцом или пипеткой 50 мкл ксилола, устанавливали время появления окрашивания и время его отчетливого проявления, что свидетельствовало о выходе в очаг воспаления трипанового синего**.

Валидацию разработанных и адаптированных методик проводили согласно ОФС ГФ XIV изд. «Валидация фармакопейных методик» (ОФС.1.1.0012.15). Статистическую обработку полученных результатов проводили согласно ГФ XI, ОФС.1.1.0013.15 ГФ РФ XIV [51, 53, 56].

Подход к внедрению близкородственных видов растений в медицинскую практику (на примере рода горец) приведен на рисунке 14.

** Автор выражает благодарность д.мед.н., заведующему кафедрой фармакологии и клинической фармакологии Бузламе А.В. за оказанную помощь в проведении эксперимента

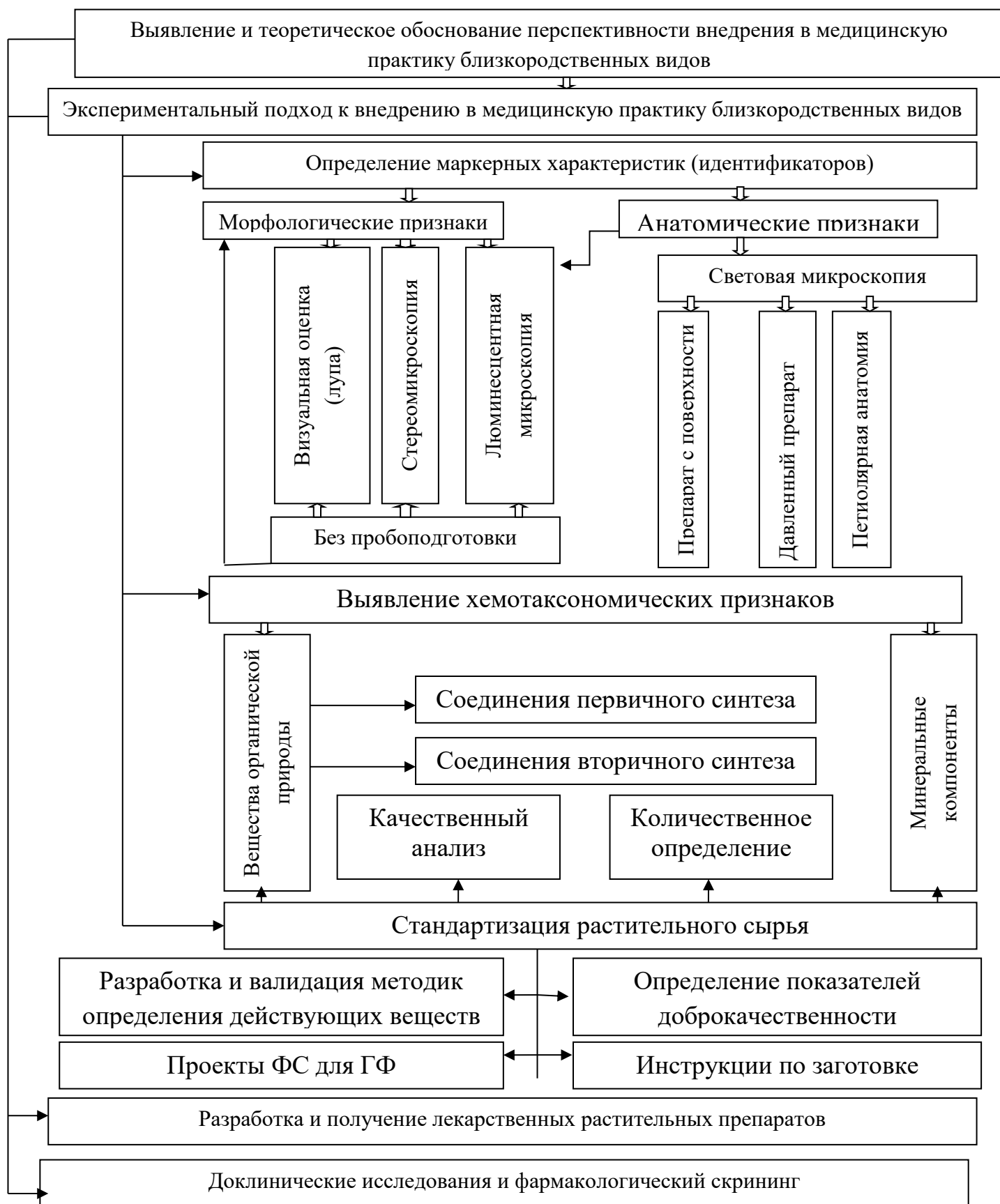


Рисунок 14 - Научно-методический подход к внедрению близкородственных видов растений в медицинскую практику (на примере рода горец)

ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВИДОВ РОДА *PERSICARIA* MILL.

Одной из важных проблем при заготовке растительного сырья, особенно характеризующегося наличием близкородственных видов, является определение его видовой принадлежности.

Учитывая широкое распространение видов рода горец и способность растений сочетать в себе признаки ксероморфных и мезоморфных растений, актуальным является проведение исследований, позволяющих дать диагностическую характеристику отдельных видов, что имеет практический интерес для избежания фальсификации сырья на этапе его заготовки.

3.1. Сравнительное изучение морфологических особенностей представителей рода *Persicaria* Mill. (стереомикроскопия)

В настоящее время, стереомикроскопия, как метод наблюдения объекта не в плоскостном (как в случае классической микроскопии), а в объемном его восприятии, является перспективным для экспресс-идентификации растительного сырья. При этом, возможно использование большей кратности увеличения (x40 и x100), нежели рекомендовано в НД (x8, x16, x24). Это позволяет более точно и быстро определить некоторые идентификационные характеристики, исключая стадию пробоподготовки сырья [133].

Необходимо отметить, что все представители рода горец имеют сходный набор морфологических признаков, отличающихся в пределах секции по строению и пространственному расположению. К основным диагностическим элементам рода горец относятся 4 типа трихом, выделительный аппарат и кристаллические включения. Для удобства отнесения трихом к тому или иному типу, предварительно были даны их характеристики.

Пучковые волоски являются разновидностью нежелезистых трихом сложного строения, представляющие собой совокупность однорядных одноклеточных трихом, плотно сросшихся между собой и имеющих общее, чаще

всего, многоклеточное основание и располагающиеся на поверхности морфологического органа растения.

Реснитчатые волоски представляют собой сильно удлинённые пучковые волоски, состоящие из тонкостенных вытянутых клеток, располагающиеся по краю морфологического органа (например, на поверхности раструба).

Пленчатые волоски являются разновидностью нежелезистых тонкостенных трихом сложного строения, состоящих из двух (в базальной части) и более рядов тонкостенных клеток, плотно прижатых к морфологическому органу и имеющих вид тонких пленок.

Нитевидные волоски являются разновидностью нежелезистых одноклеточных трихом, представляющих собой удлинённые выросты эпидермальных клеток, образующих бархатистое опушение на поверхности морфологического органа растения.

Результаты визуализации морфологических признаков травы изучаемых объектов представлены в приложении 1.

3.1.1. Морфологические особенности представителей ряда *Amphibiae* Ком.

В ряду *Amphibiae* Ком., между двумя представителями, наземной и водной формой горца земноводного, заметно существенное различие в морфологическом описании. Наземная форма горца земноводного на верхней стороне по всей поверхности листа и жилкам имеет большое количество хорошо заметных конических волосков, которые на нижней стороне присутствуют в основном по жилкам. На обеих сторонах листа заметны беловатые образования, предположительно вместилища (рисунок 15). Край листа немного завернут на верхнюю сторону и опушен длинными волосками. Также волоски подобноготипа, но более тонкие и длинные видны на поверхности черешка и раструба. На верхушке раструба имеются реснитчатые волоски (Приложение 1, рисунок 1).

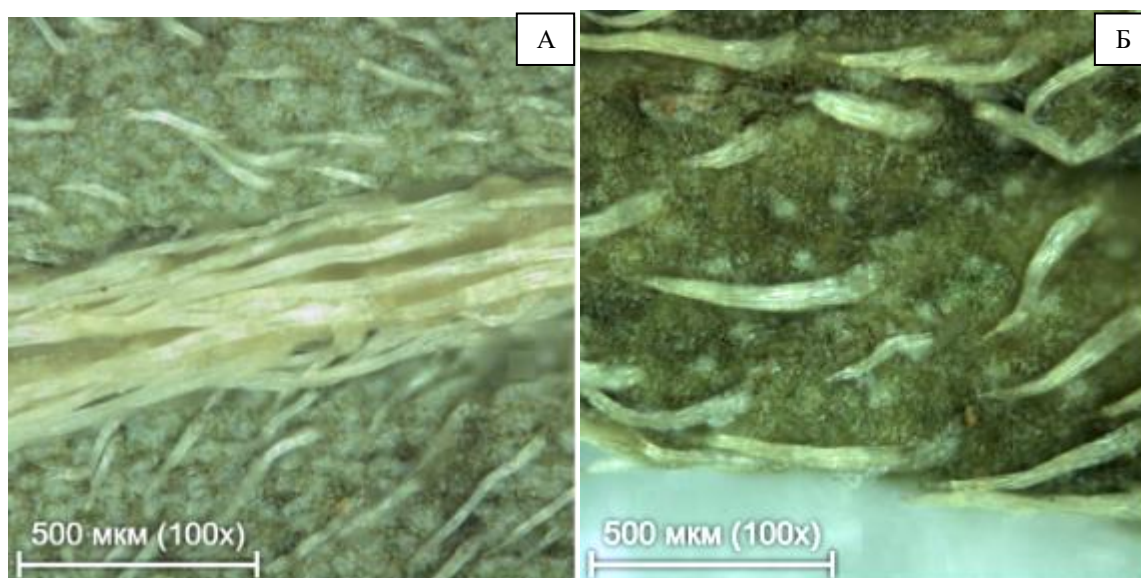


Рисунок 15 - Морфологические особенности листа горца земноводного (наземная форма): А – нижняя сторона, Б – верхняя сторона (ув. х 100)

Водная форма горца земноводного лишена волосков на поверхности и по краям листьев, по жилкам снизу листа присутствуют редкие и довольно крупные конические выросты. Обе стороны листа плотные, блестящие, покрыты восковым налетом. У обоих видов рода *Amphibiae* на листьях не выявлены железки (рисунок 16). Поверхность раструба голая, также довольно плотная и складчатая. Реснитчатые волоски на верхушке раструба крупные, длинные и деревянистые. Цветок розовато – фиолетового цвета, на лепестках венчика редкие буроватые железки (Приложение 1, рисунок 2).

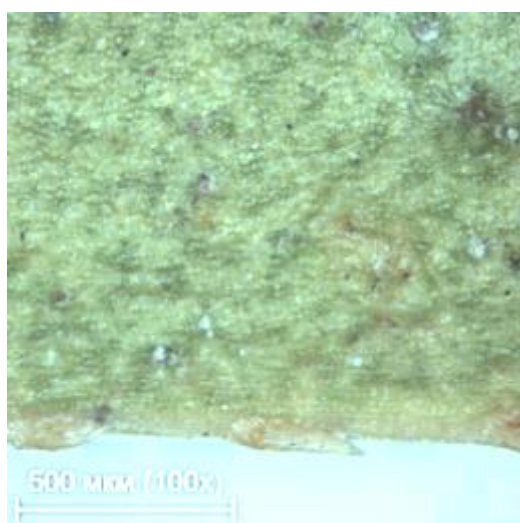


Рисунок 16 - Морфологические особенности листа горца земноводного (верхняя сторона) (ув. х 100)

3.1.2. Морфологические особенности растительного сырья представителей ряда *Persicariaeformes* Kom.

Раструб горца почечуйного пленчатый, плотно охватывает стебель, на его поверхности отчетливо визуализируется большое количество длинных пучковых волосков. Реснитчатые волоски на верхушке раструба длинные и многочисленные. На верхней стороне листа встречаются конические пучковые волоски с удлинённой верхушкой. Снизу листа волоски очень редкие и расположены вдоль главной жилки. Край листа слегка завернут на верхнюю сторону, там же присутствуют длинные пучковые, часто с расходящимися клетками волоски, уменьшающиеся к верхушке. На поверхности листа заметны вместилища (рисунок 17). Железки не визуализируются. Венчик розоватого цвета, железки очень редкие, чаще всего они отсутствуют. Плод глянцевый с выраженными гранями на поверхности с заостренной верхушкой (Приложение 1, рисунок 3).



Рисунок 17 - Лист горца почечуйного: А – верхняя сторона и край листа (ув. x 40), Б – нижняя сторона листа (ув. x 100)

3.1.3. Морфологические особенности представителей ряда *Lapathiiformes* Worosch.

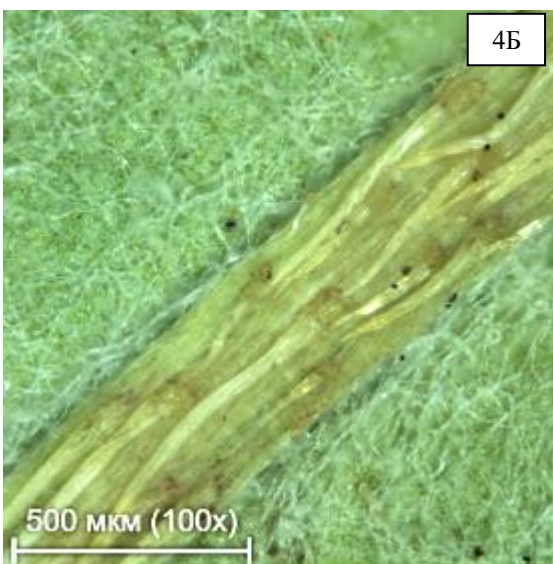
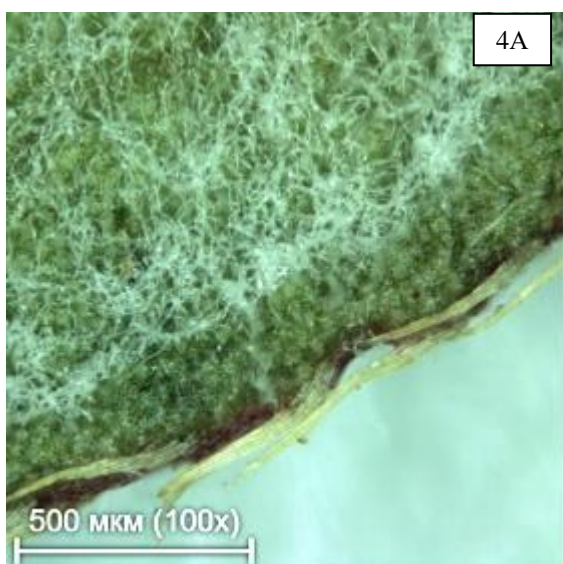
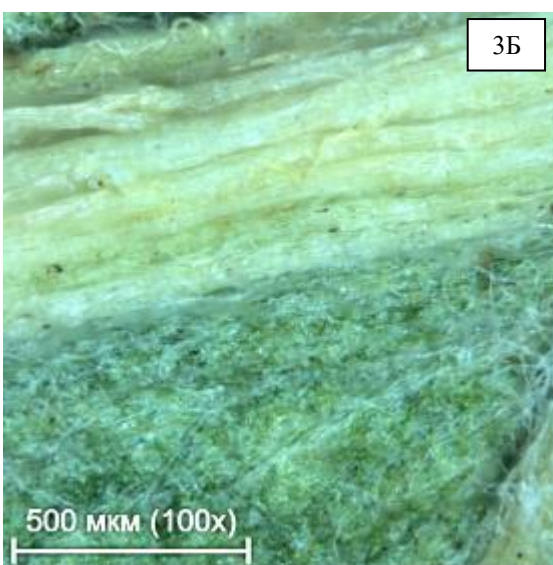
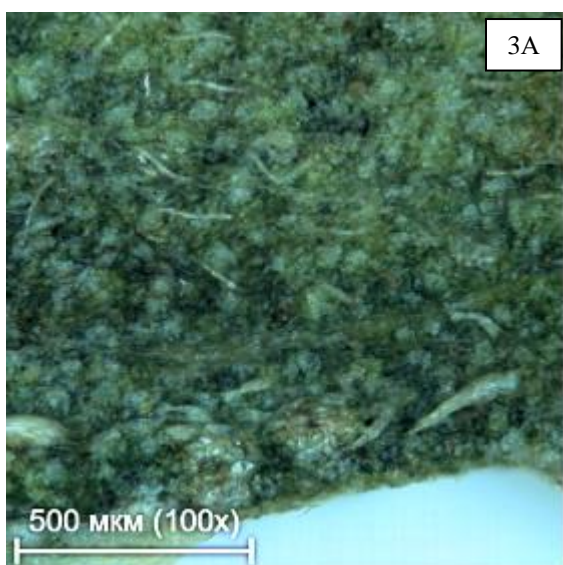
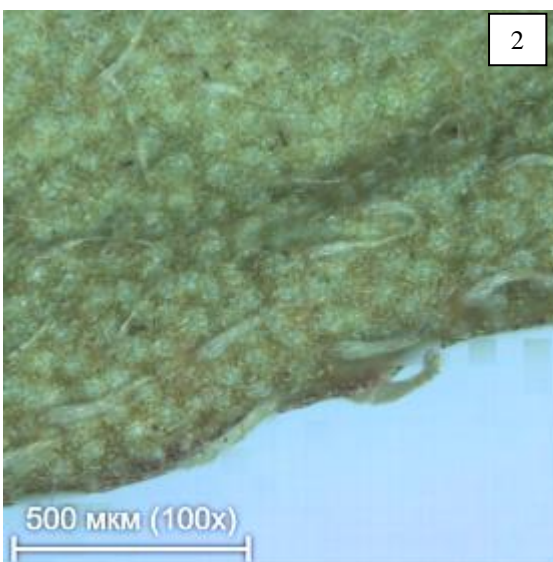
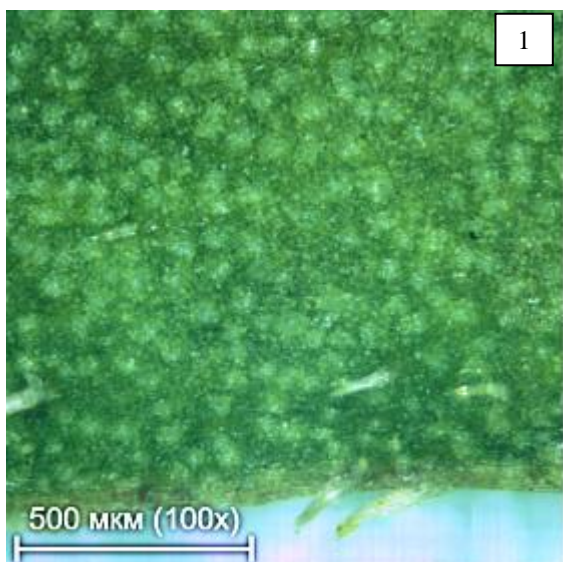
Раструб большинства представителей ряда *Lapathiiformes* Worosch. имеет короткие реснитчатые волоски, иногда слегка оттопыренные. Нитевидные

волоски характерны для горцев шероховатого, узловатого и войлочного (наиболее многочисленные). Редкие тонкие и длинные пучковые волоски встречаются у горцев щавелелистного, Бриттингера, войлочного. Пучковые волоски горца узловатого многочисленные ширококонической формы с сильно расширенным основанием. Железистые образования желтоватого цвета встречаются у горцев щавелелистного, Бриттингера, войлочного.

Характеристической особенностью листьев представителей ряда *Lapathiiformes* Worosch. является наличие на нижней поверхности многочисленных желтоватых или желтовато-зеленых железок. Пучковые волоски на верхней поверхности листовой пластинки встречаются у горца щавелелистного, у горца войлочного они локализованы вдоль края листа. Горец узловатый характеризуется большим количеством мелких коротких конических волосков, расположенных на верхней стороне листа.

Пучковые волоски с нижней стороны листа по жилкам характерны для всех представителей ряда, наиболее крупные и жесткие волоски визуализируются у горца шероховатого. Нитевидные волоски встречаются на молодых и, реже, старых листьях снизу и являются идентификационным признаком у всех представителей ряда *Lapathiiformes* Worosch. Пучковые волоски, расположенные по краю листа (который, как и у остальных представителей рода, слегка завернут на верхнюю сторону), мелкие, конические (рисунок 18).

Черешки некоторых видов покрыты многочисленными пучковыми волосками с сильно расширенным основанием (горец узловатый). Вместилища наиболее отчетливо визуализируются у горца щавелелистного, у остальных видов вместилища не просматриваются. На венчике и цветоносах всех видов, кроме горца узловатого, имеются многочисленные железки желтого цвета. Плоды также имеют сходное строение, они глянцевые, округлые, суженные к верхушке с углублением с обеих сторон (Приложение 1, рисунки 4-8).



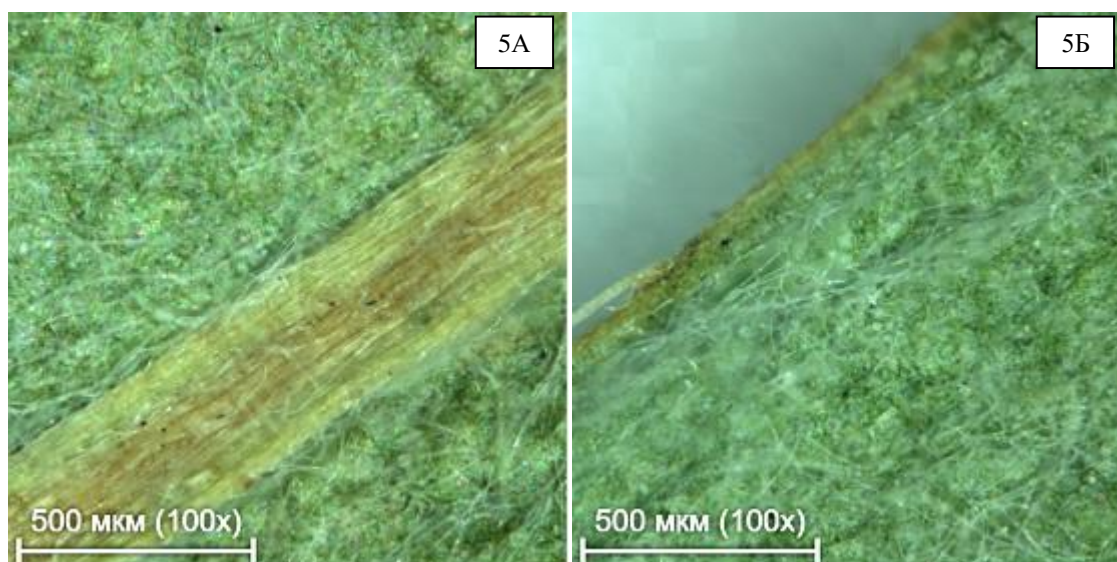


Рисунок 18 -Лист горца шероховатого (1), и горца войлочного (2), верхняя сторона (ув. x100); горца щавелелистного (3), узловатого (4), Бриттингера (5): А – верхняя сторона, Б – нижняя сторона

3.1.4. Морфологические особенности представителей ряда *Hydropiperiformes* Kom.

Оба представителя ряда *Hydropiperiformes* Kom. схожи в своих морфологических признаках. Верхние части раструбов оканчиваются длинными реснитчатыми волосками. На поверхности раструба горца перечного визуализируются многочисленные пучковые волоски с сильно расширенным основанием, у горца малого они более редкие, узкие и вытянутые. На поверхности раструба горца перечного встречаются железистые образования. Пучковые и нитчатые волоски на поверхности листовой пластинки отсутствуют, встречаются только по краю (рисунок 19). С обеих сторон листовой пластинки отчетливо видны беловатые или желтоватые вместилища. На венчике горца перечного присутствует большое количество мелких желтоватых железок, что является его отличительной особенностью. Плоды вытянутые, матовые со слегка выраженными гранями, более мелкий у горца малого (Приложение 1, рисунки 9, 10).

	Нитевидные волоски	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	Железки	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	Вместилища	+	-	+	-/+	+	-/+	-/+	-/+	+	+
Цветок	Железки	+/-	+	+/-	+	+	-	+	+	+	+/-
	Розовый околоцветник	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	Беловатый околоцветник	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
Плод	Блестящий	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	Матовый	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	Округлый	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	Вытянутый с гранями	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+

Таким образом, изучение основных морфологических признаков представителей горец с помощью стереомикроскопии (таблица 5) позволило выявить и визуализировать основные идентификационные характеристики изучаемых видов.

Установлена вариабильность признаков в пределах секций рода. Наиболее яркими признаками, определяющими подлинность объектов, являются: наличие и строение трихом на раструбе и листовой пластинке, а также выделительного аппарата.

Результаты эксперимента могут быть использованы для экспресс-идентификации растительного сырья по морфолого - диагностическим признакам, как при заготовке, что бы максимально исключить ошибки при сборе, так и при разработке современной НД для стандартизации и оценки качества данного вида сырья.

3.2. Изучение морфологического строения видов рода *Persicaria* Mill.

с помощью люминесцентной микроскопии

Современная НД на лекарственное растительное сырье (ЛРС) предусматривает для определения показателя «Подлинность» описание внешних характеристик объекта, полученных с помощью лупы или стереомикроскопа, а также описание анатомических особенностей.

В ОФС.1.5.30003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XIV [53] рекомендовано использование люминисцентной микроскопии.

Пробоподготовка или использование включающей жидкости при этом не требуется. Анализ осуществляли на оптическом микроскопе Nikon ECLIPSE Ni-E/Ni-U (ЦКП ВГУ) и люминесцентном микроскопе Микромед 3 Люм (Россия). Спектральный диапазон возбуждения (голубой светофильтр) составил 460-495нм, регистрации – 515 – 550 нм. В данном диапазоне регистрации свечение хлорофилла не учитывается, так как он не обладает свечением при высушивании растительного сырья.

Изучение морфологических особенностей объектов методом люменесцентной микроскопии показало, что без использования флуорохромов, специфическим свечением обладают одревесневшие и кутикулизованные структуры, такие как трихомы, проводящие элементы, располагающиеся по жилкам, устьица, клеточные стенки, и в некоторых случаях, содержимое вместилищ (Приложение 2).

При оценке подлинности горцев земноводных (водной и наземной форм) необходимо обратить внимание, что водная форма данного вида имеет слабое свечение в условиях эксперимента. Возможно, это связано с плотным слоем кутикулы на поверхности листа и отсутствием трихом.

На околоцветнике отчетливо заметно свечение проводящих элементов. Железки, расположенные в верхней части цветка специфическим свечением, не обладают (Приложение 2, рисунок 1, 2).

На листьях, жилках и черешках остальных изучаемых видов отчетливо флуоресцируют пучковые волоски, различающиеся между видами по своим размерам и особенностям расположения (рисунок 20).

Нитевидные волоски имеют слабое свечение. Сильная флуоресценция характерна для замыкающих клеток устьиц. На жилке у основания листа горца почечуйного и на его черешке встречаются вместилища, которые не

визуализируются при проведении других видов анализа (рисунок 21) (Приложение 2, рисунки 3, 4).

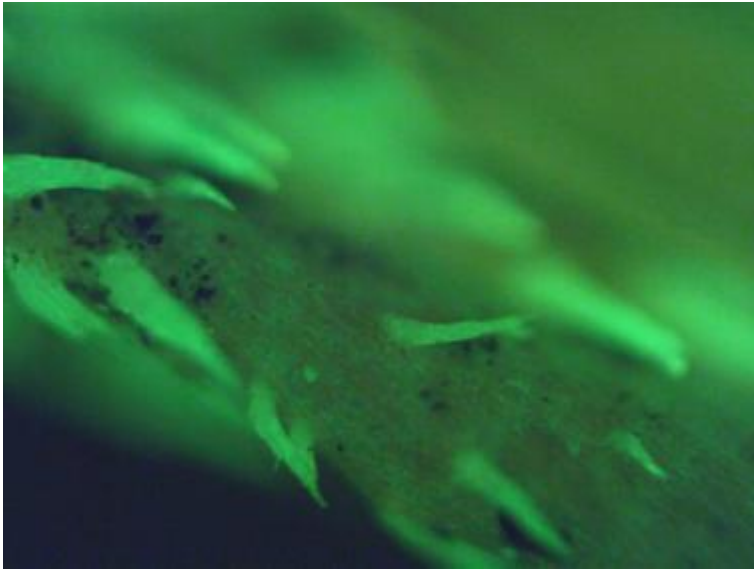


Рисунок 20 - Люминесценция фрагмента черешка листа горца Бриттингера (ув. x100)

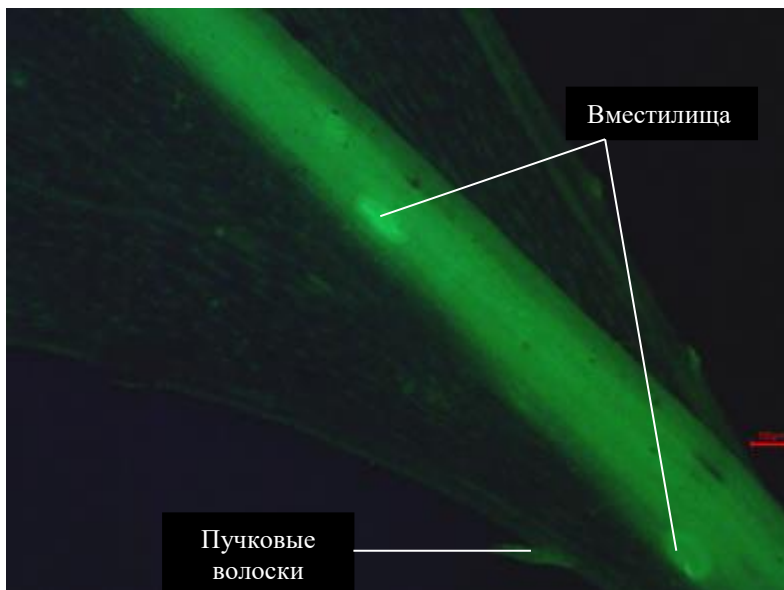


Рисунок 21 -Люминесценция фрагмента листа горца почечуйного (ув. x40)

На нижней стороне листа горцев шероховатого и горца Бриттингера визуализируются вместилища, люминесцирующие желтовато-зеленым светом, вместилища горца войлочного не обладают свечением и имеют вид темного пятна (рисунок 22) (Приложение 2, рисунки 5 – 9).

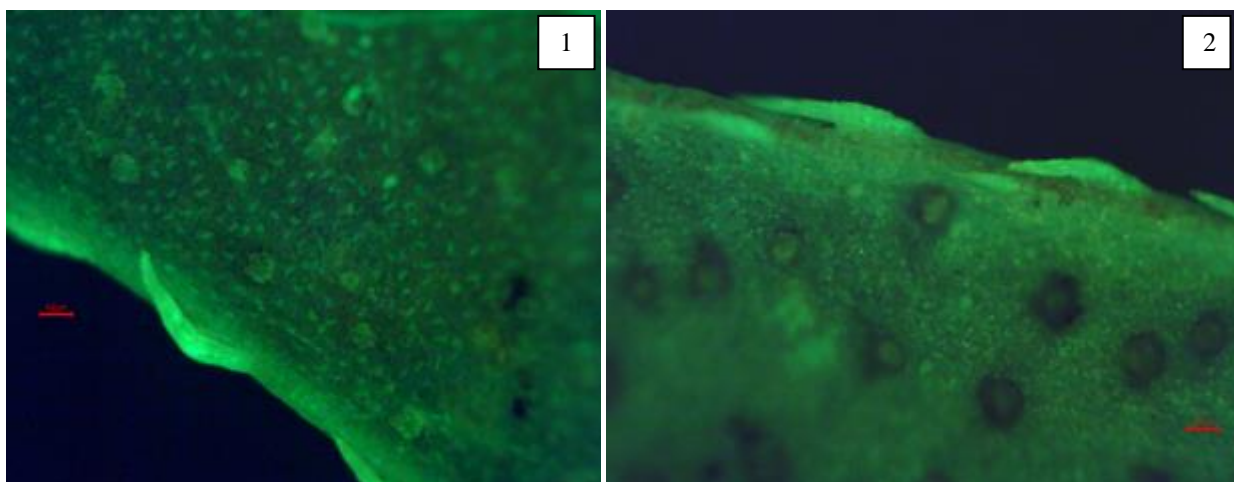


Рисунок 22 - Люминесценция фрагмента листа горца шероховатого (1), горца войлочного (2) (ув. х40)

На обеих сторонах листа горца перечного, жилке, черешке и стебле заметны, люминесцирующие ярко – желто-зеленым светом, вместилища и четырехклеточные железки (которые также характерны для горца малого, но имеют менее интенсивное свечение) (рисунок 23) (Приложение 2, рисунки 10, 11).

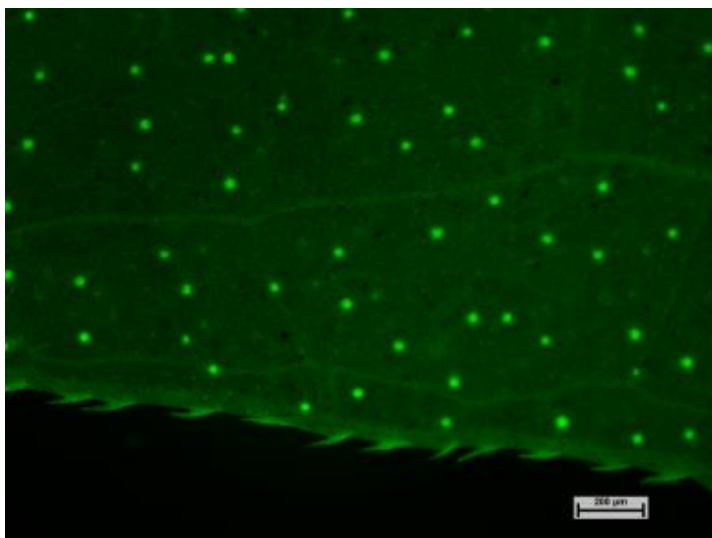


Рисунок 23 - Люминесценция фрагмента листа горца перечного (ув. х40)

Клетки раструбов и пучковые волоски на них (рисунок 24) у всех представителей имеют плотные стенки и обладают сильной люминесценцией (желто-зеленого и оранжевого цвета).

Пленчатые волоски и друзы оксалата кальция, располагающиеся на раструбах, листьях, черешках и стеблях собственной люминесценцией не обладают, исключение составляет горец перечный, у которого люминесцируют пленчатые волоски на раструбах.

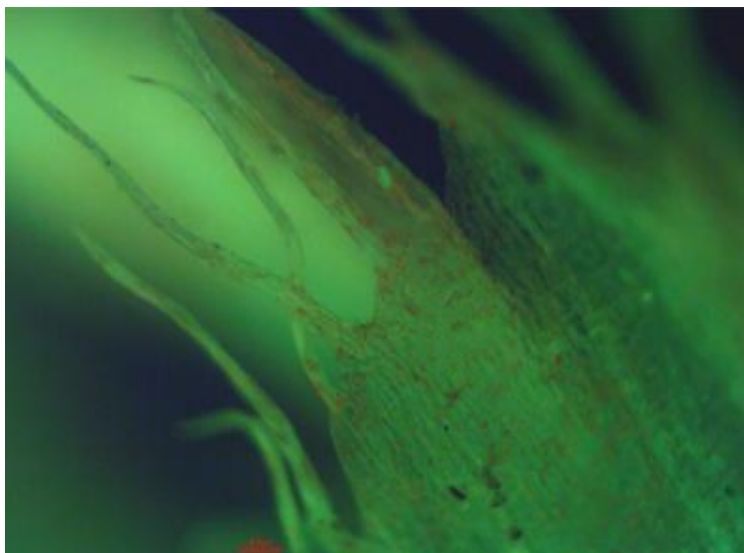


Рисунок 24 - Люминесценция фрагмента раструба горца почечуйного (ув. x40)

На раструбе горца Бриттингера (рисунок 25) люминесцируют многочисленные железистые образования, имеющие одно – двухклеточную ножку и многоклеточную головку, а на раструбах горца перечного – многочисленные вместилища.

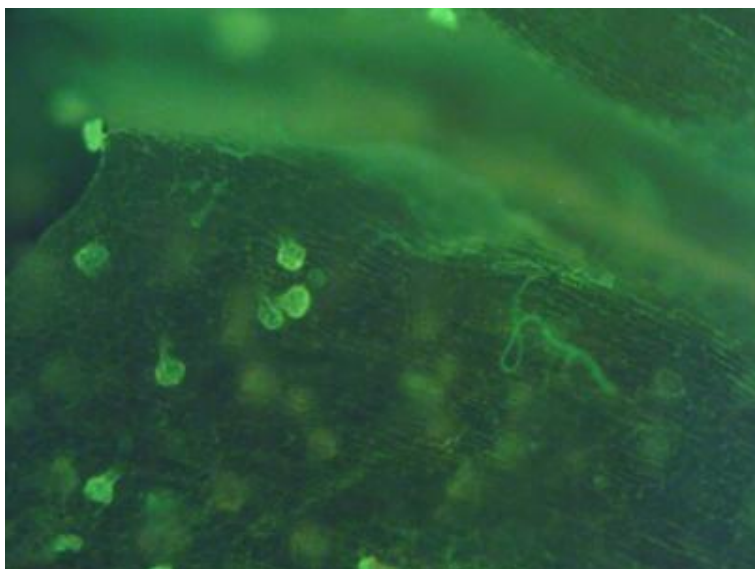


Рисунок 25 - Люминесценция фрагмента раструба горца Бриттингера (ув. x100)

У большинства представителей железки на околоцветнике не обладают люминесценцией и не визуализируются в данном эксперименте, однако, железки на околоцветнике и цветоносах горца Бриттингера, шероховатого и горца войлочного имеют довольно яркое свечение. Околоцветник горца почечуйного

имеет розовато – оранжевую люминесценцию в верхней части, внизу желтовато-зеленую (рисунок 26). Отчетливо заметна проводящая система. Пыльцевые зерна проявляют желтоватое свечение.

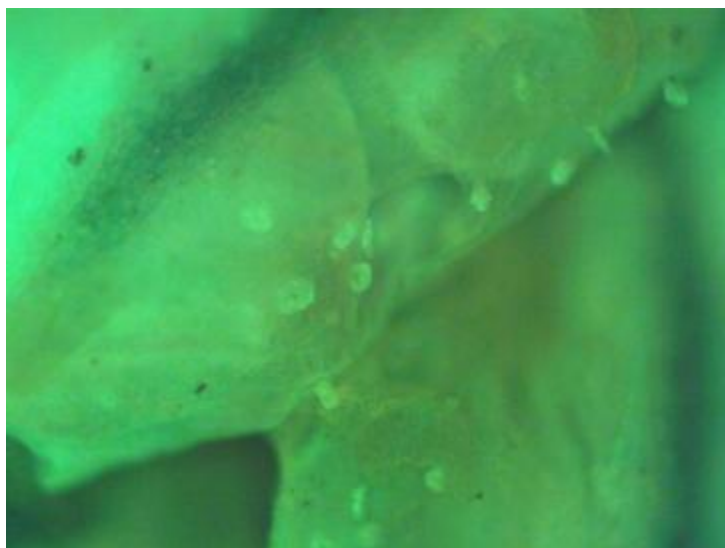


Рисунок 26 - Люминесценция фрагмента цветка горца шероховатого (ув. x100)

Ввиду наличия большого количества белковых веществ и жирного масла плоды имеет яркую голубовато-зеленую люминесценцию (рисунок 27).



Рисунок 27 - Люминесценция фрагмента плода горца войлочного (ув. x100)

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. С помощью стереомикроскопии изучены основные морфологические признаки представителей рода горец. Выявлены и визуализированы основные идентификационные характеристики изучаемых видов.

2. Установлена вариабильность признаков в пределах секций рода. Выявлено, что наиболее яркими признаками, определяющими подлинность объектов, являются: наличие и строение трихом на раструбе и листовой пластинке, а также выделительного аппарата. Присутствие на обеих сторонах листовой пластинки большого количества крупных пучковых волосков является главной характеристикой горца земноводного наземной формы, что особенно отчетливо визуализируется на главной жилке снизу листа. Идентификационной характеристикой видов ряда *Lapathiiformes* является присутствие в основном на молодых листьях нитевидных волосков, желтоватых железок снизу листа, цветоносах и околоцветнике (исключение – горец узловатый). Главным признаком горца перечного является наличие на всех частях растения желтоватого цвета вместилищ.

3. Впервые показана возможность использования метода люминесцентной микроскопии для анализа подлинности изучаемых видов. Абсолютно для всех изучаемых видов характерно наличие люминесценции пучковых волосков, железок и некоторого содержимого вместилищ и отсутствие свечения пленчатых волосков (как на жилках листа, так и на поверхности раструбов) и друз оксалата кальция.

4. Результаты, полученные на данном этапе, могут быть использованы для экспресс-идентификации растительного сырья по морфологическим признакам, как при заготовке, что бы максимально исключить ошибки при сборе, так и при разработке современной нормативной документации для стандартизации и оценки качества данного вида сырья.

5. Полученные результаты использованы в действующей ФС «Горца почечуйного трава» и при разработке проекта ФС «Горца щавелелистного трава» для ГФ РФ XIV, проектов «Инструкции по заготовке и сушке горца щавелелистного травы» и «Инструкции по заготовке и сушке горца почечуйного травы».

ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНАТОМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВИДОВ РОДА *PERSICARIA* MILL.

Растительное сырье реализуется через аптечные сети в измельченном виде, что особенно затрудняет установление его подлинности. Микроскопический анализ играет важную роль в идентификации растительных объектов, позволяя установить фальсификацию растительного сырья. Данный метод позволяет доказать наличие тех или иных биологических маркеров для определения подлинности растительного сырья. Для исследования анатомических признаков использовали траву изучаемых видов, разделяя ее на морфологические составляющие (стебель, раструб, лист, цветок, плод), которые анализировали отдельно друг от друга.

4.1. Определение оптимальных условий пробоподготовки для микроскопического анализа растительного сырья

Растительное сырье поступает на производство и реализуется через аптечную сеть в измельченном виде, что сильно затрудняет определение его подлинности по внешним признакам. Принимая также во внимание сложность в идентификации изучаемых видов, нами были использованы несколько способов пробоподготовки объектов к микроскопированию с целью выявления полного спектра анатомо - диагностических особенностей.

В настоящее время, согласно действующей нормативной документации [53], для просветления используют кипячение растительного сырья «Листья» и «Трава» в 2,5 - 5% растворе щелочи (рисунки 28, 29, 30). Недостатками кипячения в растворе щелочи выступают воздействие температуры и агрессивной жидкости на растительный объект, что влечет за собой повреждение некоторых диагностически – значимых структур (особенно пленчатых раструбов и цветка), а также, возможность взаимодействия БАВ (флавоноиды, слизи и др.), присутствующих в растении, с натрием гидроксидом с образованием окрашенных

продуктов (черного, красновато-бурого, коричневого цвета), мешающим проведению анализа при этом необходимо несколько раз сменять раствор щелочи на чистый с повторным нагреванием (Рисунок 28). Затруднения в проведении микроскопического анализа с использованием в качестве пробоподготовки кипячения в щелочном растворе наблюдались для всех видов ряда *Lapathiiformes* и *Amphibia*, которые характеризуются большей толщиной листовой пластинки (Приложение 3А, рисунки 1 – 28).

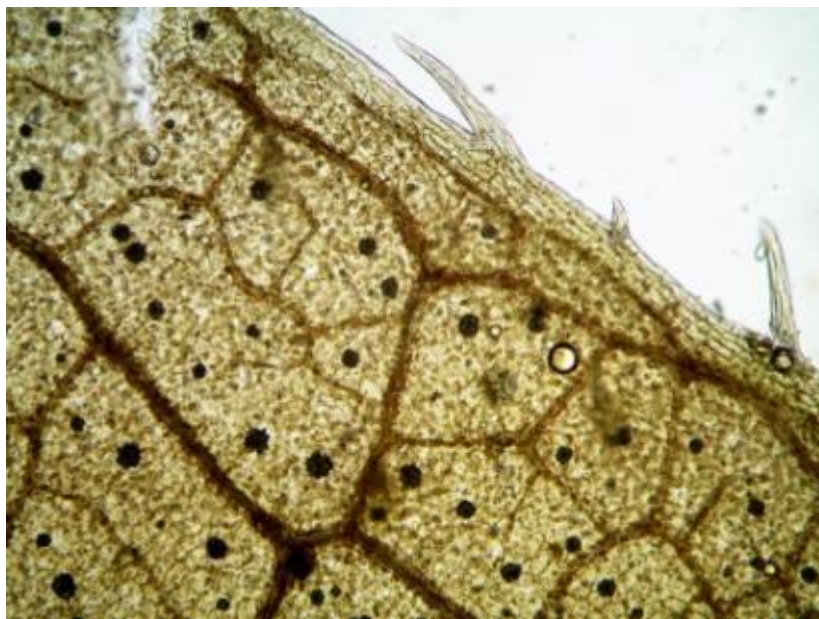


Рисунок 28 - Фрагмент листовой пластинки горца почечуйного (ув. x100) (просветление в растворе щелочи)

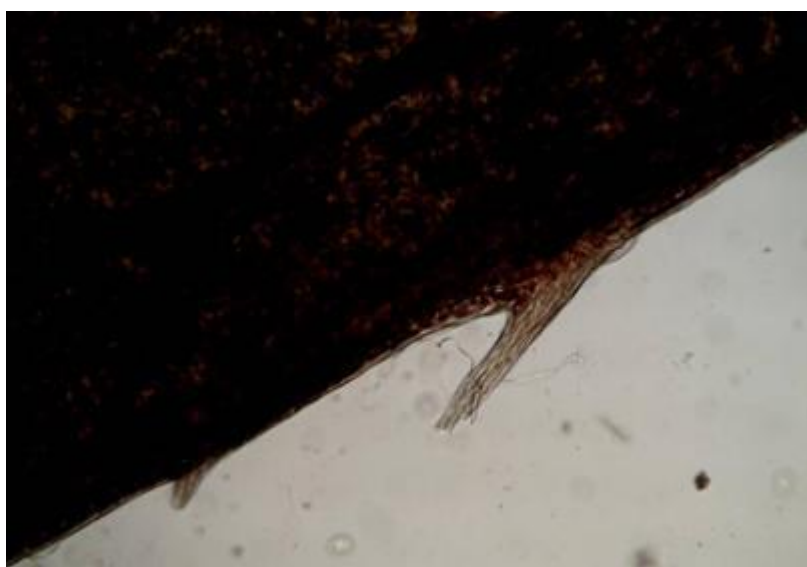


Рисунок 29 - Фрагмент листовой пластинки горца щавелелистного (ув. x100) (просветление в растворе щелочи)

Также в ОФС.1.5.3.0003.15 ГФ РФ XIV описан способ пробоподготовки, заключающийся в кипячении в растворе хлоралгидрата, разбавленного водой (1:1) в течение 5 – 10 мин (до просветления) (для микроскопирования плотных кожистых листьев) [53]. С использованием данного метода были получены лучшие результаты (рисунок 30), однако, образцы имели довольно ограниченный срок использования.

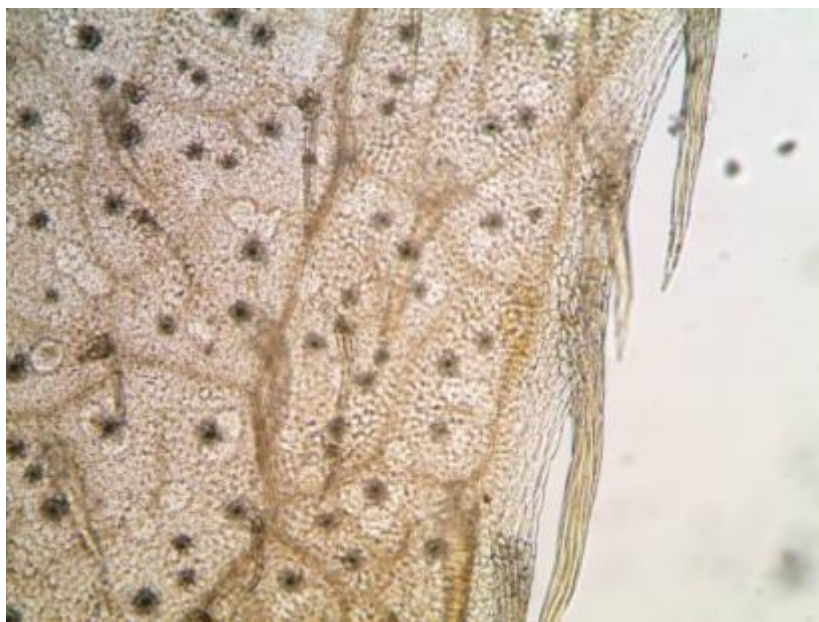


Рисунок 30 - Фрагмент листовой пластинки горца земноводного (наземная форма) (ув. x100) (просветление в растворе хлоралгидрата)

Для объектов с грубой гистологической структурой (коры, корни), применяют замачивание в течение 3-5 дней в растворе состава спирт этиловый – глицерин – вода (1:1:1) [53, 148]. При выполнении поперечных срезов для анализа стеблей, черешков и жилок листа, объект после обработки кипячением в растворе щелочи и хлоралгидрата теряет форму, становится слишком мягким, что также наблюдается при выдерживании объектов в растворе состава спирт этиловый – глицерин – вода (1:1:1), и влечет за собой невозможность анализа структур на поперечном срезе, оставляя возможность выполнения «давленных» микропрепаратов (приложение 3А, рисунки 8 - 13).

Большое количество кристаллических включений в листьях может мешать проведению микроскопического анализа и визуализации некоторых структур

(железок, вместилищ). Для удаления друз из клеток были внесены изменения в пробоподготовку объектов на примере травы горца почечуйного. Объект исследования кипятили в 10% водном растворе хлористоводородной кислоты около 5 минут и промывали дистиллированной водой и после чего 3 – 4 минуты нагревали в 2,5% растворе натрия гидроксида, что приводило к лучшему обесцвечиванию [202].

В результате подобной подготовки объектов, лучше визуализируются железки, вместилища и идиобласты, лишенные оксалата кальция, в виде крупных клеток. Более отчетливо становятся заметны устьица и железки, преимущественно расположенные снизу листа (рисунок 31).

На визуализацию остальных, характерных для данного объекта структур, последовательное кипячение в хлористоводородной кислоте и натрия гидроксида не повлияло. Недостатком подобного метода пробоподготовки является ограниченное время использования микропрепарата и увеличение времени пробоподготовки.

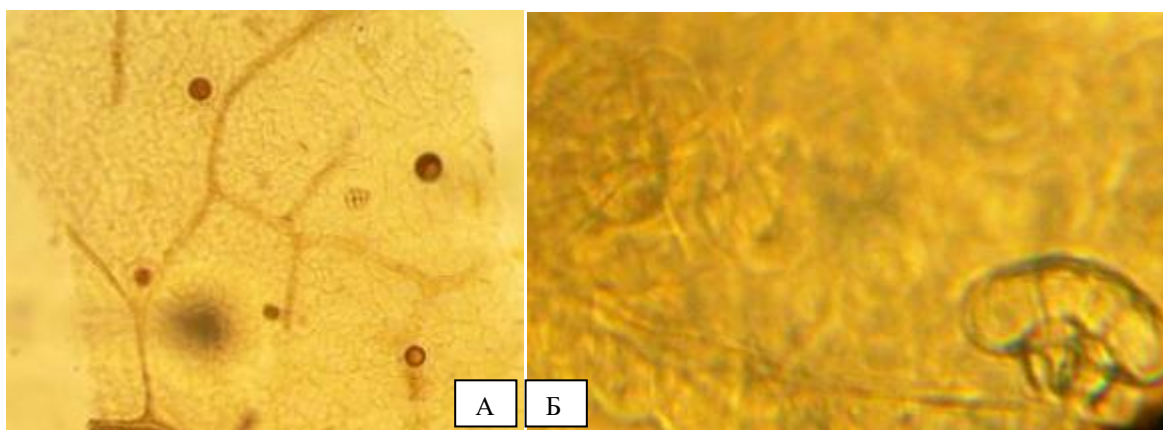


Рисунок 31 - Фрагмент листовой пластинки горца почечуйного (А – ув. x100, Б – ув. x400)

Одним из возможных способов пробоподготовки, апробированном на изучаемых растениях, является выдерживание объектов до обесцвечивания в спирте этиловом 95% (рисунки 32, 33, 34). Из клеток тонких высушенных листьев, в результате подобной подготовки, происходит вымывание хлорофилла, из-за чего, экстрагент необходимо несколько раз заменять на чистый и проводить

настаивание до обесцвечивания. При этом, для морфологических составляющих с нежной гистологической структурой (раструбы, лепестки венчика) выдерживание в спирте этиловом 95% является оптимальным способом пробоподготовки, так как не приводит к их разрушению.



Рисунок 32 - Фрагмент раструба горца почечуйного (ув. x400) (просветление в спирте этиловом 95%)

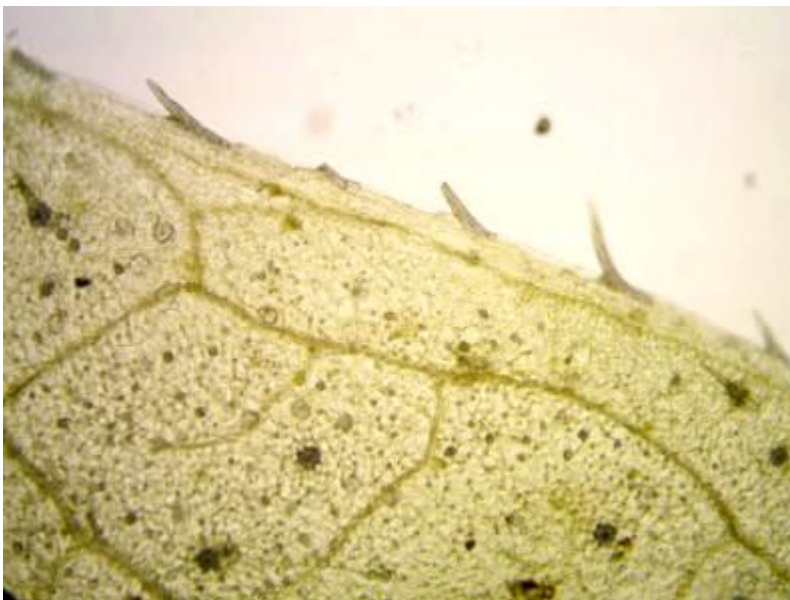


Рисунок 33 - Фрагмент листа горца малого (ув. x100) (просветление в спирте этиловом 95%)

Данный метод имеет ограниченное применение к анализу листьев некоторых видов ряда *Lapathiiformes* и *Amphibia* (так как виды имеют плотную листовую пластинку), однако, при анализе остальных объектов позволяет в нативном виде визуализировать все диагностически значимые структуры листа. Еще одним преимуществом данного способа является возможность выполнения поперечных срезов стеблей, черешков листьев и главных жилок (п.4.4. и 4.6)

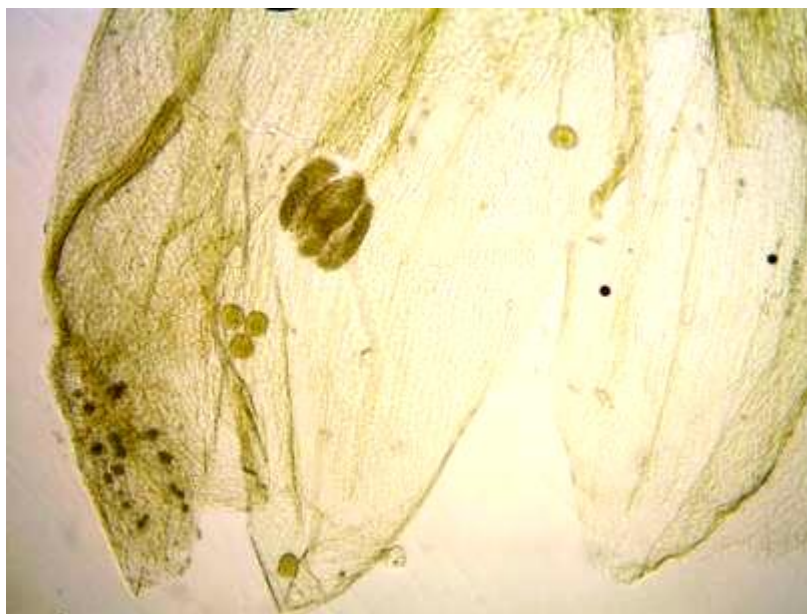


Рисунок 34 - Фрагмент цветка горца малого (ув. x100) (просветление в спирте этиловом 95%)

4.2. Изучение анатомических особенностей высушенной травы видов рода *Persicaria* Mill.

С помощью использованных в п.4.1. методов пробоподготовки были описаны и визуализированы анатомические признаки высушенной травы изучаемых видов (Приложение 3А, рисунки 1 - 28). Клетки эпидермиса пленчатых раструбов представителей рода горец прямоугольной формы, стенки клеток плотные. Кристаллические включения в виде друз оксалата кальция в основном сконцентрированы у основания пленчатого раструба. На поверхности встречаются четыре типа трихом, представленные реснитчатыми, нитевидными, пучковыми и пленчатыми волосками. На раструбе горца шероховатого и горца войлочного реснитчатые волоски довольно короткие, с трудом

визуализирующиеся с помощью метода стереомикроскопии, на раструбе горца малого и горца перечного реснитчатые волоски наиболее длинные. На поверхности раструба горца щавелелистного, горца Бриттингера и горца узловатого обнаружены длинные, тонкие нитевидные волоски. Пучковые волоски на поверхности раструба горца малого многочисленные, сильно вытянутые, заостренные к верхушке, у горца перечного - тупозаостренные. Для горца Бриттингера характерны редкие, мелкие, конусовидные пучковые волоски. На раструбе горца почечуйного заметно большое количество конусовидных удлинённых пучковых волосков с сильно выдающимся основанием. У горца шероховатого, горца щавелелистного и горца узловатого пучковые волоски не визуализировались. Существенным отличием в анатомическом строении раструба горца перечного является наличие мелких вместилищ с желтым содержимым. Пленчатые волоски различаются по размерам и форме и присутствуют на раструбах всех представителей рода. Пленчатые волоски многоклеточные, клетки плотно прилегают друг к другу, располагаются рядами. Зачастую, пленчатые волоски обламываются, оставляя после себя место прикрепления в виде двух близкорасположенных клеток.

Изучение анатомического строения стебля изучаемых объектов проводили на «давленных» микропрепаратах (после кипячения в растворе щелочи).

Клетки эпидермиса стебля всех изучаемых видов вытянутые, почти прямоугольной формы. На поверхности всех представителей рода визуализируются пленчатые волоски, имеющие разную форму. Например, на стебле горца почечуйного и горца перечного присутствуют редкие крупные пленчатые волоски с расходящимися в верхней части клетками, место прикрепления представлено в виде 2 – 4 овальных клеток. На поверхности стебля горца щавелелистного пленчатые волоски многочисленные, овальные в очертании, имеют тонкую ножку, зачастую согнутые, в отличие от таковых у горца узловатого. Место прикрепления представлено овальным образованием из 2 – х клеток. Пленчатые волоски горца шероховатого редкие, округлые, зачастую обломанные. На поверхности горца малого пленчатые волоски не

визуализированы. Пучковые волоски на стебле изучаемых видов встречаются довольно редко. По жилкам вдоль проводящих пучков проходят тяжи из друз оксалата кальция. Вместилища обнаружены на стебле горца перечного и горца шероховатого. Устьица отчетливо заметны на стебле горца земноводного (водная форма).

Клетки эпидермиса нижней стороны листа сильно извилистые, вытянутые, верхней – овальной, прямоугольной или многоугольной формы, крупные. Устьица аномоцитного типа расположены с обеих сторон листа, но, преимущественно снизу. Для представителей рода характерно наличие железок, имеющих 2-4 клеточную ножку и 4 (горцы перечный и малый) – 12 выделительных клеток, исключением является водная форма горец земноводный. Вместилища с бесцветным содержимым наиболее отчетливо заметны у горцев почечуйного, перечного и малого. Друзы оксалата кальция характерны для всех изучаемых объектов, но наиболее многочисленны в листьях горца узловатого. Трихомы представлены тремя типами: пучковые волоски, которые располагаются преимущественно по краю листа, жилкам, а также встречаются по поверхности листа (горец почечуйный), вдоль края листа (горец малый). Пленчатые волоски располагаются вдоль жилок. Нитивидные волоски характерны для нижней поверхности листа горцев войлочного, узловатого и щавелелистного. Кроме того, на верхней части листа горца щавелелистного встречаются редкие простые одноклеточные волоски, при обламывании которых остаются места прикрепления в виде розетки клеток эпидермиса.

Исключением в описании анатомических признаков листа видов рода горец является водная форма горца земноводного, клетки эпидермиса которого крупные, имеют плотные стенки, устьица расположены на верхней стороне листа. По краю листа встречаются редкие «роговидные» пучковые волоски. Железки и вместилища не визуализируются. Друзы оксалата кальция не многочисленные и встречаются на молодых листьях, расположенных над водой.

Цветок при кипячении объектов в растворе щелочи может оставаться в цельном виде или фрагментарно. Цветки мелкие, с простым околоцветником.

Листочки околоцветника имеют вытянутые клетки эпидермиса с извилистыми стенками, у водной формы горца земноводного клетки эпидермиса околоцветника с хорошо заметной складчатостью. В нижней части околоцветника (у его основания) видны друзы оксалата кальция, реже встречающиеся по поверхности листочков. Горец перечный характеризуется наличием вместилищ с желтым содержимым на всей поверхности околоцветника. Все представители рода имеют на поверхности околоцветника железки, отличающиеся по своим размерам и окраске. Наименьшее их количество характерно для горца почечуйного и горца узловатого. Железка имеет длинную ножку, иногда ножка может отсутствовать, а также 6-12 выделительных клеток. Тычиночные нити длинные, тонкие, пыльники овальной формы, встречаются пыльцевые зерна, однако, после данного способа пробоподготовки, анализ структуры поверхности пыльцевых зерен проблематичен. Пестик один с тремя столбиками.

4.3. Исследование анатомических особенностей свежезаготовленной травы видов рода *Persicaria* Mill.

В настоящее время, для получения лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, растительные объекты чаще всего используются в высушенном виде, однако, учитывая рост интереса к расширению диапазона использования растительного сырья, наблюдается тенденция к получению растительных соков, а также внедрению растительных объектов, применяемых в аллопатической практике, в гомеопатию, где они также используются в свежем виде. Также, важной задачей фармакогнозии является исключение загрязнения растительного сырья примесными видами на этапе его заготовки. Поэтому, полное всестороннее описание и поиск уникальных анатомических маркеров, позволяющих определить подлинность и идентифицировать виды среди близкородственных является актуальным.

Пробоподготовка свежего растительного сырья в НД не описана, однако, согласно [135], свежие объекты перед микроскопированием, в ботанической практике, для восстановления структуры клеток (при потере объектом влаги и

появлении увядания) используют намачивание водой очищенной с последующей препаратией тканей. Данный способ не позволяет освободить объект от хлорофилла, что затрудняет анализ.

При обработке свежего сырья способами, указанными в НД, удаления хлорофилла не происходит, объект приобретает серовато-коричневый оттенок.

Нами был предложен способ, позволяющий установить основные диагностически значимые признаки ЛРС при микроскопировании в нативном виде без воздействия агрессивных факторов, температуры на БАВ и анатомические структуры для определения подлинности растительных объектов в фармакогностическом анализе. При этом, данная методика проста в исполнении, экспрессна, технологически и экономически выгодна и позволяет в удобное для аналитика время осуществлять детектирование за счет консервирования образца.

Необходимое количество свежего растительного сырья помещали в герметично закрывающуюся тару, заливали 96% спиртом этиловым так, чтобы фрагменты растений были скрыты под слоем жидкости («до зеркала»), количество экстрагента зависит от формы и размера исследуемых объектов. Настаивание проводили в течение 5-12 часов до полного экстрагирования хлорофилла с обесцвечиванием сырья, до момента, когда части растений становились прозрачными. При этом, тонкие, свежесобранные листья достаточно выдержать в спирте в течение 5 часов, стебли, черешки и плотные листья не менее 5 часов. Небольшие листья, цветки брали в цельном виде, крупные части растений, такие как стебли, длинные листья частично измельчали. После обесцвечивания объект извлекали из спиртового раствора и подвергали микроскопированию с помощью светового микроскопа. В случае исследования тонких листьев и цветков, готовили препарат с поверхности. При изучении плотных листьев и стеблей, после извлечения объекта из спиртового раствора, делали поперечные срезы, которые также помещали в каплю хлоралгидрата на предметном стекле и микроскопировали.

Данный раздел посвящен углубленному изучению микроскопических характеристик исследуемых видов рода горец в спирте этиловом 95%. Все

анатомические признаки визуализированы, микрофотографии представлены в приложении 3Б.

В связи с современными требованиями НД, установлены биометрические характеристики всех анатомических признаков и проведено их сравнение (таблица 1 приложения 3Б).

4.3.1. Анатомическое строение горца земноводного (наземная форма)

Persicaria amphibia var. terréstris Delarbre

Клетки эпидермиса раструба сильно вытянуты с ровными краями, более крупные у основания. Многочисленные пучковые волоски находятся как по всей поверхности раструба так и по его жилкам. Клетки волосков спутаны и не редко расходятся на верхушке. Пленчатые волоски крупные, могут быть обломаны, места их прикрепления визуализируются в виде ножки, состоящей из двух клеток. Реснитчатые волоски не визуализируются, верхушка раструба ровная. Включения (друзы) находятся у основания раструба (Приложение 3Б, рисунки 1, 2).

Клетки эпидермиса листа с верхней стороны крупные, правильной формы, снизу – вытянутые с извилистыми стенками. Устьица на обеих сторонах листа аномоцитного типа. Длинные многочисленные пучковые волоски расположены по поверхности, жилкам и краю листа. Кристаллические включения представлены многочисленными и крупными друзами оксалата кальция. Отчетливо визуализируются вместилища. Черешок покрыт большим количеством крупных пучковых волосков.

Клетки эпидермиса стебля горца земноводного (наземная форма) имеют вытянутую форму, с четкими утолщениями стенок, устьица встречаются редко. Хорошо заметны многочисленные железки, с 2-х клеточной ножкой и 6 - 8 радиально расположенных выделительных клеток. Вдоль проводящих пучков заметны цепочки из мелких друз кальция оксалата. Пленчатые волоски с двухклеточной ножкой, зачастую обламываются, пучковые волоски на стебле обнаружены не были.

4.3.2. Анатомическое строение горца земноводного (водная форма)

Persicaria amphibia Гран

Реснички на концах раструбов не визуализируются при данном способе пробоподготовки, клетки крупные, оболочки клеточных стенок очень плотные. На поверхности имеются пленчатые волоски (имеют 4 ряда клеток, количество которых достигает до 40), довольно крупные, как буровато-коричневого цвета, так и бесцветные. Места прикрепления четко обозначены и состоят из двух клеток. Друзы оксалата кальция очень крупные, располагаются преимущественно в нижней части раструба.

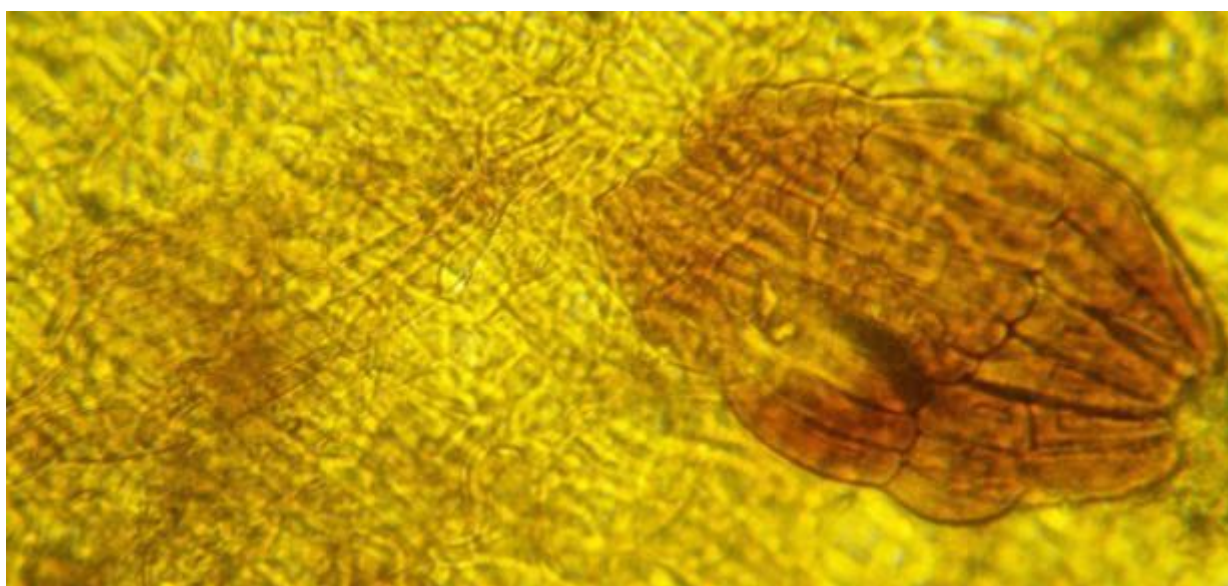


Рисунок 35 - Пленчатые волоски на листьях горца земноводного (ув. x400)

Клетки верхнего эпидермиса листа почти овальной формы, нижней- сильно вытянуты. По краю листа имеются выросты, похожие на пучковые волоски (рисунок 35), присущие всем представителям, но с плотно спаеными клетками. На поверхности листа редкие железки. Аэренхима отчетливо заметна. Устьица преимущественно на верхней стороне листа. Друзы оксалата кальция не многочисленны, визуализируются железки коричневатого цвета.

Клетки эпидермиса стебля крупные с четко видными утолщениями клеточных стенок, друзы многочисленные, располагаются вдоль проводящих волокон. Встречаются характерные для рода железки, с основанием из 2, реже из 4 клеток и с 8-16 клетками на головке.

Эпидермис венчика имеет вытянутые клетки с мало извилистыми стенками, у основания лепестка клетки имеют почти ромбическую форму. Друзы оксалата кальция многочисленные, располагаются по всему лепестку. Железки довольно крупные, желтоватого цвета, с отчетливо заметной ножкой. У основания лепестков имеется большое количество одноклеточных волосков. Рыльце имеет 2 столбика. Пыльцевые зерна крупные, желтоватого цвета с ямчатой поверхностью (Приложение 3Б, рисунки 3, 4).

4.3.3. Анатомическое строение горца шероховатого

Persicaria scábra Moldenke

Клетки эпидермиса раструба разной формы и размеров, от овальной до прямоугольной, стенки ровные. Жилки раструба широкие, отчетливо выраженные. Вдоль жилок встречаются пленчатые волоски, имеющие как 3 – 4 рядов клеток, так и вытянутые с 5-9 рядами клеток и места их прикрепления в виде двухклеточной ножки. Реснитчатые волоски очень редкие, в основном, они встречаются на раструбах в верхней части стебля. В нижней части раструба присутствуют редкие сильно вытянутые пучковые волоски. Вдоль жилок наблюдаются тяжи из мелких друз оксалата кальция, наибольшее количество которых наблюдается при основании раструба.

Черешок листа сильно опушен сросшимися пучковыми волосками, шероховатый.

Клетки верхнего эпидермиса почти овальные, крупные, нижнего – немного извилистые, устьица многочисленные аномоцитного типа. Пучковые волоски наблюдаются по краю листа и поверхности. Крупные железки многочисленные, имеют 2 - 4 клеточную ножку и 8-14 выделительных клеток. Хорошо заметны крупные буроватые вместилища и друзы оксалата кальция.

Эпидермис стебля имеет прямоугольные клетки с сильно утолщенными оболочками. Хорошо заметны многочисленные крупные друзы оксалата кальция вдоль проводящих элементов. Железки встречаются редко, наблюдаются немногочисленные места прикрепления пленчатых волосков.

Эпидермис венчика сильно извиленный, в нижней части с крупными, почти прямоугольными клетками. На внутренней поверхности венчика имеются одноклеточные волоски в виде сосочковидных выростов. На внешней стороне лепестка визуализируются крупные железки желтого цвета. В нижней части на лепестках присутствуют мелкие и многочисленные друзы оксалата кальция. Пыльцевые зерна крупные, желтоватого цвета с ямчатой поверхностью.

Плод от темно-коричневого до черного цвета, крупный с расширенным основанием и узкой верхушкой с углублением на поверхности (Приложение 3Б, рисунки 5 – 7).

4.3.4. Анатомическое строение горца щавелелистного

***Persicaria lapathifolia* Delarbre**

Раструб на верхушке имеет редкие короткие реснитчатые волоски, расположенные как продолжение жилки и как отдельная структура. По всей поверхности раструба и по жилкам разбросаны не большие, конической формы с широким основанием пучковые волоски. Пленчатые волоски не многочисленные, мелкие, часто отламывающиеся. На месте слома остаются следы в виде двухклеточной ножки. Клетки эпидермиса раструба сильно вытянутые, боковые места сочленения клеток извиленные. Устьица крупные, хорошо заметные. У основания раструба присутствует много друз оксалата.

Клетки верхнего эпидермиса листа крупные, немного извиленные, клетки нижнего эпидермиса вытянутые стенки сильно извиленные. Устьица преимущественно располагаются на нижней стороне листовой пластинки (аномоцитного типа). По краю листа встречаются крупные, длинные расходящиеся на верхушке пучковые волоски, располагающиеся на всей поверхности листа. Снизу листа также находятся пучковые волоски, но меньше в размерах. Визуализируются редкие нитевидные волоски. Также по всей поверхности листа наблюдаются крупные друзы оксалата кальция, вместилища с темным и светлым содержимым, редкие желтоватые железки (рисунок 3б).

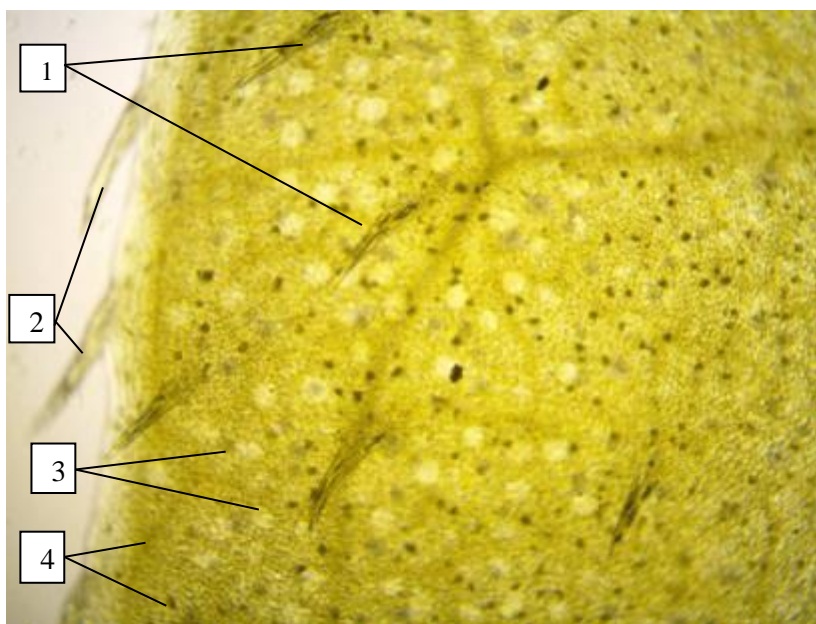


Рисунок 36 - Анатомическое строение листа горца щавелелистного (ув. x100): 1 - пучковые волоски на верхней стороне, 2 – пучковые волоски по краю, 3 – вместилища, 4 – друзы оксалата кальция

Эпидермис стебля имеет сильно вытянутые клетки с толстыми оболочками. Пучковые и пленчатые волоски очень редкие, могут отсутствовать. По всему препарату отчетливо видны многочисленные железки с 1-2 клеточной ножкой и 10-16 выделительными клетками. Визуализируется большое количество вместилищ с желтым содержимым (рисунок 37). Друзы оксалата кальция немногочисленные, присутствуют вдоль проводящих пучков.

Листочков околоцветника четыре, эпидермис лепестков имеет сильно вытянутые клетки с извилистыми стенками, у основания лепестка клетки с ровными краями, ромбовидные. На внутренней поверхности лепестка в нижней части наблюдается большое количество одноклеточных волосков. Друзы оксалата кальция в большом количестве располагаются у основания лепестков.

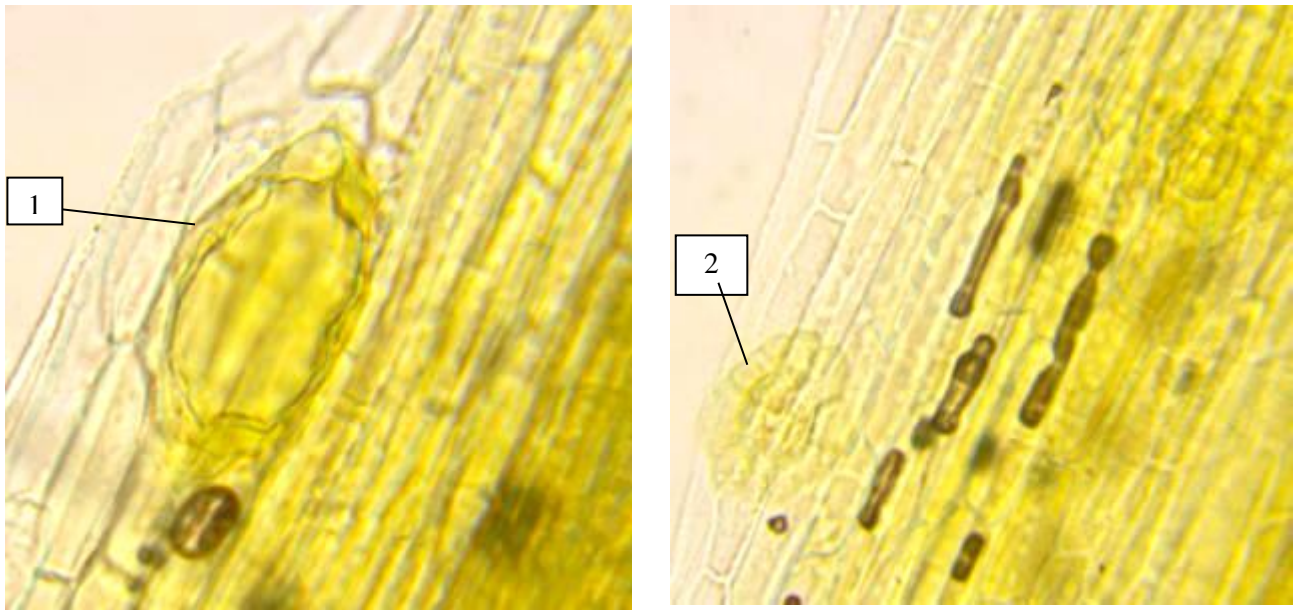


Рисунок 37 - Анатомическое строение стебля горца щавелелистного (ув. х400): 1 – вместилище, 2 – железка

Железки очень крупные, почти бесцветные, имеют от 6-10 выделительных клеток и короткую ножку. Пыльцевые зерна крупные, бледно желтого цвета.

Плод черный или буровато-коричневый, обратно-яйцевидной формы, с сильно расширенным основанием и заостренной верхушкой. На обеих сторонах плод вдавленный (Приложение 3Б, рисунки 8, 9).

4.3.5. Анатомическое строение горца узловатого *Persicaria nodosa* Opiz

Раструб горца узловатого имеет крупные клетки эпидермиса, прямоугольной формы. Жилки раструба отчетливо выраженные. На верхней части имеются не длинные реснитчатые волоски, иногда раздвоенные. На поверхности раструба встречаются длинные нитевидные волоски, а также пленчатые волоски желтоватого цвета. Зачастую пленчатые волоски обламываются, оставляя место прикрепления в виде двухклеточного основания. Друзы оксалата кальция многочисленные, располагаются преимущественно в нижней части раструба. Пучковых волосков обнаружено не было.

Клетки эпидермиса листа с верхней стороны крупные, правильной формы, снизу – вытянутые с извилистыми стенками. На обеих сторонах листа устьица аномоцитного типа.

Пучковые волоски встречаются как по краю, так и по всей поверхности листовой пластинки, довольно крупные. Встречаются нитевидные волоски. На центральной жилке заметны редкие пленчатые волоски. Железки крупные, желтовато-бурого цвета. Вместилища с бесцветным содержимым. Друзы оксалата кальция многочисленные и крупные.

Клетки эпидермиса стебля не однородны по размеру, многоугольные или прямоугольные. На поверхности эпидермиса встречаются многочисленные пленчатые волоски желтоватого цвета, иногда обламывающиеся и оставляющие после себя место прикрепления (в виде двухклеточной ножки). Визуализируются редкие нитевидные волоски. Друзы оксалата кальция мелкие, расположены в виде тяжей вдоль проводящих пучков.

Строение цветка схоже с представителями рода, главным отличием является наличие на листочках околоцветника пучковых волосков. Железки очень редкие, прозрачные (Приложение 3Б, рисунки 10 – 13).

Клетки эпидермиса раструба прямоугольные, с извилистыми боковыми стенками. Реснитчатые волоски на верхней части раструба довольно крупные (рисунок 38). Жилки на раструбах сильно выражены. На поверхности раструба заметны сильно вытянутые одноклеточные (нитевидные) волоски, клетки эпидермиса в местах прикрепления которых, образуют розетку. Пленчатые волоски многочисленные. Друзы оксалата располагаются в нижней части раструба.

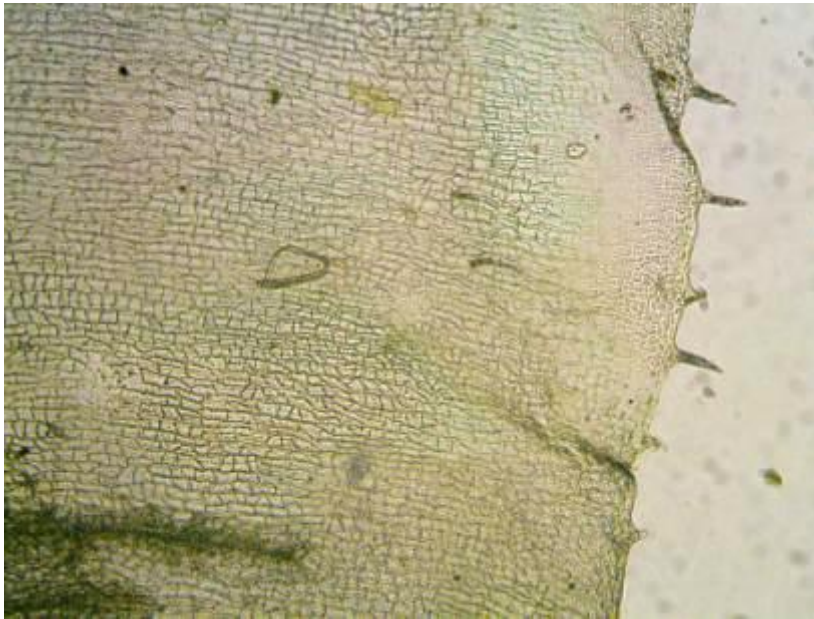


Рисунок 38 - Фрагмент раструба горца Бриттингера (ув. x100)

Клетки эпидермиса листа с верхней стороны крупные, правильной формы, снизу – вытянутые с извилистыми стенками. Устьица на обеих сторонах листа аномоцитного типа. На краю листа, реже по жилкам, визуализируются крупные пучковые волоски. На нижней поверхности листа большое количество длинных нитевидных одноклеточных волосков (особенно на молодых листьях). Железки редкие, не крупные, желтоватого цвета. Друзы крупные, многочисленные.

Клетки эпидермиса стебля крупные, вытянутые, почти прямоугольной формы. Друзы оксалата кальция крупные, располагаются вдоль проводящих пучков.

Клетки эпидермиса околоцветника в верхней части сильно вытянутые, у основания – ромбические с утолщенными стенками. Железки крупные, бесцветные. Друзы оксалата кальция расположены в большом количестве у основания лепестка, там же, на внутренней поверхности многочисленные одноклеточные волоски. Пыльцевые зерна крупные, почти бесцветные с ямчатой поверхностью (Приложение 3Б, рисунки 14, 15, 16).

4.3.7. Анатомическое строение горца войлочного

Persicaria tomentosa E.P. Vicknell

Клетки эпидермиса раструба разноразмерные, от ромбовидных до вытянутых прямоугольных. Реснитчатые волоски редкие и короткие, на поверхности раструба большое количество спутанных нитевидных волосков (рисунок 39). Пучковые волоски многочисленные, конусовидные мелкие или вытянутые, длинные.

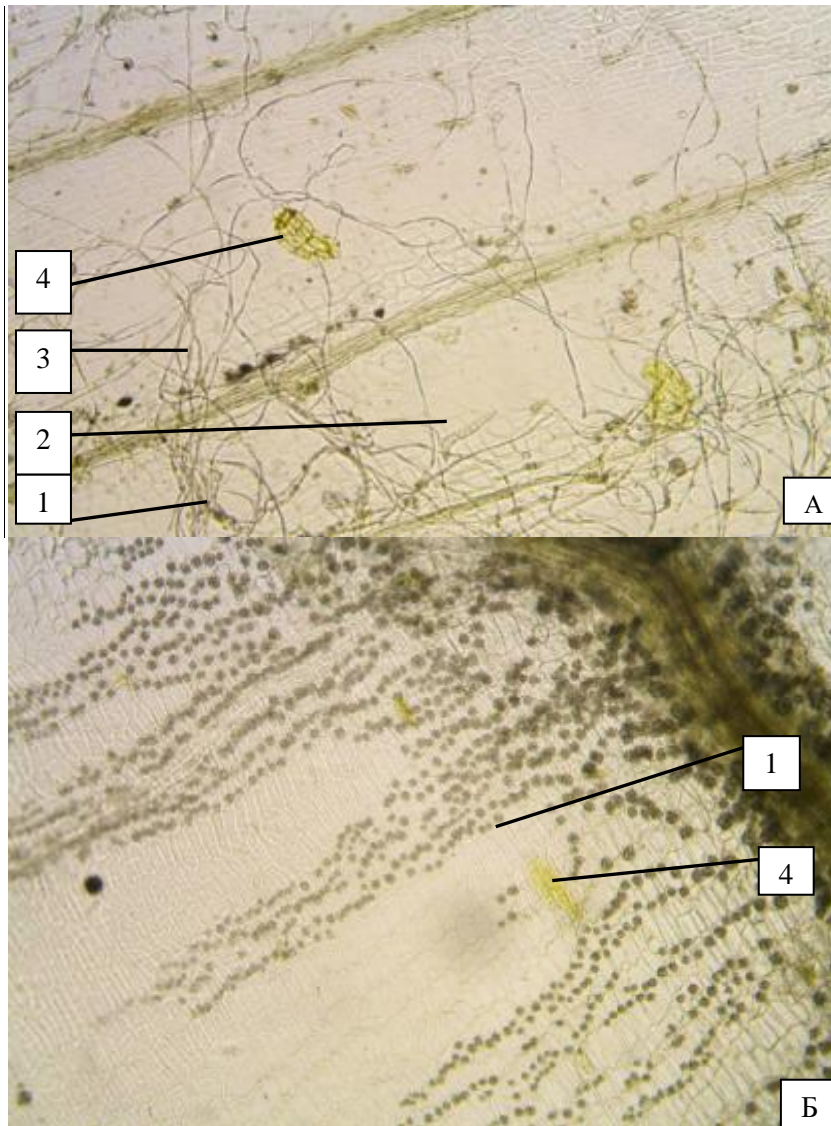




Рисунок 39 - Анатомическое строение раструба горца войлочного, А (ув. x100) – верхняя часть раструба, Б (ув. x100) – основание раструба: 1 – друзы оксалата кальция, 2 – пучковые волоски, 3 - нитевидные волоски, 4 – пленчатые волоски, В (ув. x400) - 5 – место прикрепления нитевидного волоска

Пленчатые волоски вытянутые, желтовато-бурого цвета. Места прикрепления пленчатых волосков в виде двуклеточной ножки. Друзы оксалата кальция встречаются вдоль хорошо выраженных жилок, особенно многочисленны у основания раструба. Микроскопическое строение листа горца войлочного сходно с таковым горца Бриттингера.

Клетки эпидермиса листа с верхней стороны крупные, правильной формы, снизу – вытянутые с извилистыми стенками. Устьица расположены на обеих сторонах листа, преимущественно снизу. Пучковые волоски локализованы по краю листа, с сильно расширенным основанием, на поверхности редкие встречаются тонкие вытянутые пучковые волоски. На нижней части листовой пластинки большое количество нитевидных волосков. Вместилища редкие, с бесцветным содержимым. Железки встречаются довольно часто, желтоватого цвета, имеют ножку, состоящую из 2 клеток и овальную головку из 6-12 выделительных клеток.

Клетки эпидермиса стебля от прямоугольных до сильно вытянутых. Встречается большое количество пучковых волосков разного размера, а также места прикрепления пленчатых волосков в виде одного ряда клеток или двухклеточного основания. Друзы оксалата кальция многочисленны, визуализируются в виде тяжей вдоль проводящих пучков.

Клетки эпидермиса верхней части листочка околоцветника сильно вытянуты с извилистыми краями, снизу - ромбической формы. Железки желтоватого цвета, крупные, многочисленные. Большое количество друз оксалата кальция располагается в нижней части лепестка. Пыльцевые зерна крупные, округлой формы с ямчатой поверхностью (Приложение 3Б, рисунки 17, 18).

4.3.8. Анатомическое строение горца перечного

***Persicaria hydropiper* Delarbre**

В верхней части раструба горца перечного наблюдаются реснитчатые волоски разного размера. Клетки эпидермиса прямоугольные, сильно вытянутые по ширине с извилистыми боковыми стенками. Пучковые волоски также не одинаковы по размерам. Они располагаются как по жилкам, так и по всей поверхности раструба, широкие, плотно прилегающие. Пленчатые волоски также многочисленные, буроватого цвета. Кроме того, на поверхности раструба встречаются вместилища с желтоватым содержимым. Друзы оксалата кальция визуализируются в нижней части раструба (рисунок 40).

Клетки эпидермиса листа с верхней стороны крупные, правильной формы, снизу – вытянутые с извилистыми стенками. Устьица на обеих сторонах листа аномоцитного типа.

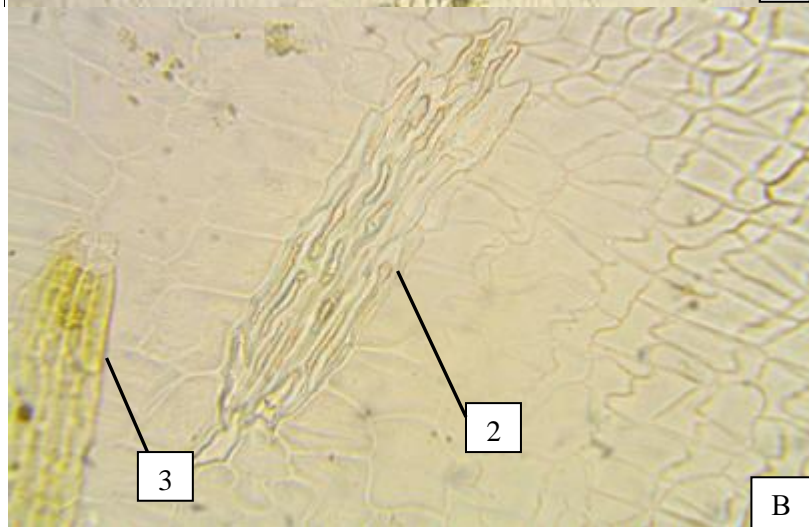
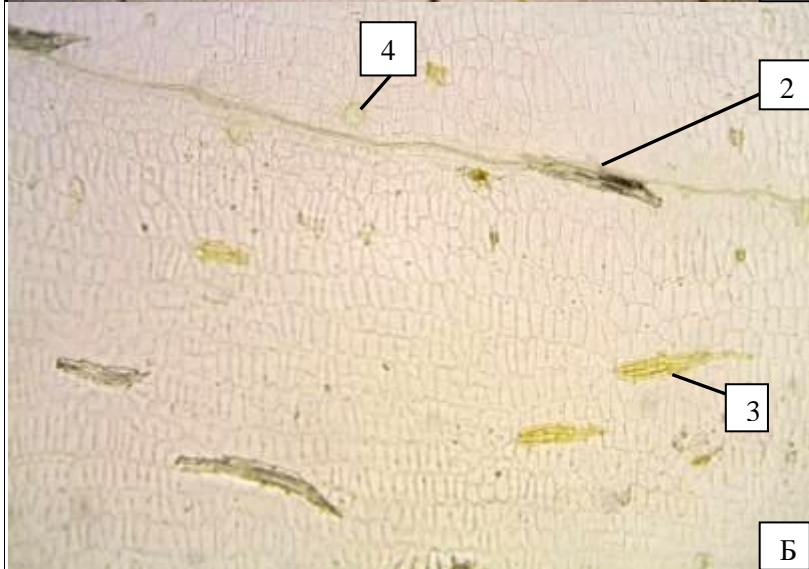
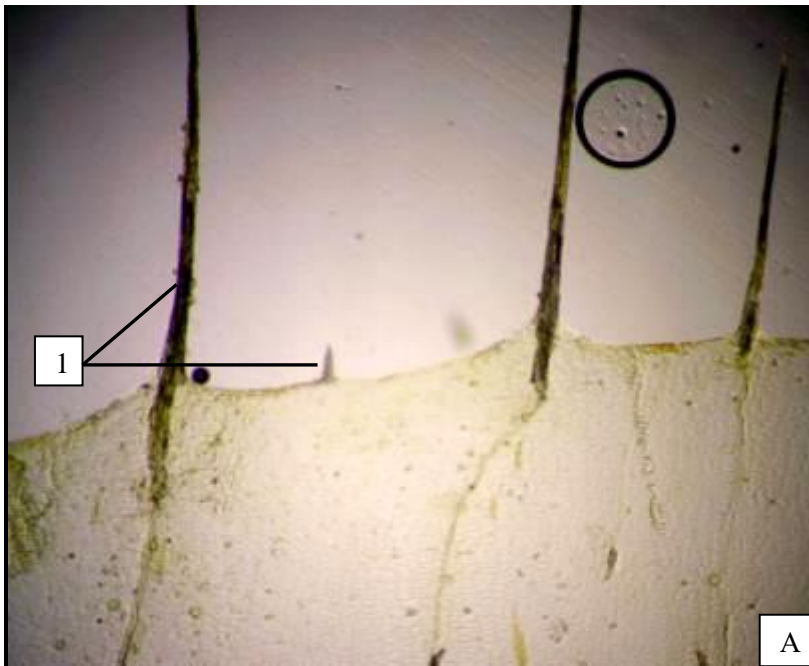




Рисунок 40 - Анатомическое строение раструба горца переченого: 1 – реснитчатые волоски, 2 – пучковые волоски, 3 – пленчатые волоски, 4 – вместилища (А ув. х40, Б ув. х100, В, Г ув. х400)

Пучковые волоски в основном по краю листа. Железки мелкие, состоят из четырех клеток, вместилища крупные многочисленные, с желтым содержимым. Друзы оксалата кальция не крупные, встречаются часто (рисунок 41).

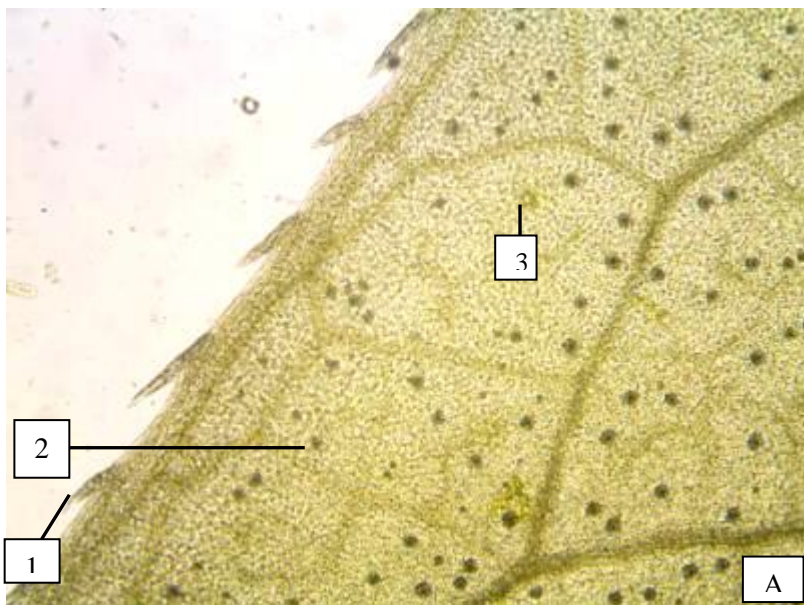


Рисунок 41 - Анатомическое строение листа горца переченого (ув. х100): 1 – пучковые волоски, 2 – друзы оксалата кальция, 3 – вместилища

Клетки эпидермиса стебля сильно вытянуты, визуализируются редкие желтоватые железки с двухклеточным основанием и 6-10 выделительными клетками и крупные вместилища с желтым содержимым. Друзы мелкие, расположены вдоль проводящих элементов.

Клетки эпидермиса венчика сильно вытянуты, снизу – ромбической формы с сильно утолщенными стенками. Железки мелкие, редко встречающиеся. Вместилища многочисленные, очень крупные с желтым содержимым. Друзы оксалата кальция редкие, мелкие в нижней части лепестка (рисунок 42) (Приложение 3Б, рисунок 19).

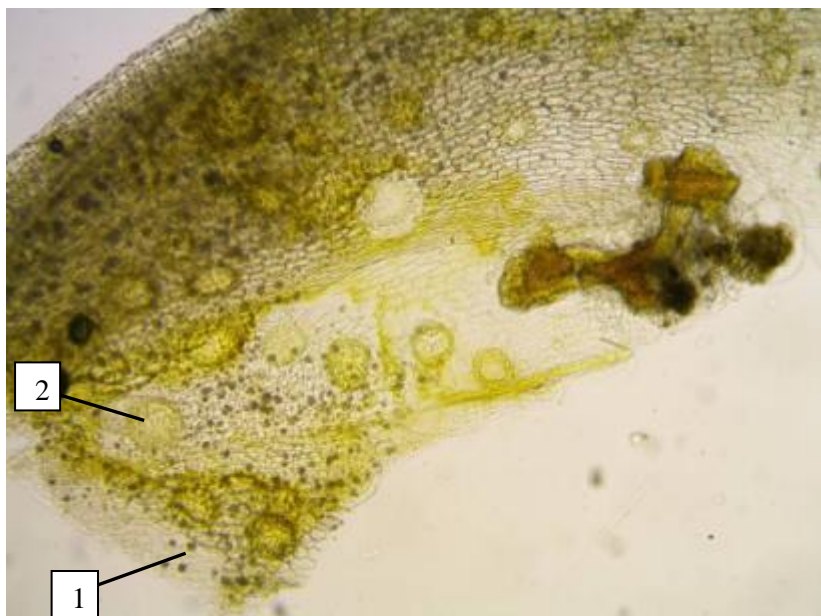


Рисунок 42 - Анатомическое строение цветка горца перечного (ув. x100): 1 – друзы оксалата кальция, 2 – вместилища

4.3.9. Анатомическое строение горца малого *Persicaria minor* Opiz

Раструб горца малого на верхнем конце имеет длинные реснитчатые волоски, часто являющиеся продолжением жилок раструба. Жилки крупные, широкие, отчетливо заметные. По всей поверхности раструба в большом количестве имеются пленчатые волоски, при отпадании которых остаются места их прикрепления в виде короткой двухклеточной ножки. По жилкам раструба и по поверхности эпидермиса часто встречаются крупные пучковые волоски с удлиненным основанием. Эпидермис раструба образован крупными клетками, ромбической формы с извилистыми краями. Друзы оксалата кальция мелкие и расположены у основания (рисунок 43).

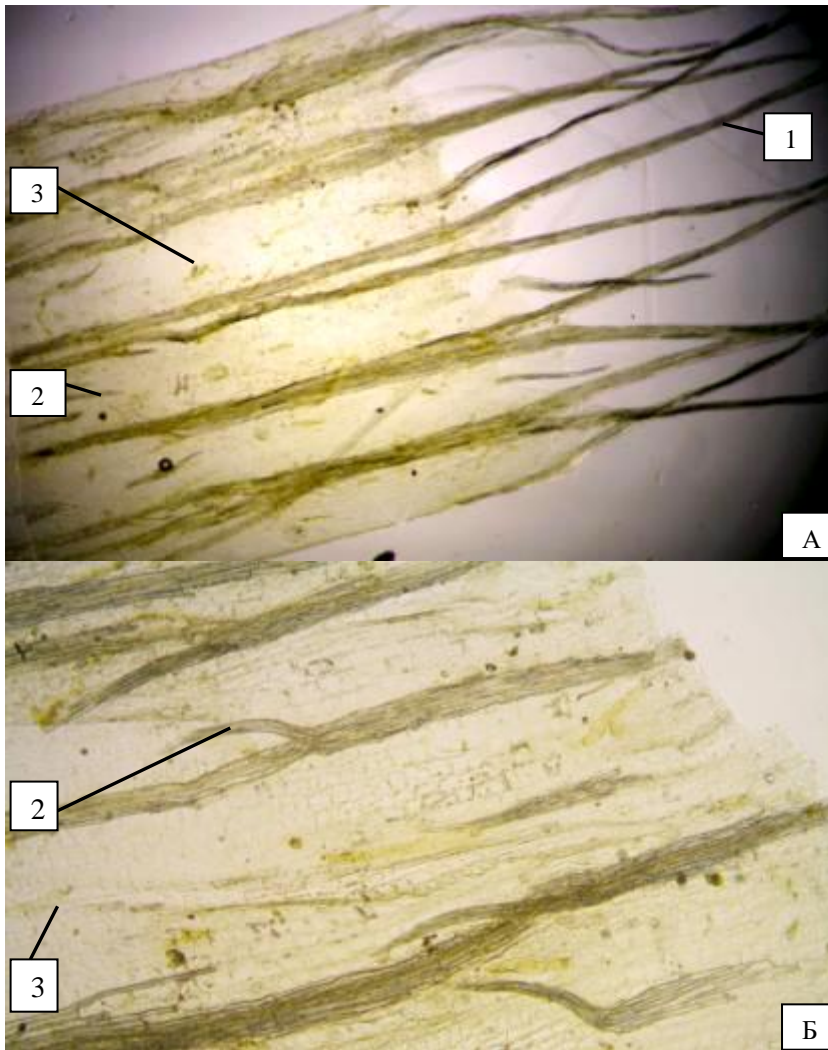


Рисунок 43 - Анатомическое строение поверхности раструба горца малого: 1 – реснитчатые волоски, 2 - пучковые волоски, 3 – пленчатые волоски (А ув. x40, Б ув. x100)

Верхний эпидермис листа крупными, овальными клетками, снизу – клетки суженные со слегка извилистыми стенками. Устьица расположены на обеих сторонах листа, имеют аномоцитный тип строения.

На поверхности листа пучковые волоски встречаются редко, короткие и узкие, многочисленные по краю листа. Друзы оксалата кальция многочисленные, крупные. Кроме пучковых, по жилкам и поверхности листа встречаются пленчатые волоски и места их прикрепления в виде двуклеточной ножки. По всему листу в большом количестве наблюдаются светлые просвечивающиеся и темные вместилища. Железки крупные, многочисленные, имеют от 8-14 выделительных клеток, желтоватого цвета.

Клетки эпидермиса стебля сильно вытянуты, вдоль проводящих пучков встречаются друзы оксалата кальция. По всей поверхности стебля заметны длинные пучковые волоски. Кроме того, отчетливо визуализируются редкие секреторные вместилища желтоватого цвета.

Эпидермис венчика имеет вытянутые клетки с извилистыми стенками, у основания клетки почти прямоугольной формы. В нижней части лепестка венчика имеется большое количество друз оксалата кальция. Железки довольно крупные, многочисленные, желтоватого цвета, имеют 4-8 выделительные клетки. Пыльцевые зерна округлые, желтоватого цвета с ямчатой поверхностью.

Плод черного цвета мелкий, почти крупный, с двумя слабо выраженными гранями (Приложение 3Б, рисунки 20, 21).

4.3.10. Анатомическое строение горца почечуйного

***Persicaria maculosa* S.F. Gray**

Реснитчатые волоски данного вида длинные, широкие, многочисленные, в нижней части стебля могут обламываться. Пучковые волоски раструба малочисленные, пленчатые желтоватого цвета, имеют двухклеточную ножку и зачастую обламываются. Друзы оксалата кальция разного размера, многочисленны, встречаются как у основания, так и по всей поверхности раструба (рисунок 44).

Клетки эпидермиса стебля горца почечуйного вытянутые, встречаются хорошо заметные устьяца. На стебле визуализируются пучковые волоски конической формы, удлиненные пленчатые волоски и железки, имеющие двухклеточную ножку и 6-8 выделительных клеток. Друзы оксалата кальция многочисленные, расположены вдоль проводящих пучков.

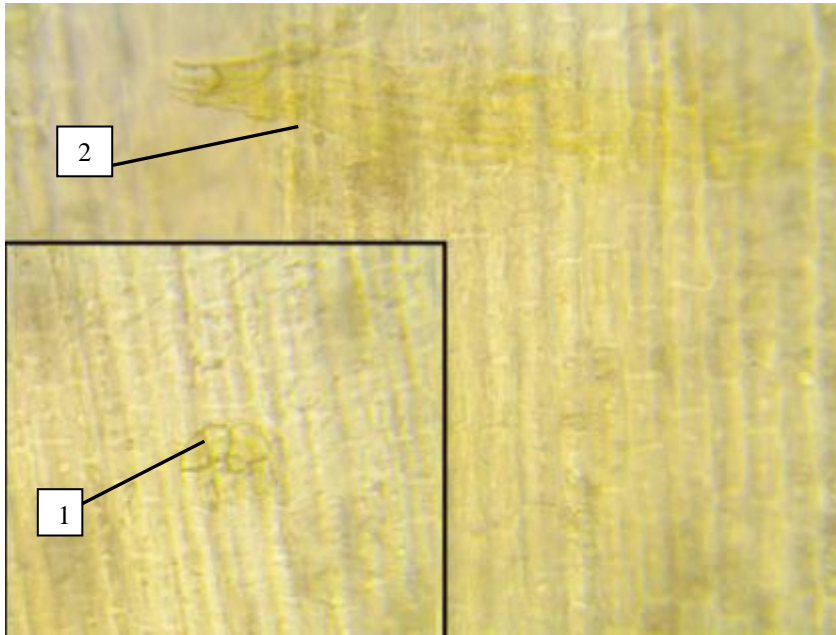


Рисунок 44 -Анатомическое строение стебля горца почечуйного (ув. х400):
1 – пленчатый волосок, 2 – железка

Клетки эпидермиса листа с верхней стороны крупные, правильной формы, снизу – вытянутые с извилистыми стенками. Устьица на обеих сторонах листа аномоцитного типа.

На обеих сторонах листа визуализируются железки на 2-4-клеточной ножке с головкой из 8 (12-16) клеток, вместилища крупные бесцветные. Характерные многоклеточные пучковые волоски расположены на верхней стороне листа по жилкам и по краю. Друзы оксалата кальция расположены преимущественно у основания листа. На жилке листа располагаются мелкие желтоватые железки.

Строение цветка схоже с другими представителями рода, описанными выше. Явным отличием данного вида является редкая встречаемость железок на околоцветнике (рисунок 45). Железки очень мелкие, состоят из двухклеточной ножки и 4 – 10 выделительных клеток. Пыльцевые зерна мелкие, округлые, многопоровые (Приложение 3Б, рисунки 22, 23).

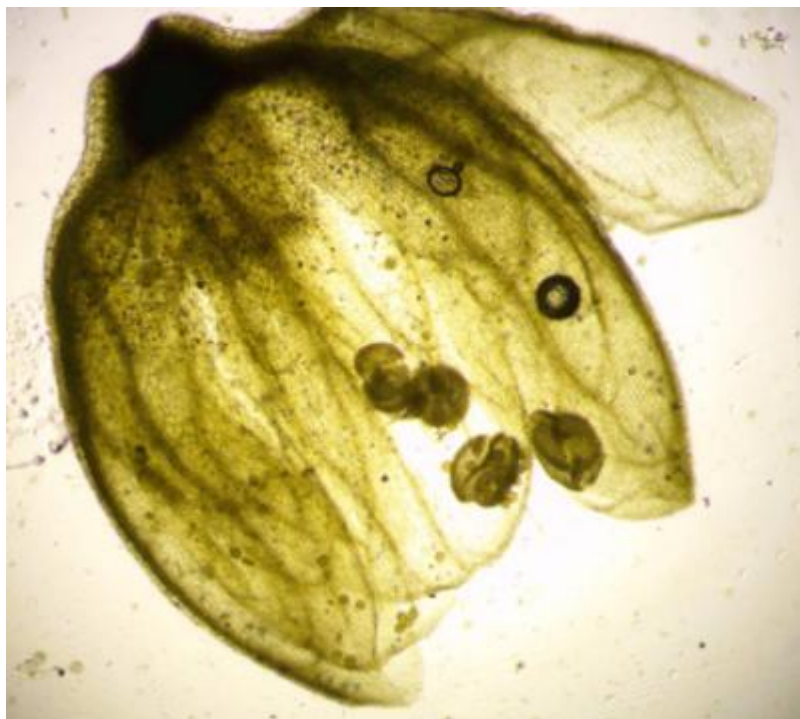


Рисунок 45 - Анатомическое строение цветка горца малого (ув. x100)

Частота встречаемости устьиц, друз оксалата кальция, железок, вместилищ и пучковых волосков по поверхности листа приведены в таблице 6.

Таблица 6 - Частота встречаемости некоторых признаков на листьях видов рода горец

Объект	Частота встречаемости на единицу площади (1мм ²)				
	Устьица	Железки	Друзы	Вместилища	Пучковые волоски на поверхности
Горец почечуйный	50±10	40±7	70±10	50±10	40±5
Горец земноводный (НФ)	100±10	40±5	140±30	80±23	90±10
Горец земноводный (ВФ)	120±10	50±10	-	90±15	-
Горец щавелелистный	50±5	20±5	120±45	130±20	60±10
Горец шероховатый	95±5	35±5	150±25	-	0-5 (по жилкам)
Горец малый	60±5	25±5	150±20	170±15	10±2 (по жилкам)
Горец перечный	144±10	25±5	130±25	40±10	-
Горец Бриттингера	80±10	20±5	170±15	-	10 ±2 (по жилкам)
Горец узловатый	65±15	15±5	180±45	50±10	70±10
Горец войлочный	115±5	30±5	200±30	-	86±7

	Нитевидные волоски	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	Железки	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	Вместилища	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	Кристаллические включения (друзы)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Стебель	Пленчатые волоски	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	Железки	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-
	Вместилища	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-
Цветок	Железки	+	+/-	+/-	+	+	+/-	+	+	+	+
	Вместилища	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	Друзы оксалата кальция	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

4.4. Исследование главной жилки листа (поперечный срез) видов рода горец *Persicaria* Mill.

Для решения спорных вопросов систематики и филогении важное значение имеет внутреннее строение главной жилки листа, в частности, ее форма, число и расположение проводящих пучков, особенности строения мезофилла, наличие и количество друз оксалата кальция и присутствие секреторных каналов.

На поперечном разрезе через центральную часть листовой пластинки наземной формы горца земноводного (наземная форма) четко просматривается выпуклая верхняя часть, с приуроченным к ней центральным проводящим пучком. Нижняя часть (абаксиальной) неправильной формы. В эпидерме присутствуют многоклеточные кроющие трихомы. Три проводящих пучка одного размера и центральный пучок расположены супротивно. Склеренхимные обкладки отсутствуют (рисунок 46).

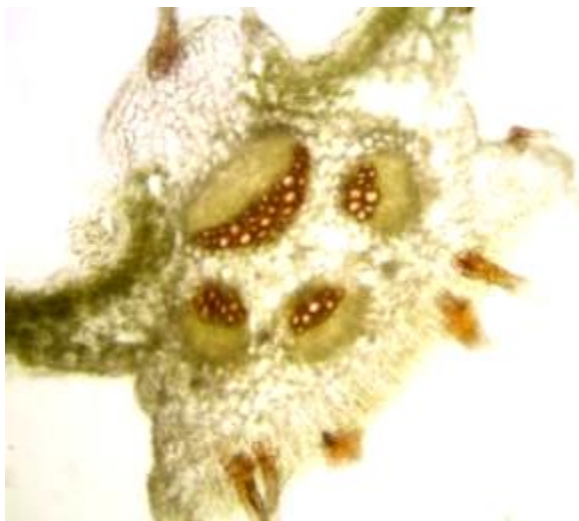


Рисунок 46 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца земноводного (наземная форма) (ув. x100)

Верхняя часть разреза центральной жилки горца земноводного (водная форма) плоская, нижняя выпуклая четырехугольной формы. Эпидерма мелкоклетчатая. Трихомы отсутствуют. Под эпидермой в центре располагается колленхима, слева и справа клетки столбчатого мезофилла. В нижней части разреза также заметна двуслойная колленхима. Четыре проводящих пучка располагаются супротивно. Склеренхима отсутствует. Центральная часть заполнена аэренхимой с большим количеством друз (рисунок 47).



Рисунок 47 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца земноводного (ув. x100)

Форма поперечного разреза жилки горца шероховатого неправильная. Края извилистые. На абаксиальной стороне (на верхней стороне) вырост треугольной формы, выражены крылья. Основные эпидермальные клетки мелкие с одиночными трихомами. Проводящих пучков 12-13, имеющих разные размеры. Колленхима и склеренхима практически отсутствуют. В клетках основной паренхимы капли сферических образований желтого цвета. В центральной части располагается небольшая полость (рисунок 48).



Рисунок 48 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца шероховатого (ув. x100)

Форма поперечного разреза листовой пластинки горца щавелелистного в центральной части неправильная, близка к овальной. Ближе к центральной части разреза располагается четыре крупных проводящих пучка со склеренхимной обкладкой со стороны флоэмы (рисунок 49).

Форма поперечного разреза центральной жилки листа горца узловатого клещевидная: выпуклая сверху (на адаксиальной стороне) и овальная снизу (на абаксиальной стороне). Колленхима одно-двуслойная снизу и многослойная в верхней части. Самый крупный проводящий пучок приурочен к адаксиальной стороне. Остальные семь примерно одного размера. Склеренхима со стороны флоэмы. Внутренняя часть разреза заполнена крупными клетками паренхимы с темным содержимым внутри (рисунок 50).

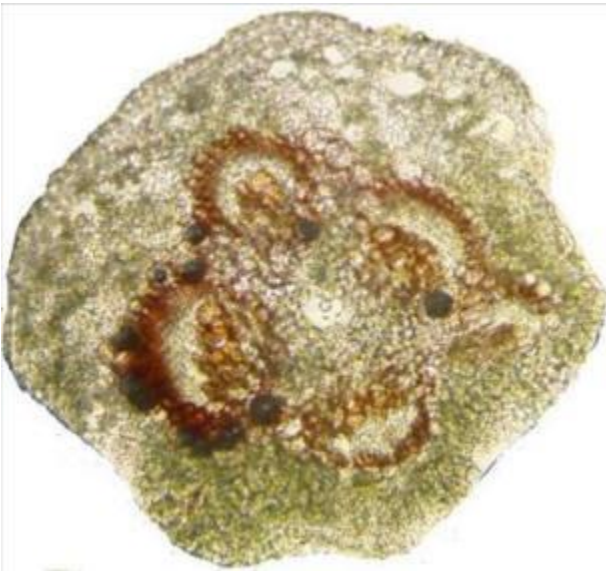


Рисунок 49 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца щавелелистного (ув. x100)

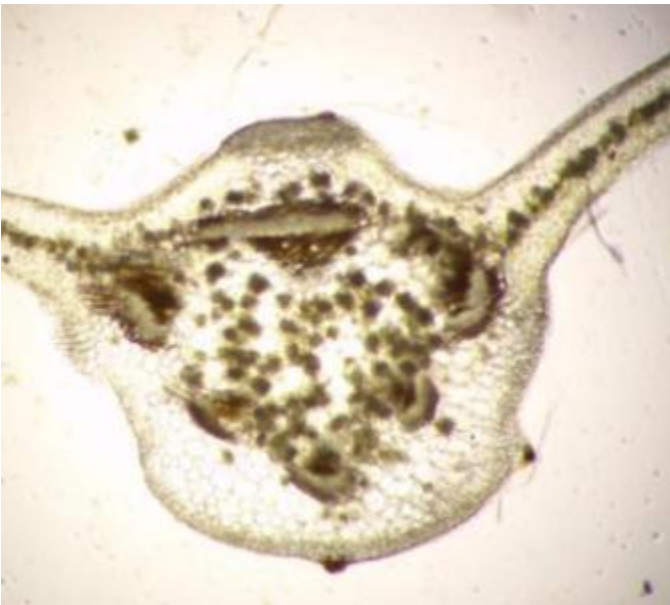


Рисунок 50 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца узловатого (ув. x100)

Форма поперечного разреза через среднюю часть главной жилки горца Бриттингера сходна с предыдущим видом (горец узловатый). Верхняя часть более заостренная, почти треугольная. Четыре проводящих пучка расположены супротивно, верхний – самый крупный. Склеренхима со стороны флоэмы. Содержимое темного цвета, овальной формы заполняет клетки основной паренхимы, как в центральной части разреза, так и по периферии (рисунок 51).

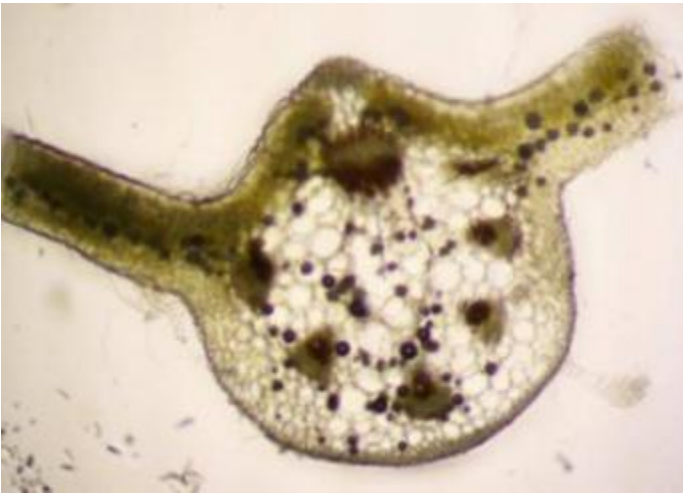


Рисунок 51 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца Бриттингера (ув. x100)

Верхняя часть поперечного разреза горца войлочного заостренная, в ней находится колленхима. Нижняя часть овальная. Под колленхимой расположен самый крупный из шести проводящих пучков. Супротивно – второй по величине, по бокам напротив друг друга еще четыре более мелких проводящих пучка. Склеренхима в них со стороны флоэмы. В центре – крупные клетки паренхимы с друзами. Их также много в клетках мезофилла (рисунок 52).



Рисунок 52 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца войлочного (ув. x100)

На поперечном разрезе через центральную жилку листа горца перечного верхняя часть (адаксиальная сторона) сильно выпуклая, овальная, абаксиальная

сторона выступающая уплощенная. Под верхней эпидермой находятся шесть-семь рядов клеток колленхимы, снизу колленхима выражена слабо. Проводящих пучков четыре. Они одинакового размера, расположены супротивно. Склеренхимная обкладка хорошо развита со стороны флоэмы. В клетках основной паренхимы и мезофилла находятся друзы (рисунок 53).

Форма поперечного разреза листа горца малого сверху овальная выпуклая, снизу неправильной формы с двумя овальными и одним треугольным выступами. Колленхима приурочена к адаксиальной стороне (верхней). Проводящих пучков пять, примерно одного размера, без склеренхимы. Между ними несколько полостей (рисунок 54).

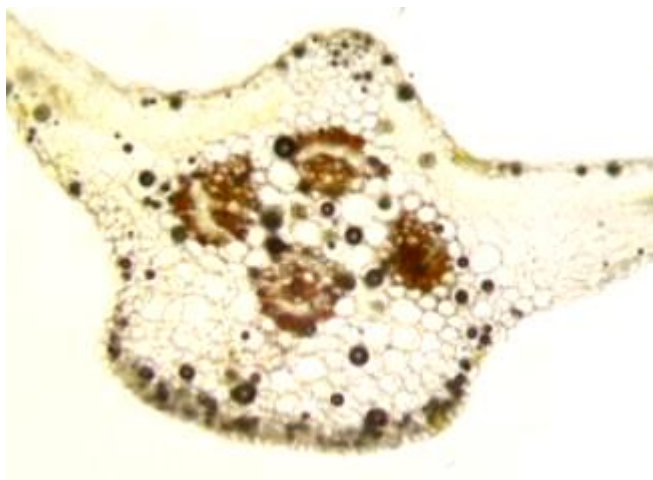


Рисунок 53 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца перечного (ув. x100)

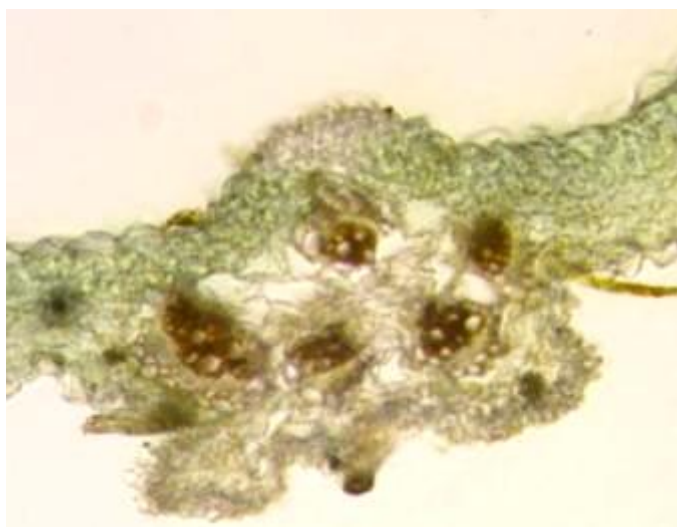


Рисунок 54 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца малого (ув. x100)

Форма поперечного разреза центральной жилки листа горца почечуйного овальная, немного выпуклая сверху (на адаксиальной стороне) и овальная снизу (на абаксиальной стороне). Колленхима состоит из 3 – 5 слоев клеток. Всего 11 проводящих пучков. Самые крупные проводящие пучки расположены друг друга. Склеренхима со стороны флоэмы. Внутренняя часть разреза заполнена крупными клетками паренхимы, встречаются клетки с бурым содержимым внутри. Друзы оксалата кальция крупные (рисунок 55).

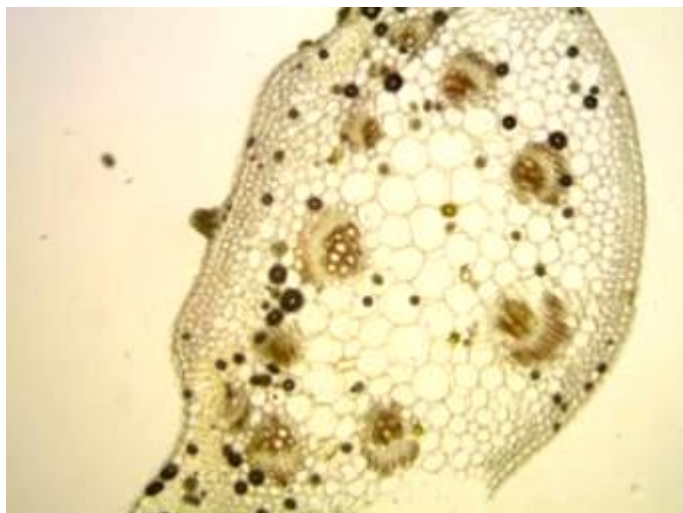


Рисунок 55 - Поперечный срез через медиальную часть главной жилки горца почечуйного (ув. x100)

Суммируя полученную информацию, можно отметить, что все изучаемые виды различны по форме главной жилки, которая варьирует от овальной до четырехугольной (горец земноводный), разному количеству слоев колленхимы, наличию склеренхимы. Аэренхима присутствует в жилке горца земноводного, что вполне логично, так как вид относится к гидрофитам. Характеристической особенностью видов ряда *Lapathiiformes* является наличие большого количество крупных друз оксалата кальция (что отчетливо видно на примере горцев Бриттингера, узловатого и др). Проведенный анализ показал, что картина поперечного среза и топография тканей и проводящих элементов главной жилки листа имеет диагностическое значение при идентификации близкородственных видов.

4.5. Анатомическое изучение стебля видов рода горец *Persicaria* Mill. (на примере горца почечуйного *Persicaria maculosa* Gray)

Информация по диагностической анатомии видов рода горец относится главным образом к описанию листьев, а данные по анатомии стебля довольно ограниченные [201, 208, 224, 246].

Изучение микродиагностических особенностей стебля видов рода горец осуществляли на примере стебля горца почечуйного.

В результате исследования на поперечном разрезе стебля первичной структуры имеется кольцо из чередующихся сложных и простых пучков (рисунок 56А). Сложные пучки — коллатеральные, простые — флоэмные (интерваскулярная флоэма) (рисунок 56Б).

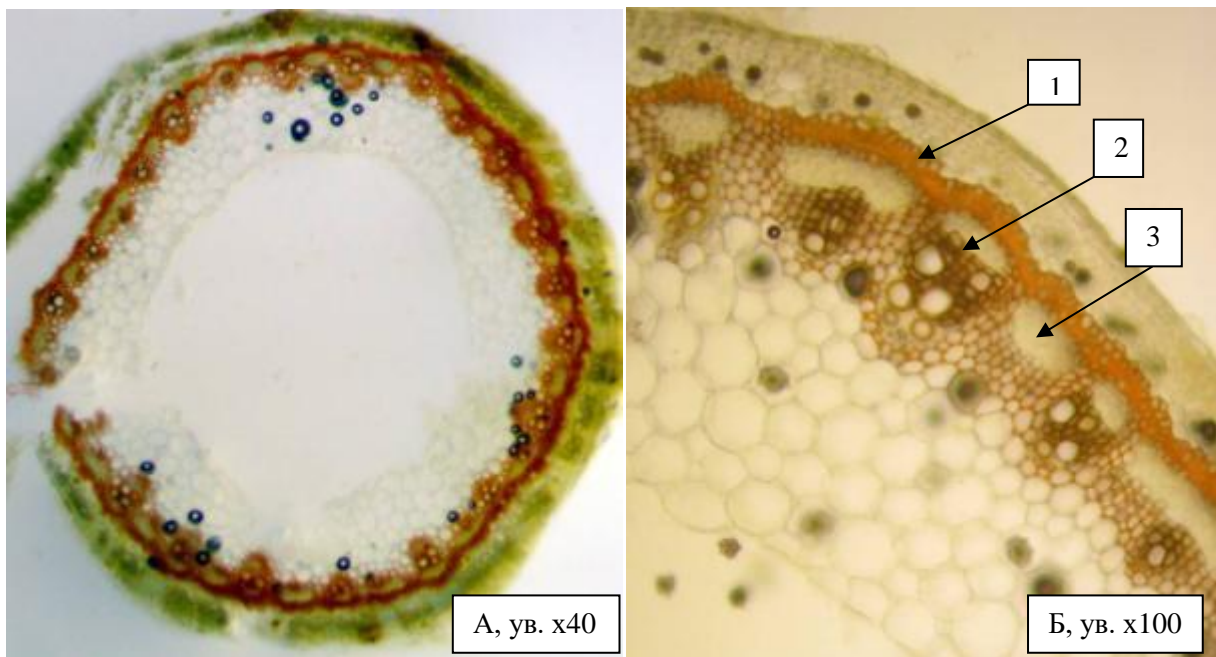


Рисунок 56 - Поперечный разрез стебля (первичная структура) горца почечуйного: А — общий план (кольцо из коллатеральных и флоэмных пучков, окруженных склеренхимой), Б — проводящие пучки; 1 — склеренхима, 2 — коллатеральный пучок, 3 — флоэмный пучок

С появлением камбия стебель приобретает вторичную структуру (рисунки 57, 58). Коллатеральные пучки становятся открытыми и увеличиваются в размере за счет прироста вторичной ксилемы.

Часть простых пучков, за счет образования в них вторичной ксилемы, становятся коллатеральными. Все пучки окружены обкладкой из склеренхимы. Эпидерма стебля однослойная, с тонким слоем кутикулы. Эпидермальные клетки прямоугольные. Под эпидермой 2-4 слоя колленхимы.

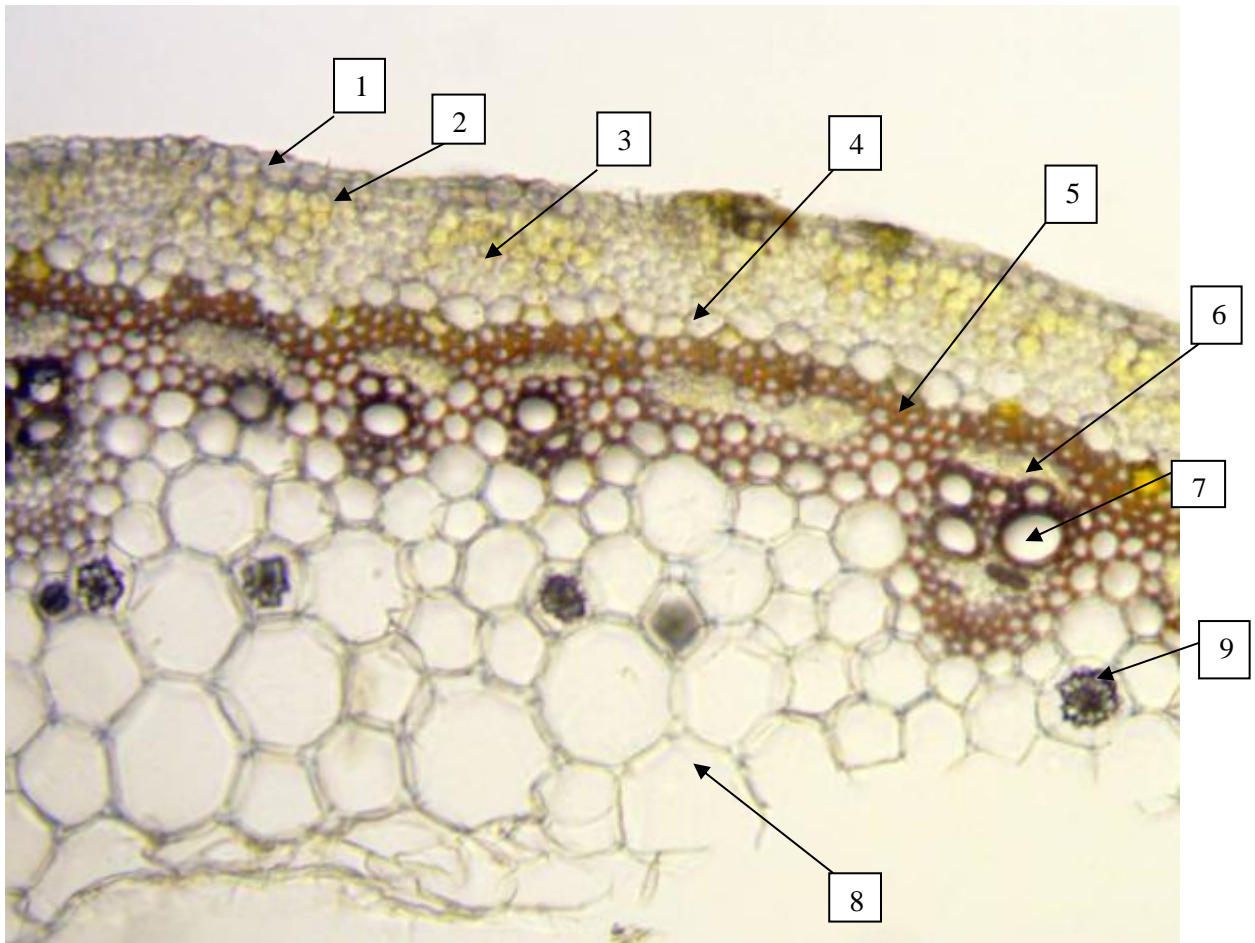


Рисунок 57 - Поперечный разрез стебля (первичная структура) (ув. х400) горца почечуйного: 1 – эпидерма, 2 – колленхима, 3 – хлоренхима, 4 –эндодерма, 5 – склеренхима, 6– первичная флоэма, 7 – первичная ксилема, 8 – паренхима, 9– друзы

Паренхима (хлоренхима) первичной коры состоит из 10-14 слоев клеток, среди которых встречаются крупные воздушные межклетники. Слой эндодермы выражен четко. Склеренхима перицикла в виде непрерывного кольца может

образовывать до 4-х слоев. Центральная часть стебля в междоузлиях полая, в узле (раструб) с паренхимной сердцевиной. В клетках коры и сердцевины присутствуют друзы.

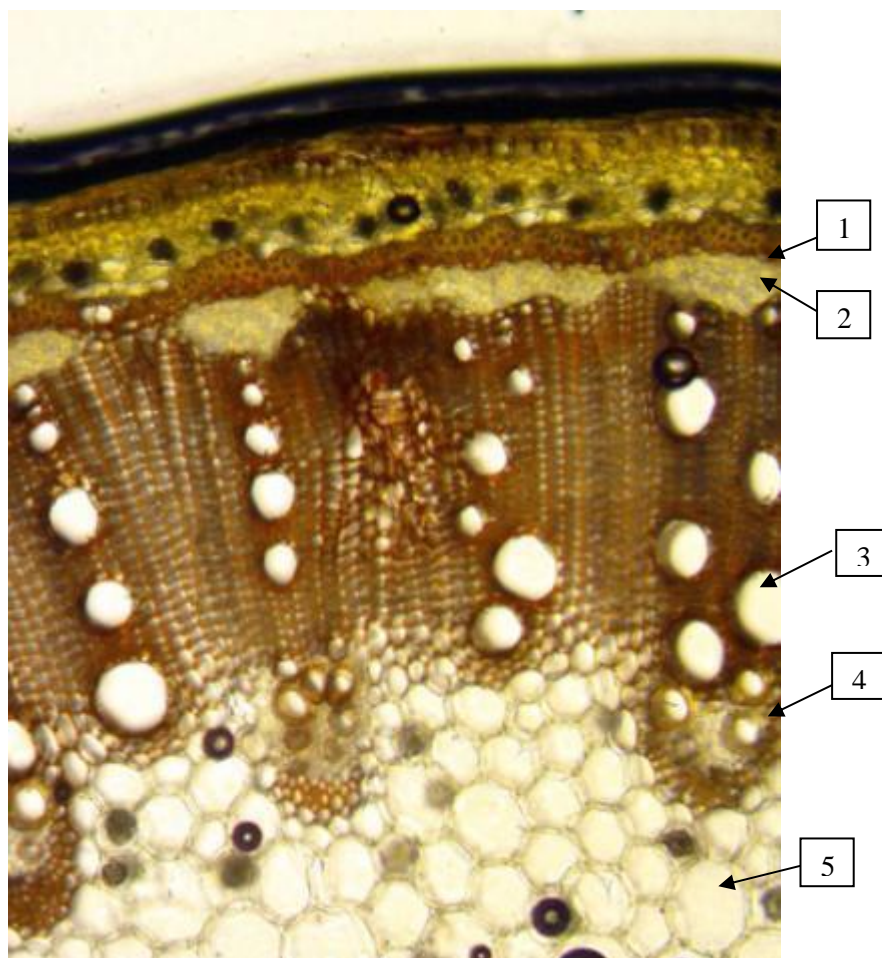


Рисунок 58 - Поперечный разрез стебля (вторичная структура) горца почечуйного (ув. x100): 1 — склеренхима, 2 — вторичная флоэма, 3— вторичная ксилема, 4 — паренхима сердцевины

4.6. Петиолярная анатомия как способ идентификации видов рода *Persicaria* Mill.

Эффективным методом диагностики и подтверждения подлинности растительного сырья является петиолярная анатомия – анатомо-гистологический анализ структуры черешка листа. Анатомическое строение вегетативных органов растения [33] характеризуется специфичностью на видовом уровне и позволяет проводить узкоселективный анализ морфологически сходных видов [24, 123, 163].

Особенности топографии тканей черешка являются достаточно константными в пределах рода, причем эти признаки существенно не меняются при изменении экологических условий, в связи с этим могут с высокой степенью надежности использоваться для решения вопросов таксономии и филогении и может быть применимы для определения подлинности и анализа растительного сырья в фармации [21, 90, 113, 115, 152].

Данный вид анализа может быть использован как для анализа свежезаготовленного, так и высушенного сырья, однако, в этом случае необходимо проведение предварительной пробоподготовки, заключающейся в выдерживании черешков в спирте этиловом 95% или растворе спирт – глицерин – вода (1:1:1).

Черешки (рахисы) изученных видов рода горец на поперечном срезе имеют общую схему строения, однако у каждого представителя есть характерные отличительные видовые признаки.

Черешок горца почечуйного на поперечном срезе овально - выпуклый, плоский с адаксиальной стороны. Клетки эпидермиса кутикулизованы, изредка заметны пучковые волоски. Следом за эпидермой находится несколько (2-3 слоя) (уголковой) колленхимы. На абаксиальной стороне расположено 5-7 нормально ориентированных открытых коллатеральных пучка, с центральным абаксиальным медианным пучком (ЦАБМП). На адаксиальной стороне расположены 3 обратно ориентированных коллатеральных пучка, с центральным адаксиальным медианным пучком (ЦАдМП) (наиболее развит). На внешней стороне каждого из проводящих пучков визуализируется хорошо развитая склеренхима. Размеры клеток паренхимы, окружающей проводящие пучки и заполняющих всю центральную часть увеличиваются от периферии к центру. Встречаются клетки с крупными друзами или с содержимым желтого цвета (предположительно смолы) (рисунок 59).

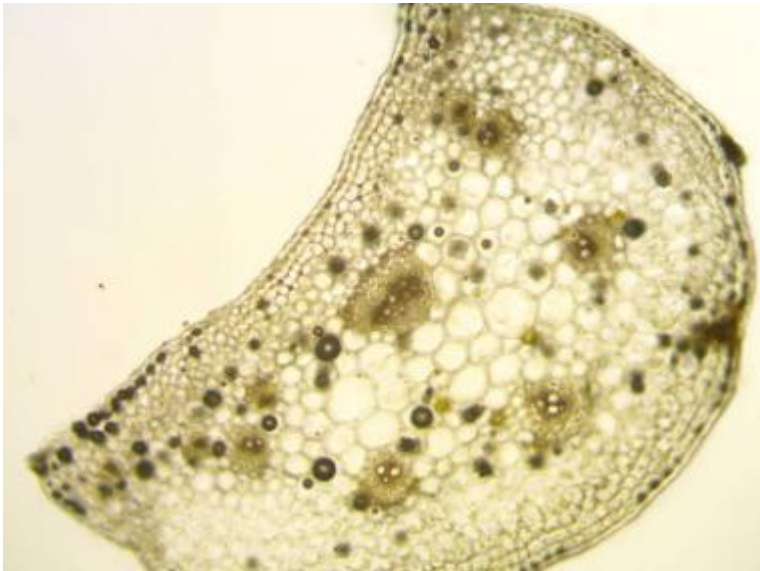


Рисунок 59 - Поперечный срез черешка горца почечуйного (ув. x100)

Черешок горца шавелелистного имеет вытянутую овальную форму, ассиметричен. Эпидерма покрыта тонким слоем кутикулы, с основаниями многочисленных пучковых волосков. Колленхима уголкового типа (2 - 3 на абаксиальной и 4 - 5 на адаксиальной стороне), под ней располагается четко заметный слой хлоренхимы, наибольшее количество слоев которой на адаксиальной стороне. Общее количество проводящих пучков (открытые коллатеральные) двенадцать, шесть из которых нормально ориентированы (на абаксиальной стороне) и практически не различаются по своим размерам и форме, шесть обратноориентированных (адаксиальная сторона) с ЦАДМП. Склеренхима развита очень слабо, вплоть до ее отсутствия. Паренхима, заполняющая пространство вокруг проводящих пучков имеет довольно крупные клетки, а также крупные и многочисленные друзы оксалата кальция (рисунок 60).

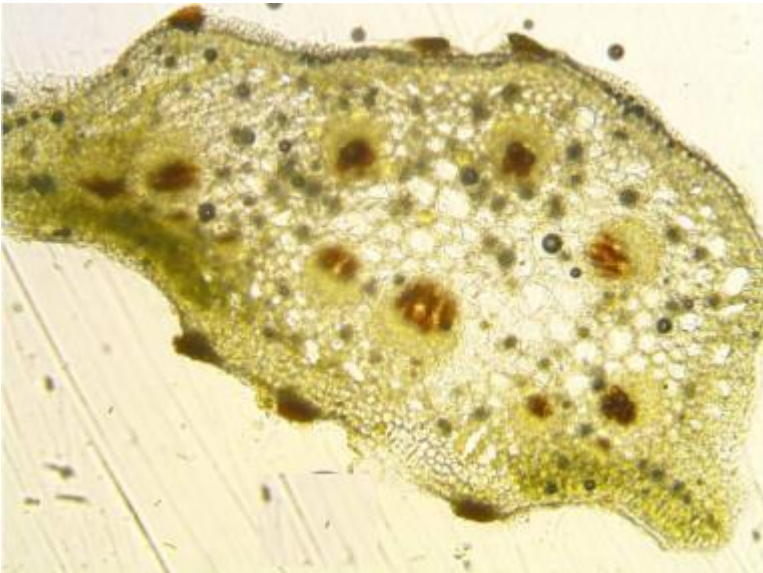


Рисунок 60 - Поперечный срез черешка горца щавелелистного (ув. x100)

Рахис горца земноводного (наземная форма) имеет черешок в очертании овально - треугольной формы с двумя крыльями. Эпидерма мелкоклетчатая с редкими одноклеточными заостренными кроющими трихомами. Колленхима уголкового типа, образует 2-5 рядов клеток. Проводящие пучки коллатерального типа, выстроены «клинообразно», в количестве восьми штук, четыре из которых располагаются супротивно и имеют примерно одинаковые размеры. По два проводящих пучка разного размера находится в крыльях слева и справа. На адаксиальной стороне выражен ЦАДМП. Склеренхимная обкладка заметна у трех центральных проводящих пучков со стороны флоэмы. Внутренняя часть среза заполнена клетками паренхимы с немногочисленными полостями. В паренхиме присутствуют друзы, запасные питательные вещества (рисунок 61).



Рисунок 61 - Поперечный срез черешка горца земноводного (наземная часть) (ув. x100)

Черешок водной формы на поперечном разрезе овальный. Трихомы практически отсутствуют. Колленхима 1-2 слойная. Между ней и открытыми коллатеральными проводящими пучками находится аэренхима. Проводящих пучков восемь. В расположении и строении проводящих пучков прослеживается родственность водной и наземной формы растений. Крайние пучки у основания треугольника самые мелкие. Центральная часть разреза занята клетками основной паренхимы с крупными многочисленными каплями жироподобных веществ и друзами оксалата кальция (рисунок 62).



Рисунок 62 - Поперечный срез черешка горца земноводного (ув. х40)

Форма поперечного разреза рахиса горца малого вогнутая в верхней части и выпуклая снизу. Четко выражены крылья. Основные эпидермальные клетки четырехугольные, без трихом. Колленхима 1-2 слойная в крыльях. Проводящих пучков 6-8 с однослойной склеренхимой со стороны флоэмы. Окружены проводящие пучки крупноклеточной паренхимой с немногочисленными друзами оксалата кальция (рисунок 63).



Рисунок 63 - Поперечный срез черешка горца малого (ув. х100)

Рахис горца шероховатого на поперечном разрезе неправильной формы. Края извилистые. На абаксиальной стороне вырост треугольной формы, выражены крылья. Основные эпидермальные клетки мелкие с одиночными трихомами. Проводящих пучков 12-13, имеющих разные размеры. На адаксиальной стороне слабо выражен ЦАДМП Колленхима и склеренхима практически отсутствуют. В клетках основной паренхимы капли сферических образований желтого цвета и друзы оксалата кальция. В центральной части располагается небольшая полость (рисунок 64).

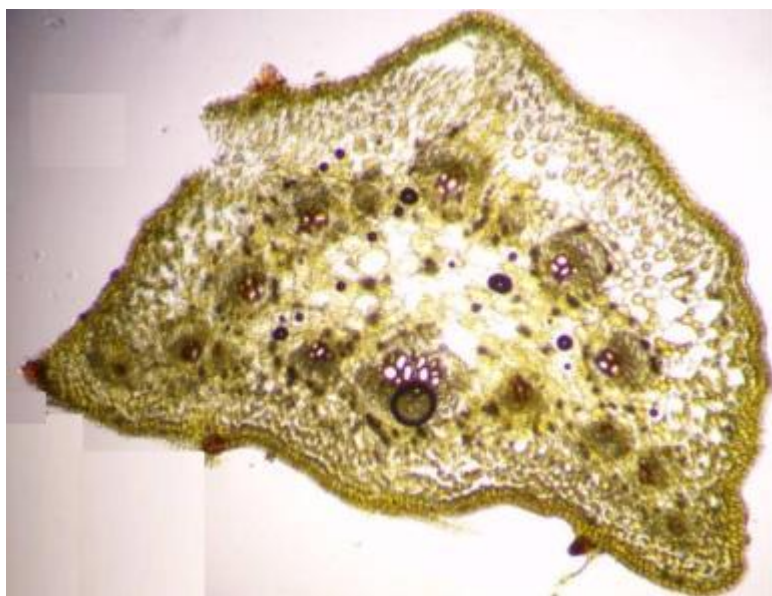


Рисунок 64 - Поперечный срез черешка горца шероховатого (ув. х40)

Горец узловатый имеет форму поперечного разреза черешка, уплощенную в верхней части и выпукло-овальную снизу с редкими трихомами. Крылья выражены слабо. Колленхима образована 5-7 рядами клеток. Проводящих пучков 14-15, без склеренхимных обкладок. Внутренняя часть поперечного разреза заполнена клетками основной паренхимы с содержимым темного цвета внутри и многочисленными крупными друзами оксалата кальция (рисунок 65).

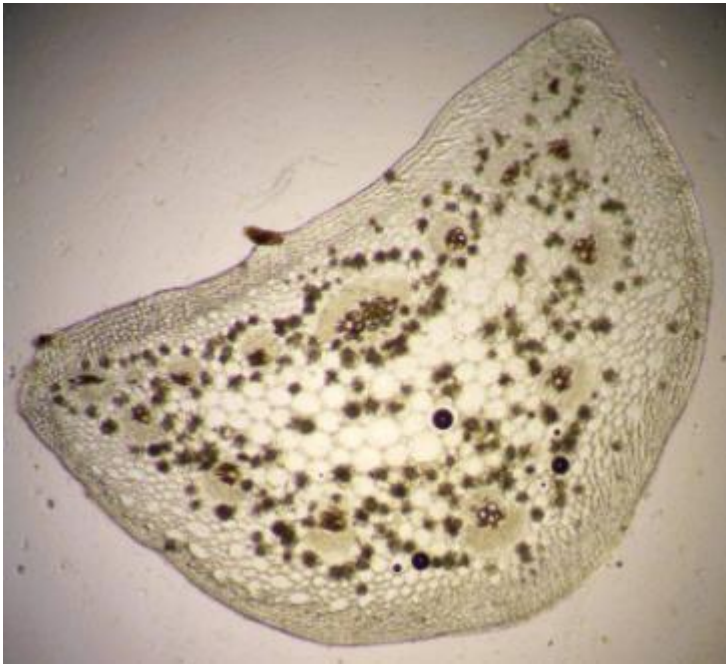


Рисунок 65 - Поперечный срез черешка горца узловатого (ув. x40)

Форма поперечного разреза черешка горца Бриттингера плоская в верхней части и выпуклая снизу. Лучше выражено левое крыло. На эпидерме видны трихомы. Колленхима 1-2 слойная. Проводящие пучки в числе 12-13 с однослойной склеренхимой со стороны флоэмы. Паренхима в центре крупноклетчатая, к периферии с большим количеством содержащего темного цвета. Друзы оксалата кальция многочисленны, расположены преимущественно вокруг проводящих пучков (рисунок 66).

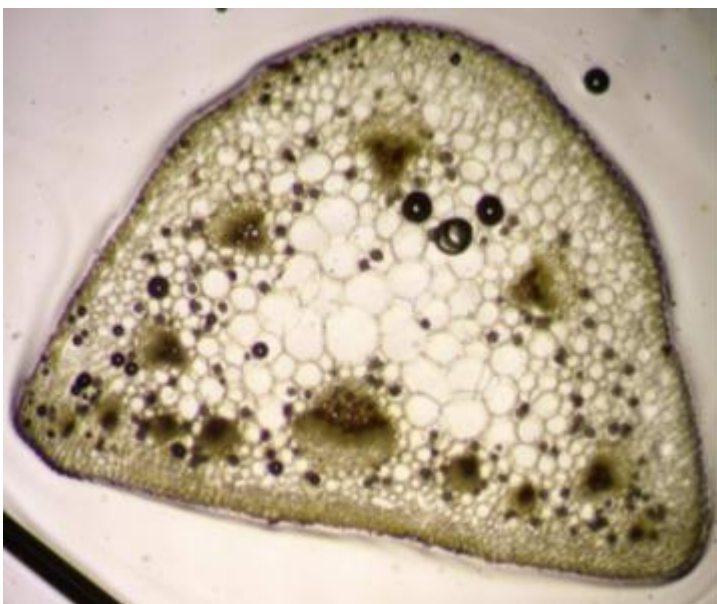


Рисунок 66 - Поперечный срез черешка горца Бриттингера (ув. x40)

Черешок горца войлочного на поперечном разрезе уплощенный сверху, выпукло-овальный снизу. Крылья выражены слабо. Колленхима 2-4 слойная. Проводящие пучки (12) располагаются по периметру. Они имеют разные размеры. Наиболее крупным является ЦАДМП. Внутренняя часть поперечного разреза заполнена крупноклеточной паренхимой, в клетках которой заметно содержимое темного цвета. Друзы очень крупные, многочисленные, расположенные вокруг проводящих пучков (рисунок 67).

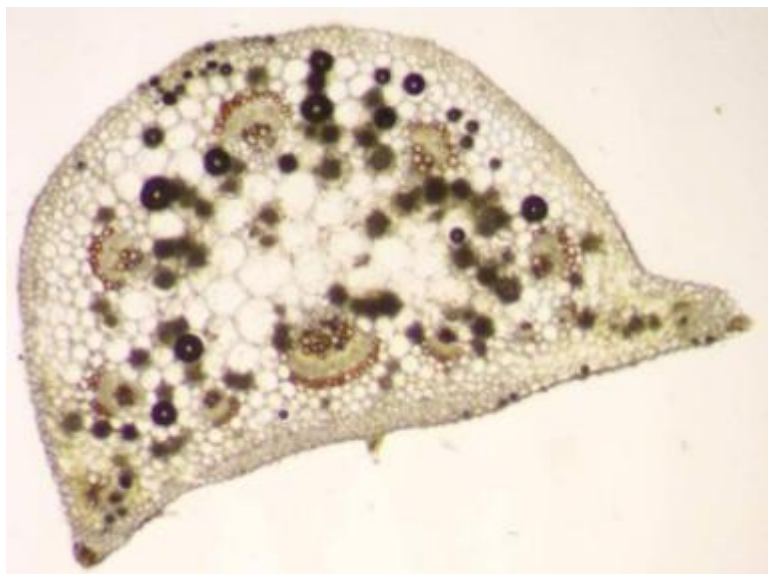


Рисунок 67 - Поперечный срез черешка горца войлочного (ув. x40)

Форма поперечного разреза черешка горца перечногo несколько вогнутая в верхней части и выпукло-овальная снизу. Четко выражены крылья. Колленхима уголковая, 1-3 слойная. Проводящие пучки в крыльях по одному. Кроме того, четыре крупных проводящих пучка расположены супротивно и два мелких ориентированных к верхней стороне. На адаксиальной стороне выражен ЦАДМП. Склеренхима однослойная со стороны флоэмы в проводящих пучках. Внутренняя часть поперечного разреза заполнена основной паренхимой. Включения практически отсутствуют (рисунок 68).

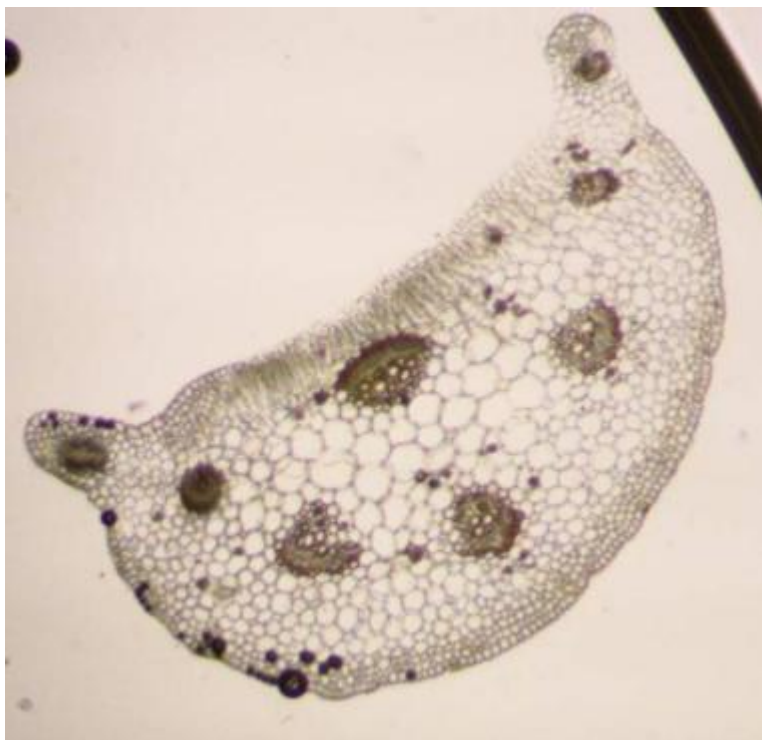


Рисунок 68 - Поперечный срез черешка горца перечного (ув. x40)

Таким образом, проведенный сравнительный анатомо-гистологический анализ рахисов листьев изучаемых представителей рода горец позволил установить особенности их анатомического строения. Из всей совокупности особенностей анатомии и гистологии проанализированных образцов выделены наиболее заметные диагностические признаки, позволяющие различать близкородственные виды. К ним, в первую очередь, относятся форма среза, характер расположения проводящих пучков и их количество на поперечных срезах рахисов; интенсивность опушения эпидермиса листовых рахисов сравниваемых видов.

4.7. Изучение влияния измельченности на вариабильность диагностических признаков (на примере горца почечуйного)

Действующая на настоящий момент НД на ЛРС включает описание внешнего вида и микроскопии цельного, измельченного сырья и порошка. Микродиагностическая картина в зависимости от степени измельчения может варьировать [201].

Оценку вариабильности микроскопических признаков изучаемых объектов проводили на образце травы горца почечуйного. Для этого объект исследования был измельчен до размера кусочков травы, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм (измельченное сырье) и 2 мм (крупный порошок).

В поле зрения микроскопа визуализировались фрагменты всех морфологических частей растения, такие как раструб с реснитчатыми волосками, кусочки стебля, с удлинёнными клетками эпидермиса, кусочки проводящих элементов с хорошо заметным спиральным утолщением, элементы листовой пластинки, где отчетливо визуализированы признаки описанные выше. В поле зрения микроскопа могут быть обнаружены обрывки пучковых волосков, тканей листа с железками и вместилищами, фрагменты листа с друзами оксалата кальция. Кроме того, встречаются отдельно расположенные цельные цветки и незрелые плоды и их части [201]. Результаты сравнительной характеристики диагностических признаков представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Сравнительная характеристика диагностических признаков горца почечуйного травы разной степени измельчения

Морфологический орган	Цельная трава	Измельчённая трава	Крупный порошок
Стебель	Кусочки листа, покрытые пучковыми волосками, фрагменты эпидермиса, проводящие элементы спирального типа	Фрагменты листа с пучковыми волосками, клетки, эпидермиса вытянутые, проводящие элементы спирального типа	Обрывки клеток и тканей не имеющие диагностического строения
Лист	Пучковые волоски находятся на поверхности листа по жилкам и краю листа, более крупные у основания, железки редкие, желтоватые, друзы крупные, многочисленные	Фрагменты листьев с пучковыми волосками по краю, железки и волоски на поверхности листа редко встречаются, желтоватые, друзы крупные, многочисленные	Кусочки листа с пучковыми волосками на краю, ткани с волосками, железками и оксалатом кальция. Все элементы могут располагаться отдельно от листа
Друзы	Встречаются во всех морфологических органах	Располагаются как в тканях, так и отдельно	

Раструб	Клетки крупные, правильной формы, стенки с утолщениями, на поверхности пучковые волоски, на верхушке – реснитчатые, у основания друзы оксалата кальция	Фрагменты раструба с пучковыми волосками и друзами оксалата кальция	
Цветок	Цельный цветок, фрагменты основания цветка, с тычинками и пыльцевыми зёрнами	Зачастую в цельном виде и/или отделенные лепестки венчика	Фрагменты венчика, отдельно лежащие тычинки и пыльцевые зёрна

Анализируя микроскопические особенности порошка травы горца почечуйного, нужно отметить наличие мелких фрагментов всех описанных выше морфологических органов, а также отдельно располагающихся частей пучковых волосков, железок и друз оксалата кальция.

Таким образом, в результате измельчения объекта исследования, морфологические части изменяют размеры и положение относительно друг друга. Больше всего изменения микроскопической картины характерно для элементов стебля, раструба, цветка и плода. Менее вариабильными являются анатомические признаки листа [92, 201].

4.8. Использование перспективных методов для микроскопического анализа растительного сырья

В настоящее время для анализа растительных объектов используются перспективные методы микроскопического анализа, ранее не применяемые к данному типу образцов - инфракрасную, ультрафиолетовую, поляризационную, лазерную конфокальную, растровую электронную микроскопию. Преимущество перечисленных методов микроскопического анализа заключается в высокой разрешающей способности, большом диапазоне увеличения, большей глубине фокусировки, многообразии режимов работы.

Одним из перспективных методов микроскопического анализа, апробированном на изучаемых объектах, является растровая электронная микроскопия (РЭМ), предназначенная в основном для исследования структуры поверхности образца. В основе РЭМ лежит сканирование поверхности образца электронным зондом и детектирование (распознавание) возникающего при этом широкого спектра излучений. Данный метод в настоящее время находит все большее применение в медицине и фармации, однако, информация по анализу растительного сырья данным методом ограничена. Одно из больших преимуществ РЭМ заключается в том, что многие образцы могут исследоваться фактически без предварительной подготовки. В случае непроводящих образцов пробоподготовка заключается в нанесении проводящего покрытия. Для устранения зарядки, а также с целью предотвращения термического и радиационного повреждения образца электронным зондом, на образец наносится проводящее покрытие (обычно золото) толщиной 10-20 нм [2, 140]. Необходимо отметить повышение четкости изображения ввиду его передачи в черно – белом варианте, что увеличивает контрастность, кроме того, в РЭМ значительно выше глубина резкости, чем в оптическом микроскопе. Это обеспечивает значительно более высокое качество изображения при сравнимых увеличениях и позволяет успешно применять методику получения стереопар. Для этого один и тот же участок поверхности образца регистрируется при двух положениях, отличающихся поворотом на несколько градусов. Иногда для этих целей применяют два или более детекторов. Получаемые при этом изображения позволяют воссоздать объёмную картину поверхности исследуемого образца. Безусловно, технические характеристики данного метода открывают новые возможности микроскопического анализа с увеличением точности определения. Растровая микроскопия на сегодняшний момент может выступать в качестве подтверждающего метода анализа, позволяющего более детально описать идентификационные признаки близкородственных видов.

Механизмы формирования изображения в растровой электронной микроскопии отличаются от формирования изображения в оптическом или

просвечивающем электронных микроскопах. В оптическом и просвечивающем электронном микроскопе изображение формируется при помощи линз. Изображение в РЭМ - это результат отображения изменений от точки к точке в характере взаимодействия электронов зонда с поверхностью мишени.

Апробация метода РЭМ проводилась на шести видах – горце почечуйном, горце войлочном, двух формах горца земноводного, горце малом и горце перечном.

Анализируя полученные фотографии (Приложение 4, Рисунок 1 - 6), нужно отметить, что на изображениях представлена поверхность листа и цветка в их естественном состоянии, со складками, выступами, углублениями и другими особенностями рельефа.

При анализе листьев видов рода горец довольно сложно определить форму клеток из-за наличия множества тяжей и складок, образовавшихся при высушивании образцов.

Клетки эпидермиса листа горца почечуйного не имеют плотного слоя кутикулы, в то время, как клетки эпидермиса горца войлочного и обеих форм горца земноводного покрыты плотным слоем кутикулы и имеют более выраженные утолщения клеточных стенок ((Приложение 4, рисунок 1), рисунки 69, 70, 71), за счет чего становится возможным установить их форму.

Строение таких элементов, как железки, трихомы и устьица отчетливо визуализируются, при этом, метод РЭМ позволяет более детально изучить эти структуры. Нужно отметить, что клетки, образующие пучковые волоски, вытянутые с утолщенными стенками, клетки на верхушке волоска более вытянутые, чем при основании (рисунок 72) (Приложение 4, рисунок 2). Клетки эпидермиса около места прикрепления волосков образуют розетку. Изучаемые объекты имеют различия в строении устьичного аппарата. Устьица горца почечуйного овальной или округлой формы, замыкающие клетки с хорошо заметным утолщением. В результате возможностей оборудования, при увеличении $\times 2500$, хорошо заметны тяжи идущие от клеток листа к замыкающим клеткам устьиц (рисунок 69). Устьица горца войлочного более вытянутые и

выпуклые, замыкающие клетки сильно кутикулизованные. Устьичные щели горца земноводного сильно открыты.

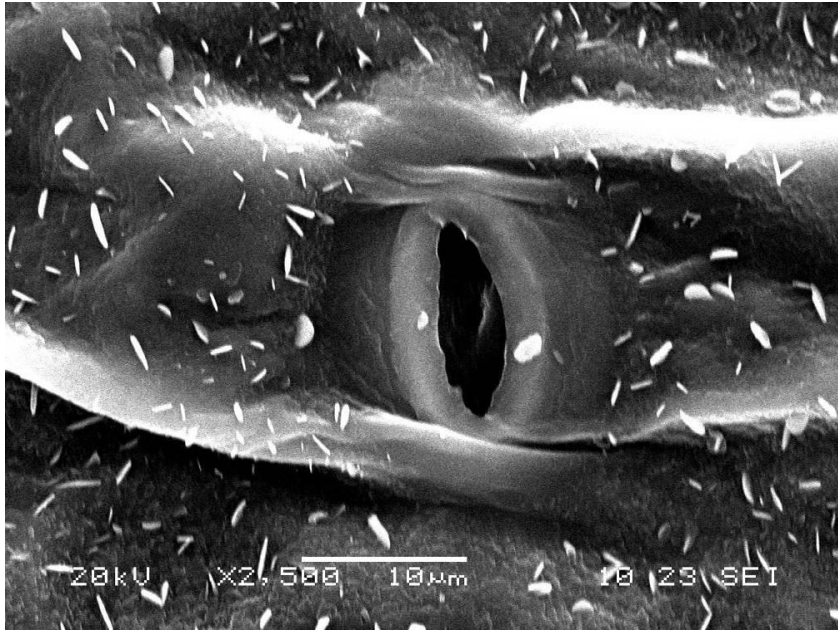


Рисунок 69 - Фрагмент листовой пластинки горца почечуйного (устье), ув. x2500

С помощью метода РЭМ дополнены сведения об анатомии листа горца малого, имеющего на поверхности листовой пластинки крупные многоклеточные железки (рисунки 70, 73), а также четырехклеточные полые образования с сильно утолщенными клеточными стенками. Можно предположить, что это места прикрепления железок в виде четырехклеточной ножки. Такие же 4-х клеточные образования встречаются и на листовой пластинке горца перечного (рисунок 74) (Приложение 4, рисунки 3, 4).

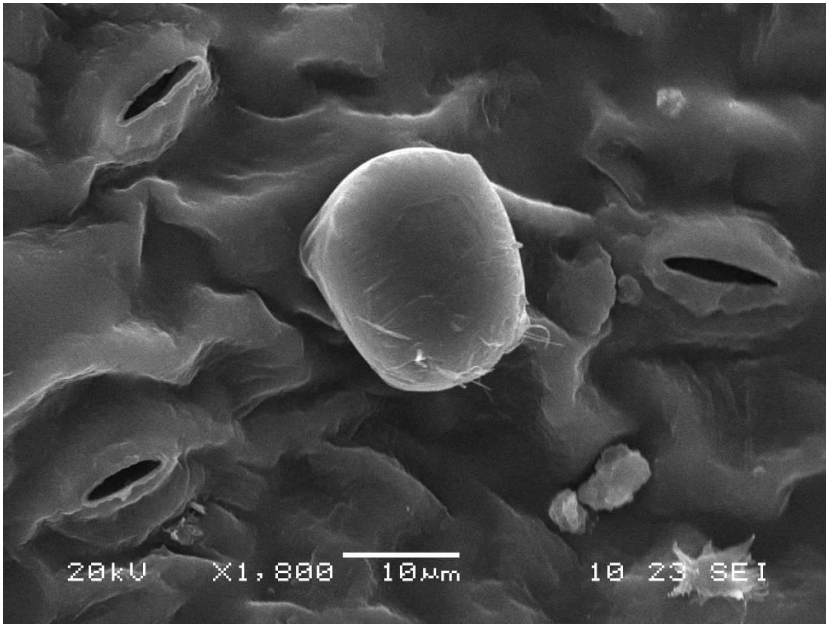


Рисунок 70 - Фрагмент листовой пластинки горца войлочного (устыца, рельеф поверхности, железка), ув. x1800

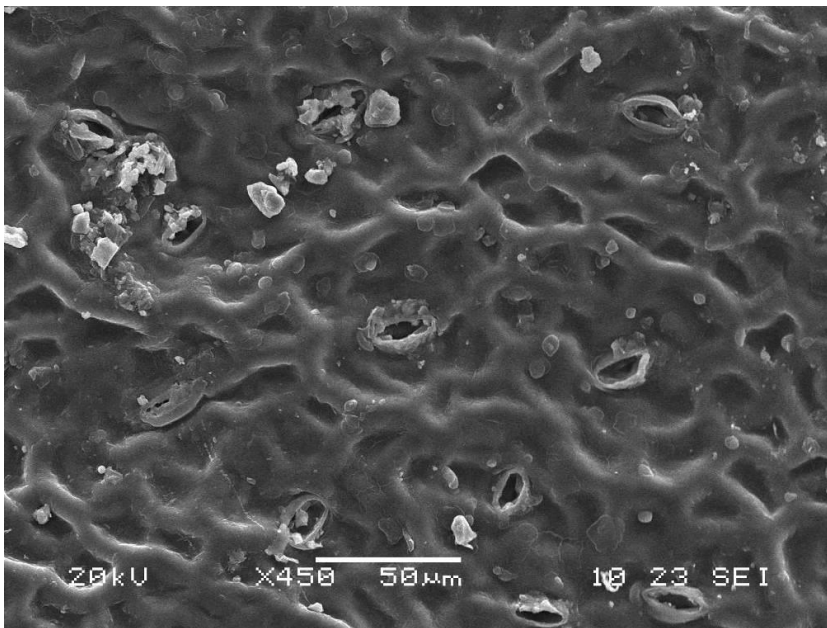


Рисунок 71 - Фрагмент листовой пластинки горца земноводного (устыца, рельеф поверхности), ув. x450

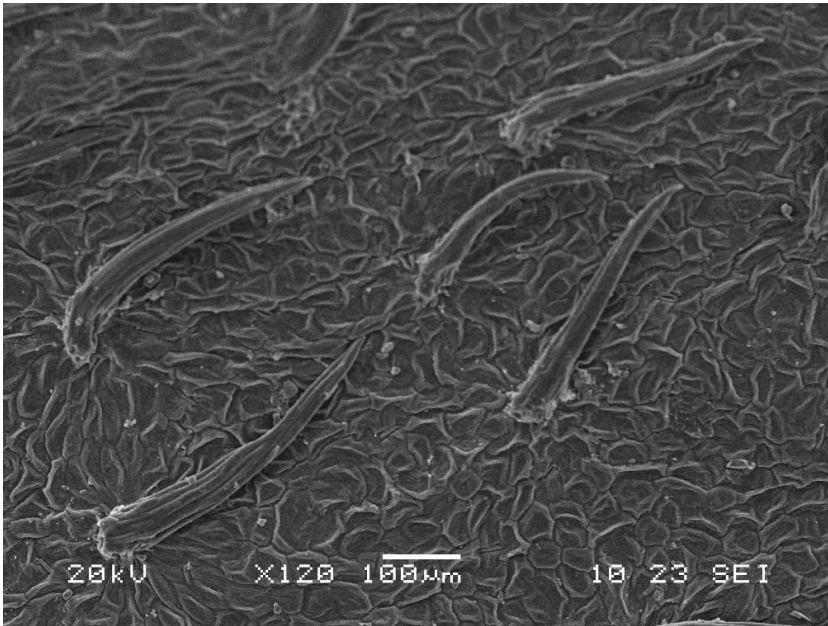


Рисунок 72 - Фрагмент листовой пластинки горца земноводного (наземная форма) (пучковые волоски), ув. x120

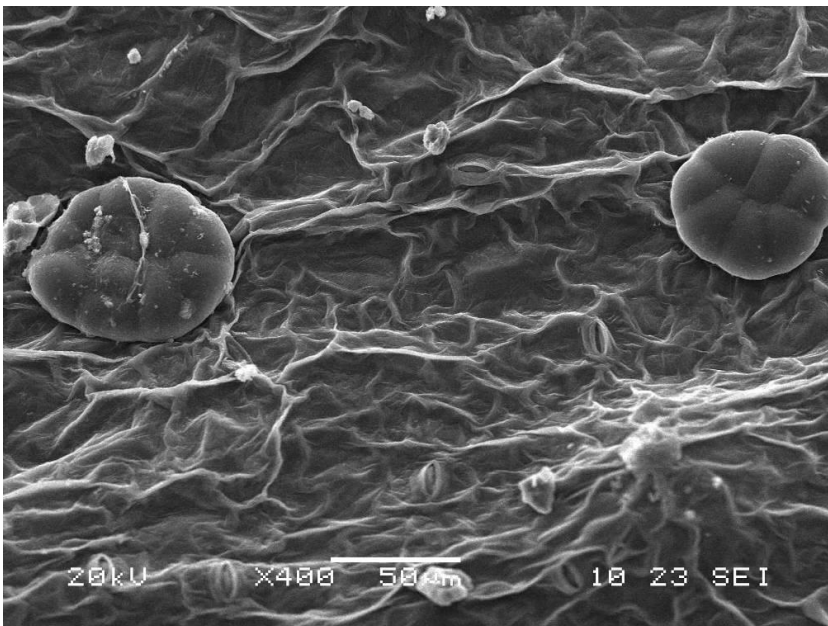


Рисунок 73 - Фрагмент листовой пластинки горца малого (железки), ув. x400

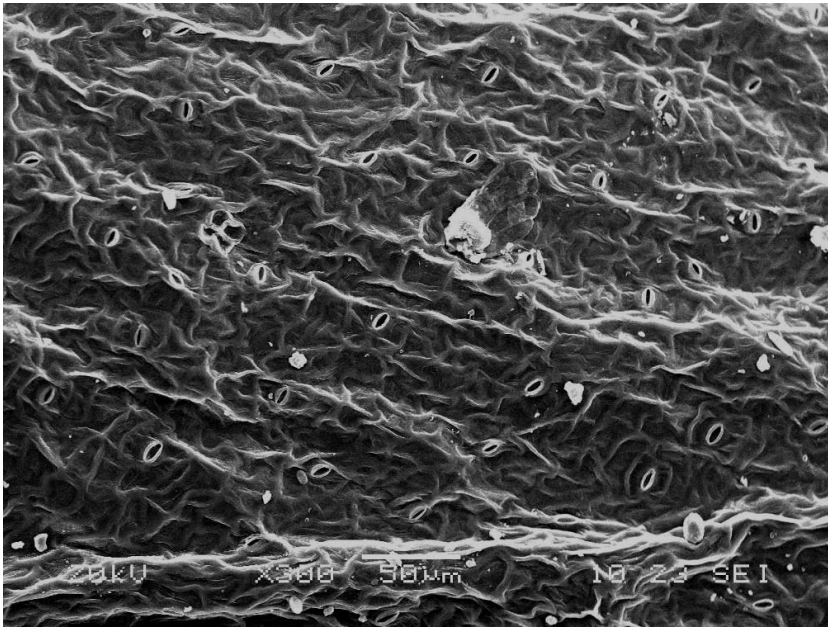


Рисунок 74 - Фрагмент листовой пластинки горца перечного (устьица, места прикрепления железистых образований), ув. x300

Методом РЭМ получены новые данные по анатомии цветка, на примере горца почечуйного (рисунки 75, 76). Клетки эпидермиса венчика сильно вытянуты, поверхность клеток с продольными извилистыми складками, на поверхности околоцветника визуализированы пучковые волоски. Уточнено строение железок, они редкие, овальные, многоклеточные, на короткой ножке (Приложение 4, рисунки 5, 6).

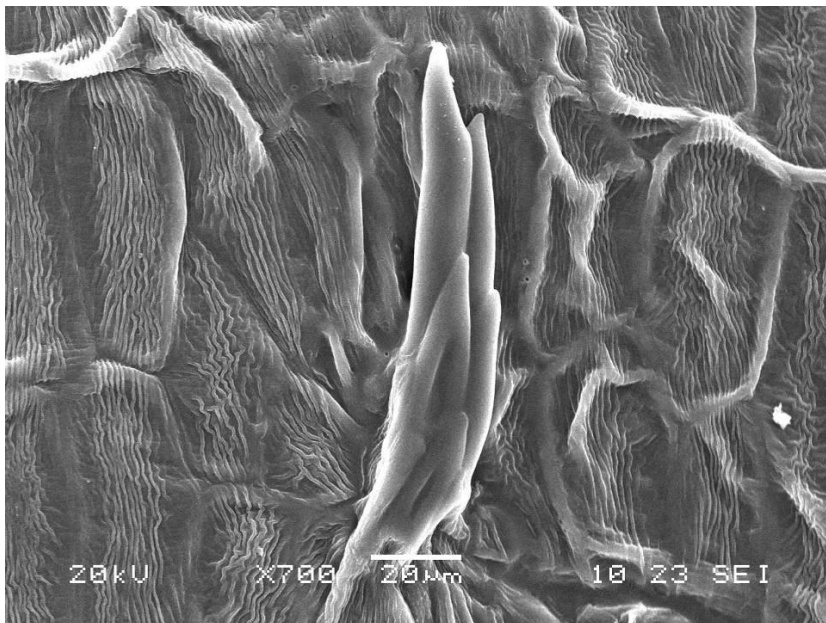


Рисунок 75. Фрагмент цветка горца почечуйного (пучковый волосок), ув. x700

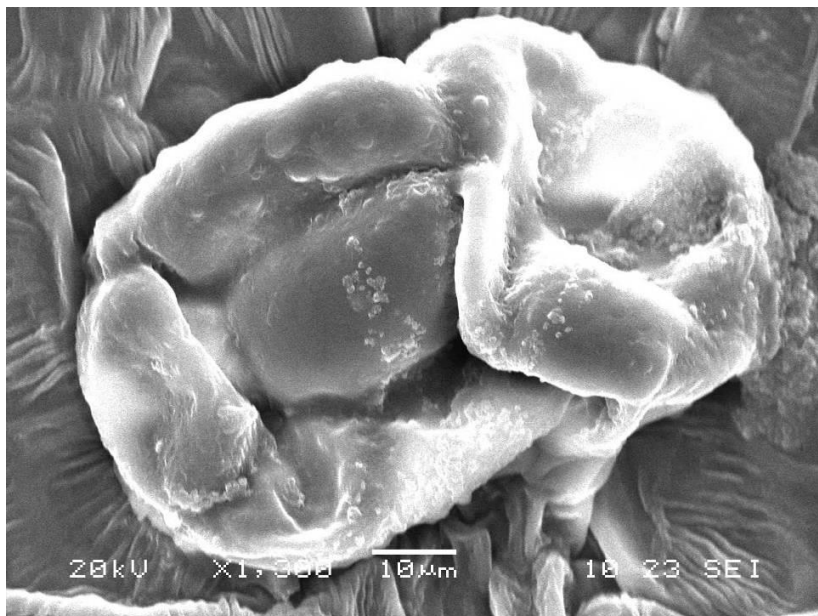


Рисунок 76. Фрагмент цветка горца почечуйного (железка), ув. x1000

Таким образом, метод РЭМ является перспективным для исследования морфологии растительных объектов, что актуально для проведения скринингового анализа подлинности и установления видовой принадлежности растения, особенно, учитывая наличие широкого спектра близкородственных видов. Метод РЭМ может являться альтернативным стереомикроскопическому исследованию растительного сырья.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Проведено сравнительное анатомо-диагностическое изучение 10 видов рода горец и выявлены основные отличительные признаки. В качестве анатомических маркеров, позволяющих с высокой достоверностью идентифицировать изучаемые виды, предложены наличие, размер и строение трихом, а также выделительного аппарата (железки и вместилища).

2. Выявлены маркерные характеристики, определяющие подлинность каждого из 10 видов рода горец, в частности для **раструба** всех видов горцев характерны пленчатые волоски и друзы оксалата кальция. Вместилища встречаются только на раструбах горца перечного; в анатомии **листа** следует отметить наличие железок (5-15 выделительных клеток), крупные,

многочисленные друзы. У *горца малого* визуализируются мелкие желтоватые пленчатые волоски; на **стебле** встречаются друзы оксалата кальция вдоль проводящих пучков, пленчатые волоски. Вместилища и железки являются особенностью строения стебля *горца земноводного* (НФ), *перечного*, *шероховатого*, *щавелелистного*; на **цветках** всех изучаемых видов встречаются друзы оксалата кальция и железки, однако, у *горца земноводного*, *почечуйного*, *узловатого* они встречаются очень редко и могут отсутствовать. Крупные вместилища характерны лишь для *горца перечного*.

3. Установлено, что наибольшее количество вместилищ находится на листьях *горца щавелелистного*, устьиц больше всего находится на листьях *горца шероховатого*. Количество друз оксалата кальция превалирует в мезофилле листьев *горца войлочного*. Частота встречаемости остальных признаков среди изученных видов примерно одинакова.

4. Предложено усовершенствование методики подготовки свежезаготовленного растительного сырья к микроскопированию, для чего объект помещается в спирт этиловый 95% на несколько суток, что способствует как удалению хлорофилла, консервации сырья, так и приданию определенной твердости стеблям, черешкам и жилкам листа.

5. На примере поперечного среза стебля *горца почечуйного* установлена его первичная структура с кольцом из чередующихся сложных и простых пучков, со временем стебель приобретает вторичную структуру, коллатеральные пучки открытого типа. Все пучки окружены обкладкой из склеренхимы. В клетках коры и сердцевины присутствуют друзы.

6. На примере травы *горца почечуйного* изучено микроскопическое строение измельченной травы и крупного порошка. В результате измельчения морфологические части изменяют размеры и положение относительно друг друга. Больше всего изменения микроскопической картины характерно для элементов стебля, раструба, цветка и плода. Менее вариабильными являются анатомические признаки листа

7. Впервые для идентификации видов предложено использование петиолярной анатомии. Предложено использовать картину поперечного среза медиальной части черешков листьев горцев в качестве идентификатора каждого вида, по типу «отпечатков пальцев».

8. Впервые проведено сравнение биометрических характеристик 10 видов рода горец.

9. Впервые использован метод РЭМ для анализа морфологии поверхности листовой пластинки видов рода горец. Показана возможность использования метода как альтернативы стереомикроскопического исследования растительного сырья. Уточнены особенности устьичного аппарата, трихом и железок на листьях горцев почечуйного, войлочного, двух формах земноводного, горцах малом и перечном.

10. Выявленные диагностические признаки и биометрические показатели могут быть использованы для составления ключей определителей для идентификации видов рода горец по анатомическим признакам.

11. На основании полученных результатов подана заявка на изобретение «Способ подготовки свежего хлорофиллсодержащего лекарственного растительного для определения подлинности микроскопическим исследованием» (заявка на изобретение № 2019115706). Полученные данные были использованы при разработке проекта ФС ГФ РФ XIV «Горца щавелелистного трава», проекта «Инструкции по заготовке и сбору горца щавелелистного травы», проекта «Инструкции по заготовке и сбору горца почечуйного травы», а также вошли в действующую ФС.2.5.0068.18 ГФ РФ XIV «Горца почечуйного трава».

12. Результаты морфолого – анатомического исследования могут быть использованы для составления ключей-определителей для экспресс-идентификации растительного сырья, как при заготовке, что бы максимально исключить ошибки при сборе, так и при разработке современной НД для стандартизации и оценки качества растительного сырья видов рода горец.

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ ПЕРВИЧНОГО ОБМЕНА РАСТЕНИЙ РОДА *PERSICARIA* MILL.

Лекарственные растения содержат сложный набор первичных и вторичных метаболитов, которые определяют множественный характер фармакологического действия. К веществам первичного метаболизма относятся углеводы, витамины, аминокислоты.

5.1. Определение экстрактивных веществ в изучаемых видах рода *Persicaria* Mill.

Общее представление о величине гидрофильных и липофильных компонентов низкомолекулярной части метаболома лекарственных растений дает такой показатель, как «экстрактивные вещества» (ЭВ), определяемый гравиметрически.

В связи с этим на самом первом этапе изучения химического состава БАВ травы горцев был определен ряд экстрактивных веществ (извлекаемых водой, спиртом, 0,25% раствором аммиака и разбавленной хлороводородной кислотой). Результаты представлены в таблице 9.

Оценивая полученные данные, видно, что максимальный выход ЭВ у разных видов горцев неодинаков по количественному содержанию БАВ. Наибольшее количество ЭВ характерно для горцев шероховатого, щавелелистного и узловатого. Максимальный выход ЭВ из всех изучаемых объектов наблюдался при экстракции 40% спиртом этиловым. Это связано с преобладанием во всех изучаемых видах суммы гидрофильных соединений (ОК, полифенольных соединений). Максимальный выход ЭВ из сырья при применении разведенной хлористоводородной кислоты обусловлен, скорее всего, значительным количеством солей кальция, а также продуктами гидролиза БАВ, что способствует увеличению выхода ЭВ [182].

Таблица 9 - Содержание экстрактивных веществ видов рода горец

Объект	Содержание экстрактивных веществ, %						
	95%	70%	40%	20%	Вода	0,25% NH ₄ OH	1% HCl
Полярность	4,3	6,07	7,84	9,02	10,2	pH 11,5	pH 1-2
Горец почечуйный	20,20±2,4	23,51±3,6	33,00±4,3	32,23±3,7	24,19±1,9	31,77±2,4	41,55±3,1
Горец войлочный	17,90±1,7	26,47±2,8	26,76±2,0	26,28±1,7	20,73±1,5	40,92±2,7	40,90±2,5
Горец шероховатый	30,30±4,3	42,44±5,3	47,80±3,2	49,50±3,3	23,57±3,1	41,98±2,6	41,12±2,8
Горец Бриттингера	13,10±1,5	21,99±0,9	23,83±1,2	28,30±2,0	23,65±2,2	36,60±1,7	46,20±2,8
Горец щавелелистный	16,60±1,1	22,99±1,2	36,20±3,6	34,80±3,1	35,20±2,6	41,68±2,3	53,83±3,1
Горец узловатый	18,30±1,8	27,49±2,1	38,49±3,3	35,84±2,7	31,07±2,5	37,00±1,8	44,13±2,5
Горец перечный	14,50±1,2	28,33±2,3	32,30±3,0	25,01±1,8	25,08±2,4	38,20±1,6	53,46±3,3
Горец малый	9,90±0,5	14,60±0,6	28,60±1,9	19,20±1,1	17,50±1,1	25,48±1,8	39,12±1,5
Горец земноводный (ВФ)	13,10±0,8	13,08±1,0	30,80±2,5	24,60±1,2	14,70±1,0	31,50±2,0	43,44±2,6
Горец земноводный (НФ)	15,70±0,8	26,50±2,5	32,87±2,8	38,45±2,5	20,50±1,6	33,00±2,4	45,98±2,1

5.2. Изучение простых сахаров и полисахаридов в изучаемых видах рода *Persicaria* Mill.

Углеводы, являются наиболее распространенной группой БАВ, включающей как полисахариды, так и моносахара, присущие каждому растению [15, 29, 82] и играющие эссенциальную роль для организма человека и животных. В технологическом и биофармацевтическом планах углеводы способствуют улучшению растворения и всасывания БАВ фитопрепаратов, усиливают их действие, снижают возможное негативное побочное воздействие на организм [153, 180, 200].

Для анализа свободных сахаров в изучаемых видах, использовали метод ТСХ, условия анализа приведены в гл.2. В качестве стандартных образцов использовали глюкозу и фруктозу - наиболее распространенные в свободном виде в растительных объектах простые сахаров. После обработки пластин 0,1M водным раствором серебра нитрата для каждого объекта наблюдали наличие двух зон серого цвета, характерных для простых сахаров. Глюкоза идентифицирована во всех объектах ($R_f 0,28 \pm 0,02$), кроме горца земноводного (ВФ). Фруктоза ($R_f 0,24 \pm 0,02$) в свободном виде присутствовала в горцах щавелелистном, шероховатом, узловатом и обеих формах горца земноводного (таблица 10).

Таблица 10 - Характеристика углеводного комплекса исследуемых видов горцев ($n = 5, p > 0,95$)

Виды горцев	Значение R_f зон простых сахаров		Содержание суммы полисахаридов, %
	Глюкоза ($R_{fCO} - 0,28$)	Фруктоза ($R_{fCO} - 0,44$)	
Перечный	0,28	---	$4,2 \pm 0,2$
Малый	0,28	---	$8,6 \pm 0,9$
Почечуйный	0,27	---	$4,0 \pm 0,1$
Щавелелистный	0,26	0,46	$5,2 \pm 0,5$
Шероховатый	0,26	0,46	$7,0 \pm 0,8$
Бриттингера	0,28	---	$2,5 \pm 0,1$
Войлочный	0,27	---	$4,0 \pm 0,3$
Узловатый	0,27	0,44	$5,4 \pm 0,5$
Земноводный	----	0,45	$5,3 \pm 0,3$
Земноводный (НФ)	0,26	0,43	$4,6 \pm 0,2$

Содержание суммы полисахаридов, установленное гравиметрически [53] (в пересчете на абсолютно сухое сырье), в траве горцев перечном, почечуйном, щавелелистном, войлочном, узловатом и земноводном, находилось в пределах 4,0% - 5,3%, исключение составляют трава горцев малого и шероховатого, где данный показатель является более высоким, и составляет 8,6% и 7,0% соответственно. Наименьшее количество суммы полисахаридов (2,5%) отмечено в траве горца Бриттингера (таблица 10).

Для количественной оценки содержания свободных сахаров (в пересчете на абсолютно сухое сырье) были выбраны представители каждого таксономического ряда – горцы земноводный (обе формы), перечный и малый, а также горцы почечуйный и щавелелистный. Анализ проводился методом капиллярного электрофореза. Полученные электрофореграммы приведены на Рисунок 77, 78 и приложении 5 (рисунки 1 - 4). Результаты представлены в таблице 11.

В траве различных видов горцев определено содержание глюкозы, фруктозы и сахарозы, сумма которых колебалась от 0,014% до 0,83% (таблица 11).

Таблица 11 - Содержание простых сахаров в изучаемых видах горцев

Соединение	Содержание простых сахаров в горцах, %					
	Земноводный (НФ)	Земноводный	Почечуйный	Щавелелистный	Перечный	Малый
Глюкоза	0,10	0,002	0,002	0,04	0,10	0,24
Фруктоза	0,29	0,009	0,13	0,37	0,55	0,43
Сахароза	0,10	0,003	0,01	0,02	0,18	0,08
Сумма	0,49	0,014	0,142	0,43	0,83	0,75

По этому показателю виды можно расположить в следующем порядке (по убыванию): горец перечный (0,83%)→горец малый→горец земноводный (НФ)→горец щавелелистный→горец почечуйный→горец земноводный (0,014%). Изучаемые виды различались по количественному содержанию отдельных сахаров, однако, доминирующим по количеству сахаром во всех объектах являлась фруктоза. По содержанию данного сахара виды горцев можно расположить следующим образом (в порядке убывания): горец перечный (0,55%)

→горец малый→горец щавелелистный→горец земноводный (НФ)→горец почечуйный→горец земноводный (0,009%). Довольно высокое содержание сахарозы характерно для горцев перечного (0,18%) и земноводного (НФ) (0,10%). Максимальное количество глюкозы было установлено в траве горцев малого (0,24%) и земноводного (НФ) (0,10%). Наиболее бедными по содержанию сахаров являются горец земноводный (водная форма) (0,014%) (содержание сахаров примерно в 50 раз меньше, чем в наземной форме) и горец почечуйный (0,142%). Преобладание фруктозы среди простых сахаров указывает на перспективность изучения возможности использования данных растений у больных сахарным диабетом [62].

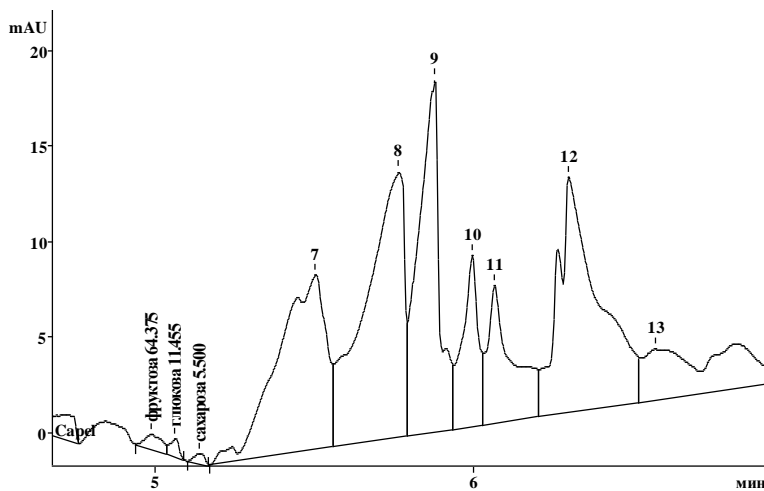


Рисунок 77 - Электрофореграмма сахаров травы горца почечуйного

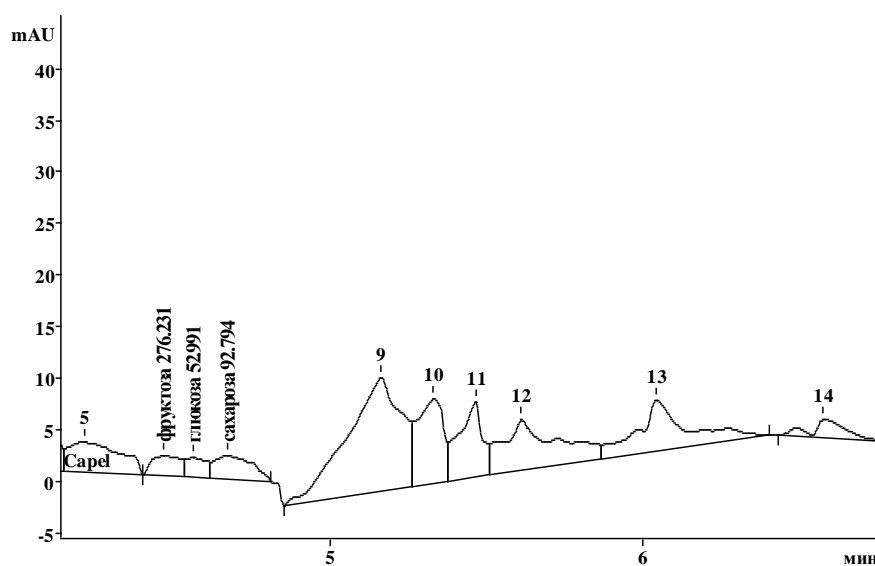


Рисунок 78 - Электрофореграмма сахаров травы горца перечного

5.3. Изучение аскорбиновой кислоты и витаминов групп В в изучаемых видах рода *Persicaria* Mill

Не смотря на изученность БАВ ряда горцев, сравнительное исследование состава водорастворимых витаминов в траве рассматриваемых видов не проводилось [201]. Актуальность изучения данной группы соединений обусловлена их уникальной физиологической и биохимической ролью. Аскорбиновая кислота (АсК), участвуя в обменных процессах, способствует усвоению железа, являясь антиоксидантом, восстанавливает защитные силы организма [5, 114, 117]. Витамины группы В в комплексе способствуют обеспечению нормального функционирования нервной системы и участвуют в энергетическом обмене [170].

Содержание водорастворимых витаминов во всех исследуемых объектах в пересчете на абсолютное сухое сырье представлено в таблицах 12, 13.

При титриметрическом определении АсК (таблица 12) выявлено, что горцы земноводный (наземная форма), войлочный и узловатый содержат наименьшее количество АсК (0,078%, 0,071% и 0,077% соответственно). Наибольшее количество АсК характерно для горцев почечуйного (0,173%), перечного (0,155%) и Бриттенгера (0,127%).

Таблица 12 - Содержание аскорбиновой кислоты в видах рода горец (n = 5, p > 0,95)

Ряд	Представитель	Содержание, %
<i>Amphibiae</i> Kom.	горец земноводный (НФ)	0,078 ± 0,002
	горец земноводный (ВФ)	0,106 ± 0,003
<i>Hydropiperiformes</i> Kom.	горец перечный	0,155 ± 0,004
	горец малый	0,100 ± 0,003
<i>Persicariaeformes</i> Kom.	горец почечуйный	0,173 ± 0,005
<i>Lapathiiformes</i> Worosch.	горец щавелелистный	0,107 ± 0,003
	горец войлочный	0,071 ± 0,002
	горец шероховатый	0,110 ± 0,003
	горец Бриттингера	0,127 ± 0,003
	горец узловатый	0,077 ± 0,002

Содержание витаминов группы В в сырье (таблица 13) оценивали на примере двух видов - горце почечуйном (официальный вид) и горце щавелелистном (примесный к нему). Установлено, что потенциальным источником холина (2915 мг/кг) является трава горца щавелелистного. Содержание тиамин и пантотеновой кислоты в сырье очень низкое (ниже уровня их обнаружения), количество никотиновой кислоты в обоих объектах составляло 0,05 мг/кг.

Таблица 13 - Количественное содержание витаминов группы В в траве горцев почечуйного и щавелелистного

Соединение	Содержание, мг/кг	
	Горец почечуйный	Горец щавелелистный
Витамин В ₁ (тиамин)	Менее 0,16	Менее 0,16
Витамин В ₂ (рибофлавин)	2,34	2,80
Витамин В ₄ (холин)	Менее 0,004	2915,0
Витамин В ₃ (пантотеновая кислота)	Менее 0,05	Менее 0,05
Витамин В ₅ (РР, никотиновая кислота)	0,005	0,005

Учитывая нормы потребления витаминов человеком [176] можно рассматривать, сырье изучаемых объектов как перспективный источник комплекса витаминов - аскорбиновой кислоты, рибофлавина и холина.

5.4. Изучение профиля аминокислот в изучаемых видах рода *Persicaria* Mill.

Аминокислоты (АК) играют важную роль в биохимических процессах организма, участвуют в синтезе и утилизации ферментов, витаминов [25].

АК самостоятельно оказывают фармакологический эффект, а также способствуют синтезу, усвоению и потенцированию действия других растительных компонентов [21, 41, 88]. Они выполняют в организме ряд жизненно важных функций, являясь иммуномодуляторами и антидепрессантами (глутамин и тирозин), важными компонентами коллагена (пролин), снижают

уровень триглицеридов в крови (лизин). Кроме того, АК играют роль в биохимических процессах организма, участвуя в синтезе и утилизации витаминов [25, 88].

Хроматографическая характеристика зон АК травы изучаемых видов представлена в таблице 14 и приложении 5 рисунки 5, 6. Учитывая таксономические особенности растений, интерпретацию полученных результатов проводили между видами внутри рядов.

Между горцами перечным и малым, относящимися к ряду *Hydroperformes*, наблюдалось различие в составе АК (рисунок 79). Для травы горца перечного характерно присутствие 10 свободных АК, которые были идентифицированы как глутаминовая кислота, фенилаланин, цистеин, глицин, аланин, валин, лейцин и лизин, кроме того, визуализировались зоны неидентифицированных АК. Для травы горца малого идентифицировано 7 зон, характерных для фенилаланина, валина, лизина, глутаминовой кислоты, аланина, лейцина и глицина. В качестве маркеров выступают цистеин и 2 неидентифицированных компонента, присутствующие в траве горца перечного.

Не смотря на родство видов, в ряду *Lapathiiformes*, установлена неоднородность в распределении АК. На хроматограммах извлечений из травы данных видов имелось от 8 до 11 зон АК. При этом, треонин, валин, метеонин и глутаминовая кислота характерны для всех представителей ряда. Лизин присутствовал в траве горцев шероховатого, Бриттингера, войлочного, узловатого. Аргинин идентифицирован в траве горца щавелелистного, для которого также характерно наличие пролина, тирозина, фенилаланина. Особенностью горца шероховатого является содержание в нем гистидина и лейцина. Горец Бриттингера включает глицин, аланин, фенилаланин. Профиль АК горцев войлочного и узловатого различается наличием в траве горца войлочного пролина и фенилаланина. Также все объекты различались по количеству неидентифицированных зон и их окраске.

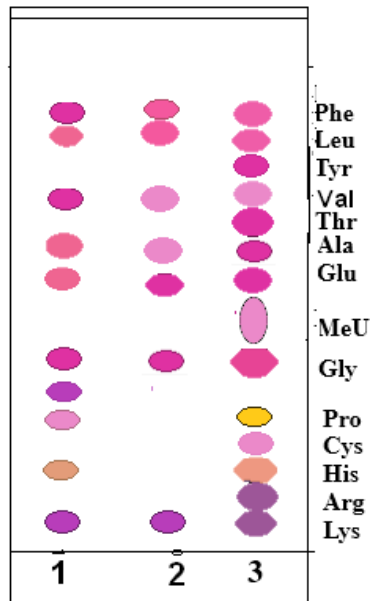


Рисунок 79 - Схема хроматограммы свободных АК в траве горца перечного (1), горца малого (2) и стандартных АК (3)

Единственный представитель ряда *Persicariaformes* имел в своем составе лизин, глицин, треонин, валин, метеонин, глутаминовую кислоту и фенилаланин.

Различия в составе профиля АК наблюдались не только в пределах ряда, но также в пределах двух разновидностей одного вида, что связано, с особенностями приспособления растения к среде обитания. Водная форма горца земноводного содержит 8 АК, в то время как наземная форма 11. Для обеих форм характерно наличие фенилаланина, тирозина, глутаминовой кислоты и валина. Маркерными являются пролин, глицин и один неидентифицированный компонент, характерные для травы наземной формы.

Эта разница, возможно, связана с особенностями приспособления растения к среде обитания. Так, согласно данным литературы [99, 191], наличие в растениях пролина и его производных наблюдается при стрессовых состояниях (водном, солевом и температурном).

Пролин повышает устойчивость растений к дефициту влаги, способствуя возрастанию осмотического давления клетки. Криозащитную активность пролина связывают с его хорошей растворимостью в воде, где он проявляет нетипичные для низкомолекулярных соединений свойства образовывать коллоиды.

Таблица 14 - Хроматографическая картина аминокислотного состава видов рода горец

Идентифицированные компоненты	Rf±0,02 СО АК	Виды горцев									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Лизин (Lys)	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,12
Аргинин (Arg)	0,13	-	-	-	0,15	-	-	-	-	-	-
Гистидин (His)	0,15	0,16	-	-	-	0,17	-	0,15	0,16	-	-
не идентифицир.	-	-	-	-	-	-	0,21	0,19	0,23	0,22	-
не идентифицир.	-	0,28	-	0,27	-	0,28	-	-	-	-	-
Цистеин (Cys)	0,24	0,23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пролин (Pro)	0,25	-	-	-	0,24	-	-	0,25	-	0,26	-
Глицин (Gly)	0,31	0,33	0,31	0,32	0,30	-	0,29	0,29	0,32	0,32	-
Метеонин (MeU)	0,36	-	-	0,36	0,36	0,37	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Глутаминовая кислота (Glu)	0,37	0,37	0,37	0,38	0,38	0,38	0,37	0,38	0,38	0,4	0,42
Аланин (Ala)	0,384	0,4	0,39	-	-	-	0,39	-	-	-	-
Треонин (Thr)	0,4	-	-	0,44	0,43	0,44	0,45	0,44	0,44	-	-
Валин (Val)	0,49	0,51	0,51	0,51	0,49	0,52	0,51	0,51	0,51	0,49	0,49
Тирозин (Tyr)	0,6	-	-	-	0,60	-	-	-	-	0,60	0,60
Лейцин (Leu)	0,62	0,61	0,61	-	-	0,61	-	-	-	-	-
Фенилаланин (Phe)	0,64	0,63	0,63	0,62	0,62	-	0,62	0,62	-	0,62	0,62
не идентифицир.	-	-	-	-	0,65	-	-	-	0,72	0,65	0,63
не идентифицир.	-	-	-	-	0,74	-	-	0,75	0,76	0,74	0,73

1 – перечный, 2 – малый, 3 – почечуйный, 4 – щавелелистный, 5 – шероховатый, 6 - Бриттингера, 7 – войлочный, 8 – узловатый, 9 – земноводный (НФ), 10 - земноводный (ВФ)

Глицин (одна из самых распространенных аминокислот) находится в растительных белках и почти всегда присутствует в растениях в значительном количестве в свободном состоянии [89]. Глицин после окислительного декарбоксилирования принимает участие в фотосинтезе и гликолатном метаболизме. Кроме того, процесс утилизации глицина растением рассматривается учеными как один из главнейших путей азотного обмена [125]. Данный факт объясняет наличие свободных форм пролина и глицина в НФ горца земноводного, которая подвергается негативному влиянию факторов окружающей среды.

Резюмируя полученные результаты, следует отметить, что все изученные виды горцев имеют сходный набор АК (глутаминовая кислота, метеонин, валин), а также маркерные компоненты. Уникальность состава для растения достигается специфическим набором АК в каждом конкретном случае.

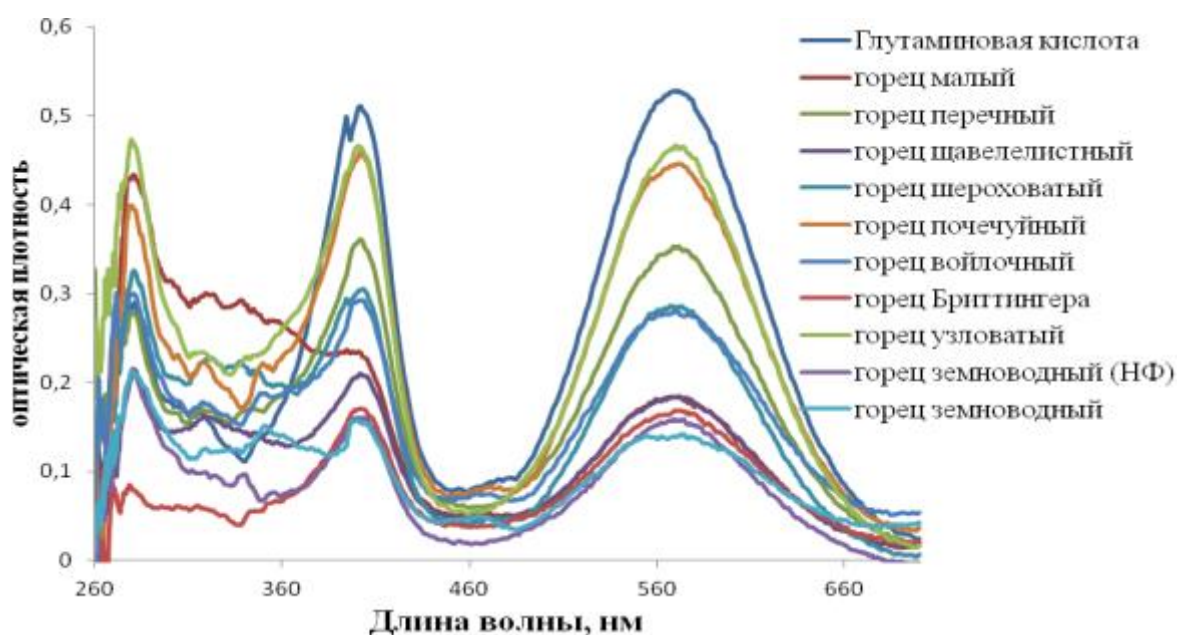


Рисунок 80 - Фрагменты спектров поглощения продуктов реакции АК с раствором нингидрина

Для количественного определения АК в траве изучаемых видов использовали спектрофотометрическую методику Олешко с соавт. [138], заключающуюся в измерении оптической плотности продуктов реакции АК с раствором нингидрина. Анализ спектров поглощения всех изучаемых объектов

(рисунок 80) выявил наличие трех максимумов поглощения при 272 ± 2 нм, 401 ± 2 нм и 568 ± 2 нм, характерных для глутаминовой кислоты, в связи с чем, определение суммы АК проводили в пересчете на глутаминовую кислоту. Максимум поглощения при 568 нм был выбран в качестве аналитического.

Наибольшее количество суммы свободных АК (рисунок 81) характерно для горца узловатого ($2,29\pm 0,10\%$); близко к нему содержание АК в траве горцев перечного и почечуйного ($1,73\pm 0,09\%$ и $1,54\pm 0,09\%$ соответственно). Содержание суммы свободных АК у горца земноводного (ВФ) в зависимости от формы (водная или наземная) колеблется незначительно ($0,66\pm 0,03\%$ и $0,75\pm 0,04\%$ соответственно).

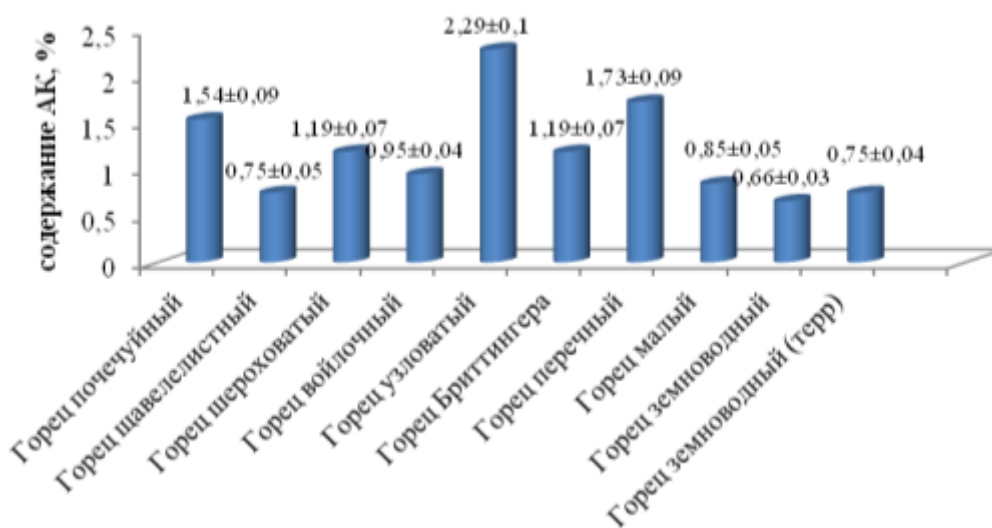


Рисунок 81 - Содержание суммы свободных АК в пересчете на глутаминовую кислоту ($n=6$, $p = 0,95$)

Результаты, полученные методом капиллярного электрофореза, показали, что изучаемые объекты рода горец имеют сходный качественный состав АК.

Профиль АК в изучаемых видах представлен моноаминомонокарбоновыми, моноаминодикарбоновыми, диаминомонокарбоновыми и гетероциклическими кислотами. В сырье идентифицировано 17 АК, 7 из которых относятся к незаменимым (Val, Leu, Ile, MeU, Thr, Lys, Phe). Электрофореграмма травы горца почечуйного приведена на рисунок 82. Электрофореграммы остальных видов представлены в приложении 5 (рисунки 7 - 12).

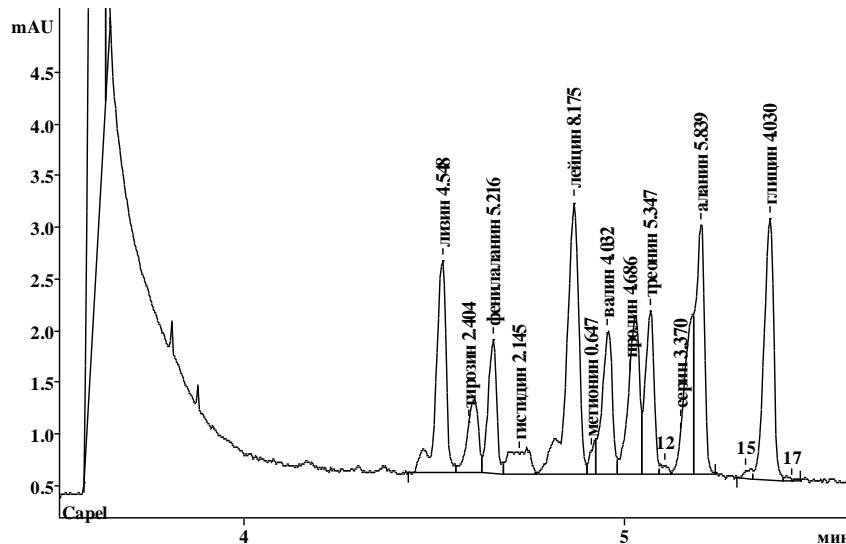


Рисунок 82 - Электрофореграмма аминокислот травы горца почечуйного

Превалирующей группой АК в растительном сырье являются моноаминомонокарбоновые кислоты, среди которых во всех объектах наблюдается довольно высокое содержание суммы лейцина и изолейцина (таблица 15, рисунок 83). Наибольшее содержание данной группы АК характерно для горца щавелелистного и горца почечуйного, в составе которых также преобладает фенилаланин, являющийся незаменимой АК. Из моноаминодикарбоновых кислот во всех видах в большем количестве присутствует глутаминовая кислота. Аргинин, как представитель диаминомонокарбоновых кислот, в большем количестве наблюдается в горца перечном и горца земноводном (НФ). Содержание пролина выше в горце малом и горце земноводном, а глицина в горце перечном и горце малом.

Водная и наземная формы горца земноводного имеют сходный качественный состав АК. Что касается количественного содержания АК в горце земноводном, то суммарное содержание АК в траве горца земноводного (НФ) на 20% выше, чем в водной форме. Анализируя количество АК в сырье по отношению к их процентному содержанию от общей суммы, то нужно отметить, что в траве горца земноводного (НФ) АК распределяются в ряду уменьшения их содержания следующим образом: Glu→Leu+Ile→Arg→Thr→Ala→Asp→Pro→Phe→Lys→Val→Gly→другие АК. В водной форме

ГЗ АК выстраиваются в следующий ряд: Glu→ Leu+Ile→ Pro→Thr →Ala →Asp→ Lys → Phe → Ser→Gly→другие АК. Необходимо отметить, что метионин в траве водной формы горца земноводного присутствует в количестве на 35% от суммы АК выше, чем в наземной форме, являющейся источником аргинина, на долю которого приходится 8,5% от суммы АК, что на 50% выше, чем в траве водной формы.

Наблюдаемое по результатам работы сходство в компонентном составе АК, объяснимо важной ролью каждой АК для растительного организма [18, 21, 107, 126].

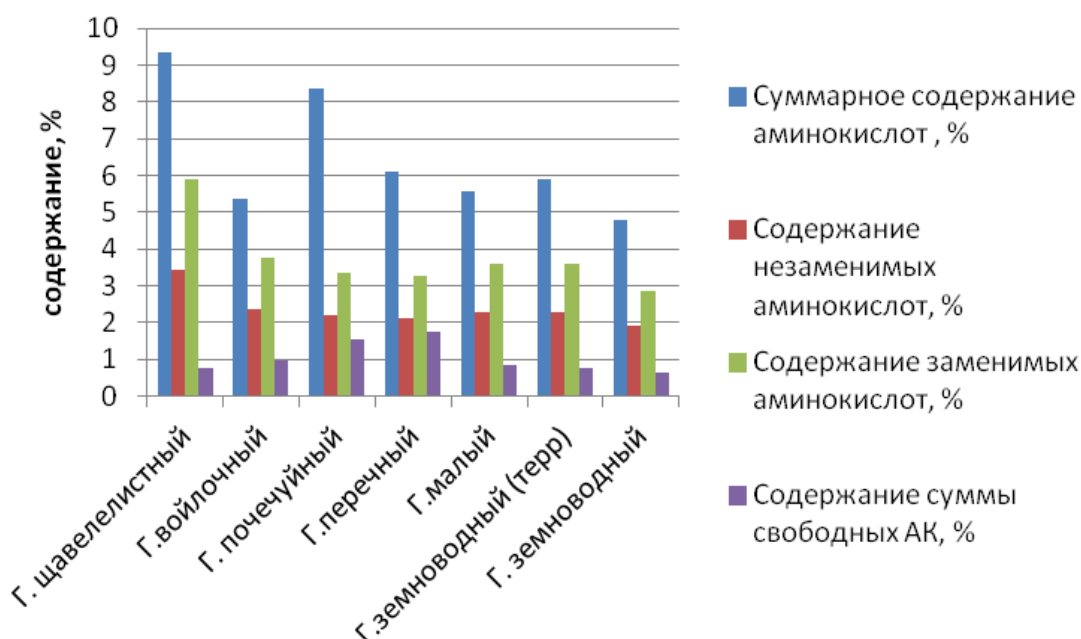


Рисунок 83 - Суммарное содержание свободных и связанных АК в представителях рода горец

Наиболее высокое содержание как отдельных АК, так и суммы, а также незаменимых АК характерно для горца щавелелистного, наименьшее для горца земноводного. В ряду увеличения содержания АК все объекты располагаются следующим образом: горец земноводный → горец войлочный → горец малый → горец земноводный (НФ) → горец перечный → горец почечуйный → горец щавелелистный.

Таблица 15 - Полный аминокислотный состав некоторых представителей рода горец

Наименование показателя	1		2		3		4		5		6		7		Потребность Б, Г [175,248]
	Содержание, %														
	% в сырье	% от суммы	% в сырье	% от суммы	% в сырье	% от суммы	% в сырье	% от суммы	% в сырье	% от суммы	% в сырье	% от суммы	% в сырье	% от суммы	
Моноаминомонокарбоновые аминокислоты															
Аланин (Ala)	0,65	6,9	0,42	7,8	0,68	8,1	0,47	7,7	0,49	8,8	0,43	7,3	0,38	7,9	1,8
Валин* (Val)	0,49	5,2	0,29	5,4	0,47	5,6	0,33	5,4	0,32	5,7	0,32	5,4	0,27	5,6	0,8
Лейцин+изолейцин* (Leu+Ile)	0,88	9,4	0,62	11,5	0,95	11,3	0,73	11,9	0,63	11,3	0,69	11,7	0,59	12,3	1,1+0,7
Метионин* (MeU)	0,12	1,3	0,07	1,3	0,07	0,83	0,07	1,14	0,08	1,4	0,08	1,36	0,10	2,1	1,1
Серин (Ser)	0,42	4,5	0,22	4,1	0,39	4,6	0,31	5,1	0,27	4,8	0,28	4,7	0,26	5,4	
Тирозин (Tyr)	0,28	3	0,21	3,9	0,28	3,3	0,17	2,7	0,15	2,7	0,19	3,2	0,16	3,3	
Треонин* (Thr)	0,68	7,3	0,41	7,6	0,62	7,4	0,48	7,8	0,45	8,1	0,45	7,6	0,39	8,17	0,5
Фенилаланин* (Phe)	0,72	7,7	0,37	6,7	0,61	7,3	0,42	6,8	0,40	7,2	0,40	6,8	0,27	5,6	1,1
Цистеин (Cys)	0,09	0,96	0,05	0,93	0,08	0,95	0,06	0,98	0,05	0,89	0,06	1,0	0,04	0,83	
Общее содержание	4,33	46,26	2,66	49,23	4,15	49,38	3,04	49,52	2,84	50,89	2,90	49,06	2,46	51,2	
Моноаминодикарбоновые аминокислоты															
Глутаминовая кислота (Glu)	1,79	19,2	0,82	15,3	1,25	14,9	0,80	13	0,68	12,2	0,78	13,2	0,63	13,2	
Аспарагиновая кислота (Asp)	0,69	7,4	0,40	7,4	0,67	8,0	0,45	7,3	0,50	8,97	0,43	7,3	0,38	7,9	
Общее содержание	2,48	26,6	1,22	22,7	1,92	22,9	1,25	20,3	1,18	21,17	1,21	20,5	1,01	21,1	
Диаминомонокарбоновые аминокислоты															
Аргинин (Arg)	0,58	6,2	0,35	6,5	0,51	6,1	0,52	8,5	0,23	3,9	0,50	8,5	0,20	4,2	

Лизин* (Lys)	0,56	6,0	0,35	6,5	0,53	6,3	0,34	5,5	0,32	5,7	0,36	6,1	0,30	6,3	0,8
Общее содержание	1,14	12,2	0,7	13,0	1,04	12,4	0,86	14,0	0,55	9,6	0,86	14,6	0,5	10,5	
Гетероциклические аминокислоты															
Пролин (Pro)	0,52	5,6	0,33	6,1	0,54	6,4	0,42	6,8	0,42	7,5	0,41	6,9	0,39	8,2	
Гистидин (His)	0,40	4,3	0,21	3,9	0,25	2,9	0,18	2,9	0,23	4,1	0,17	2,9	0,17	3,5	0,9
Глицин (Gly)	0,46	4,9	0,25	4,6	0,47	5,6	0,37	6,0	0,35	6,3	0,33	5,6	0,24	5,0	
Общее содержание	1,38	14,8	0,79	14,6	1,26	14,9	0,97	15,7	1,0	17,9	0,91	15,4	0,8	16,7	
Суммарное содержание аминокислот %	9,33	-	5,37	-	8,37	-	6,12	-	5,57	-	5,88	-	4,77	-	
Содержание незаменимых аминокислот, %	3,45	37,0	2,37	44,0	2,2	26,3	2,11	34,5	2,3	41,3	2,3	39,1	1,92	40,2	
Содержание заменимых аминокислот, %	5,88	63,0	3,75	55,0	3,37	73,7	3,26	65,5	3,58	58,7	3,58	60,9	2,85	59,8	
Содержание суммы свободных АК, %	0,75	-	0,95	-	1,54	-	1,73	-	0,85	-	0,75	-	0,66	-	

1 – горец щавелелистный, 2 – горец войлочный, 3 – горец почечуйный, 4 – горец перечный, 5 – горец малый, 6 – горец земноводный (НФ), 5 – горец земноводный (ВФ)

Однако, большее содержание суммы свободных АК, наблюдается для горца перечного, растения в ряду увеличения суммы свободных АК выстраиваются по иному: горец земноводный → горец земноводный (НФ) → горец щавелелистный → горец малый → горец войлочный → горец почечуйный → горец перечный (Приложение 5, рисунок 13).

Несмотря на то, что содержание АК во всех объектах значительно ниже необходимой суточной нормы, изучаемые растения могут служить дополнительным источником АК.

Таким образом, методом капиллярного электрофореза была установлена схожесть в составе АК горцев почечуйного и щавелелистного.

Учитывая особенности биохимических превращений веществ первичного синтеза, можно предположить дальнейшую схожесть в составе других групп БАВ.

Полученные результаты являются основой для более глубокого изучения состава АК видов рода горец, так как картина качественного и количественного состава АК, среди близкородственных видов может быть использована не только для оценки качества растительного сырья и лекарственных растительных препаратов, но и для определения подлинности объектов.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Впервые, для 10 видов рода горец, произрастающих в Воронежской обл., проведен сравнительный качественный и количественный анализ соединений первичного обмена растений (углеводов, витаминов, аминокислот).

2. Установлено, максимальный выход ЭВ из всех объектов наблюдался при экстракции 40% спиртом этиловым, наибольшее содержание ЭВ характерно для горцев шероховатого (47,8%), щавелелистного (36,2%) и узловатого (38,5%). Это связано с преобладанием во всех изучаемых видах суммы гидрофильных соединений.

3. При изучении углеводного комплекса установлено, что в траве представителей рода горец содержание суммы полисахаридов колеблется от 8,6%

(трава горца малого) до 2,5% (трава горца Бриттингера). Содержание свободных сахаров в траве изучаемых горцев невысокое. Свободная глюкоза идентифицирована во всех объектах, кроме горца земноводного (водная форма). Фруктоза в свободном виде присутствовала в горцах щавелелистном, шероховатом, узловатом и обеих формах горца земноводного. В количественном отношении доминирующим сахаром среди простых сахаров является фруктоза.

4. Сравнительное изучение травы горца почечуйного и таксономически близкого к нему горца щавелелистного на количественное содержание водорастворимых витаминов (аскорбиновая кислота, рибофлавин, тиамин, холин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота) показало, трава горца почечуйного содержит аскорбиновой кислоты почти в 1,5 раза больше (на 38%), чем трава горца щавелелистного, который является потенциальным источником холина (2915 мг/кг). Остальные витамины в сырье присутствуют в одинаковых количествах.

5. Методом ТСХ установлено различие в качественном составе свободных АК в изучаемых объектах. На хроматограммах извлечений визуализировано от 8 до 11 зон АК. Треонин, валин, метеонин и глутаминовая кислота характерны для всех изучаемых растений. Уникальность состава каждого вида достигается специфическим набором АК в каждом конкретном случае.

6. Содержание суммы свободных АК, в пересчете на глутаминовую, определенное спектрофотометрически, самое высокое в траве горца узловатого ($2,29 \pm 0,1\%$). Содержание суммы свободных АК в пределах одного вида, горца земноводного, в зависимости от формы (водная или наземная), варьирует незначительно ($0,66 \pm 0,03$ и $0,75 \pm 0,04\%$ соответственно).

7. Методом КЭ во всех объектах показано присутствие 17 АК, 7 из которых являются незаменимыми. Для каждого объекта выявлены преобладающие АК. Суммарное содержание АК наиболее высокое в траве горца щавелелистного (9,33%) и горца почечуйного (8,37%). При этом, доля незаменимых АК в их сумме выше в горце войлочном (44%) и горце малом

(41,3%), а заменимых АК - в горце почечуйном (73,7%). Впервые установлена схожесть состава АК горца почечуйного и горца щавелелистного.

8. Показана перспективность дальнейшего изучения состава АК представителей рода горец в качестве дополнительного хемотаксономического признака.

ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ВЕЩЕСТВ ВТОРИЧНОГО СИНТЕЗА В ПРЕДСТАВИТЕЛЯХ РОДА *PERSICARIA* MILL.

В процессе синтеза растениями биологически активных веществ синтезируется большое количество вторичных метаболитов (соединения терпеноидной природы, фенольные соединения, алкалоиды и др.), которые участвуют в обмене веществ и выполняют различные функции в растении. Многие соединения этой группы обеспечивают различные фармакологические эффекты ЛРС. Среди фенольных соединений особо выделяются флавоноиды. Учитывая их роль в стандартизации ЛРС, результаты изучения флавоноидов в представителях рода *Persicaria* Mill. изложены в отдельной главе.

6.1. Изучение органических кислот в представителях рода *Persicaria* Mill.

Органические кислоты (ОК) растений - это активные метаболиты трикарбоновой кислоты [119], участвующие в различных жизненно важных процессах растительного организма: начиная от процесса дыхания, заканчивая процессами биосинтеза пигментов (хлорофилла), жиров, лигнина, пектинов и камедей, алкалоидов (шикимовая кислота), ароматических АК (тирозина, фенилаланина, триптофана) [50, 209]. На уровне целого организма функциональную роль органических кислот связана с их участием в адаптации растений к условиям окружающей среды, включая дефицит питательных элементов и устойчивость к тяжелым металлам [190].

ОК также важны для человека [190]. Они принимают участие в обменных процессах, способствуют активации деятельности слюнных желез, стимулируют работу желудочно – кишечного тракта, проявляют бактерицидное действие [209]. В качестве примера можно привести препарат «Осельтамивир», исходным компонентом которого являлась шикимовая кислота [27, 50]. Аскорбиновая кислота (АсК) проявляет сильно выраженные антиокислительные свойства, уменьшает воспаление и усиливает регенеративные процессы [190]. Янтарная

кислота выступает универсальным клеточным метаболитом: воздействует на клеточное дыхание активируя его, стимулирует ионный транспорт и синтез белков [179], лимонная кислота способствует активации обменных процессов в организме, благодаря чему является одним из компонентов лекарственных препаратов [204].

В изучаемых представителях рода горец титриметрически по методике ФС.2.5.0093.18 «Рябины обыкновенной плоды» ГФ РФ XIV изд. [53] было определено содержание АсК и суммы ОК, в пересчете на яблочную (таблица 16).

Таблица 16 - Содержание аскорбиновой кислоты и суммы органических кислот в пересчете на яблочную в видах рода *Persicaria* Mill. (n=5, p >0,95)

Содержание кислот, %	Виды горцев									
	почечуйный	войлочный	щавелелист-ный	узловатый	Бриггингера	шероховатый	перечный	малый	земноводный (НФ.)	земноводный (водн.)
Аскорбиновая кислота	0,173 ± 0,005	0,071 ± 0,002	0,107 ± 0,003	0,077 ± 0,002	0,127 ± 0,003	0,110 ± 0,003	0,150 ± 0,004	0,100 ± 0,003	0,080 ± 0,002	0,106 ± 0,003
Сумма органических кислот, в пересчете на яблочную	5,60 ± 0,20	4,03 ± 0,12	5,47 ± 0,30	7,18 ± 0,40	6,90 ± 0,30	5,25 ± 0,20	5,16 ± 0,20	4,47 ± 0,16	5,28 ± 0,18	4,73 ± 0,11

Наибольшее содержание суммы ОК в пересчете на яблочную в ряду *Lophathiiiformes* установлено в траве горца узловатого (7,18%), при этом, количество АсК в данном объекте невысокое (0,077%), наименьшее содержание суммы ОК и АсК наблюдалось в горце войлочном (4,03% и 0,07% соответственно). В траве горца почечуйного довольно высокое, по сравнению с остальными видами, содержание АсК (0,173%). В ряду *Hydropiperformes* в горце перечном АсК содержится на 34% выше (0,15%), а ОК на 13% выше (5,16%), чем в горце малом (4,47%). Различие в количественном содержании суммы ОК и АсК наблюдалось в пределах двух форм одного вида - горца земноводного. В

наземной форме количество АсК на 27% меньше (0,08%), а суммы ОК на 10% больше (5,28%), чем в водной форме (АсК 0,11% и ОК 4,73%). В целом, рассматривая все изученные виды, следует отметить, что наивысшее содержание суммы ОК характерно для горца узловатого (7,18%), а АсК - для горца почечуйного (0,173%).

Определение ОК и АсК в растительном сырье фармакопейным методом имеет ряд недостатков, в частности, яблочная кислота, на которую проводится пересчет содержания суммы, не всегда присутствует в сырье в преобладающем количестве, данный метод не позволяет установить качественный состав ОК, присутствующих, как в свободном виде, так и в виде солей [182].

Методом капиллярного электрофореза (КЭ) в изучаемых объектах были идентифицированы и установлены количества 12 ОК: бензойная, винная, лимонная, молочная, муравьиная, сорбиновая, фумаровая, щавелевая, янтарная, яблочная, пропионовая и уксусная кислоты (таблица 17).

Наиболее высокое содержание ОК, определенное методом КЭ, установлено для горца перечного (13,4%) и наземной формы горца земноводного (10,7%). Самое низкое количество ОК характерно для горца войлочного (2,6%).

К наиболее распространенным ОК в траве изучаемых горцев относятся муравьиная и щавелевая кислоты. Наибольшее количество муравьиной кислоты (6,69%) установлено в горце земноводном (НФ), в одинаковом количестве муравьиная кислота содержалась в горцах перечном и малом (4,71 и 4,41% соответственно), наименьшее количество наблюдалось в горце щавелелистном (2,84%). Наличие данного вещества объясняет появление незначительного раздражения при контакте сока растения с поверхностью кожи, что необходимо учитывать при заготовке.

Больше всего лимонной и яблочной кислот содержится в водной форме горца земноводного. При этом содержание кислот в водной форме было выше, чем в наземной форме этого вида: яблочной кислоты на 50% (0,66%), а лимонной на 70% (0,72%). Следует отметить, что лимонная кислота неравномерно распределяется в пределах рядов, выделенных в роду горец. Ее содержание в

траве горца малого на 50% меньше (0,12%), чем в траве горца перечного (0,25%), примерно одинаково в траве горцев щавелелистного (0,28%) и войлочного (0,2%), что на 65% выше, чем в горце почечуйном (0,07%).

Таблица 17 - Содержание органических кислот в видах рода горец (метод капиллярного электрофореза)

Органические кислоты	Содержание, %						
	Горец щавелелистный	Горец перечный	Горец малый	Горец войлочный	Горец почечуйный	Горец земноводный (НФ)	Горец земноводный (ВФ)
щавелевая	0,35	7,36	2,13	1,70	3,36	1,19	0,48
муравьиная	2,84	4,71	4,47	менее 0,15	менее 0,15	6,69	менее 0,15
фумаровая	0,014	0,017	0,005	0,023	менее 0,005	0,002	0,008
янтарная	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05	менее 0,05	0,067	менее 0,05
яблочная	0,044	0,055	0,073	0,062	0,13	0,28	0,66
лимонная	0,28	0,25	0,12	0,2	0,07	0,2	0,72
пропионовая	0,22	0,17	0,03	0,16	менее 0,15	0,16	менее 0,15
молочная	0,07	0,08	0,29	менее 0,12	менее 0,12	менее 0,12	менее 0,12
бензойная	0,03	0,02	0,007	0,004	0,006	0,008	менее 0,005
сорбиновая	0,12	менее 0,025	0,04	менее 0,025	менее 0,025	0,02	менее 0,025
винная	0,5	0,76	0,5	0,46	менее 0,005	2,15	1,79
уксусная	менее 0,01	менее 0,01	менее 0,01	менее 0,01	менее 0,01	менее 0,01	менее 0,01
Сумма кислот	4,460	13,422	7,665	2,609	3,566	10,767	3,658

Среди изучаемых видов горцев янтарная кислота в малом количестве достоверно обнаружена в траве горца земноводного (НФ) (0,067%) и, предположительно, являться маркерным компонентом для данного вида.

Пропионовая и молочная кислоты в большем количестве характерны для травы горцев щавелелистного и малого (0,22% и 0,29%) соответственно.

Количество винной кислоты в траве горца земноводного (НФ) почти в 2 раза выше (2,14%), чем в водной форме. В пределах ряда *Laphathiiformes* ее содержание сходно между представителями. Горец почечуйный содержит винную кислоту в количестве меньшем предела обнаружения прибора, что может являться особенностью растения и, также выступать дополнительным хемотаксономическим признаком сырья.

Такие ОК как фумаровая, бензойная, сорбиновая присутствуют в незначительных количествах. Содержание уксусной кислоты в анализируемом сырье ниже предельной возможности прибора, это может быть связано с частичной потерей вещества в результате пробоподготовки (уксусная кислота и некоторые другие относятся к классу летучих ОК).

Было изучено наличие связи между содержанием в траве щавелевой кислоты и частотой встречаемости и размерами друз оксалата кальция, выявленными в результате микроскопического анализа изучаемых объектов (таблица 18).

Таблица 18 - Содержание щавелевой кислоты, частота встречаемости и размер друз оксалата кальция в в видах рода горец

Изучаемый параметр	Виды горцев						
	щавелелистный	перечный	малый	войлочный	почечуйный	земноводный (НФ)	Земноводный (НФ)
Содержание щавелевой кислоты, %	0,35	7,36	2,13	1,70	3,36	1,19	0,48
Частота встречаемости, шт (1мм ²)	120±45	130±25	150±20	200±30	70±20	140±30	-
Диаметр друз, мкм	11,5 – 34,9	9,32- 23,3	11,5- 69,9	49,0- 81,55	11,65- 41,94	11,65 – 34,95	-

Наибольшее содержание щавелевой кислоты характерно для горца перечного (7,36%), при этом, диаметр друз, по сравнению с остальными объектами, наименьший при средней частоте встречаемости. Наибольшее количество друз крупного диаметра наблюдалось для горца войлочного (80 ± 12), однако, содержание щавелевой кислоты в сырье этого вида невысокое (1,70%). В водной форме горца земноводного микроскопически друзы оксалата кальция не были обнаружены и количество щавелевой кислоты в сырье было также довольно мало.

Таким образом, в ходе проведенного исследования зависимости между содержанием щавелевой кислоты, частотой встречаемости и размером друз оксалата кальция не выявлено. Полученные результаты подтверждают, что щавелевая кислота в изучаемых объектах содержится в основном в свободном виде [204] и лишь незначительная ее часть находится в виде солей кальция и др.

6.2. Изучение фенольных соединений представителей рода *Persicaria* Mill.

Фенольные соединения (флавоноиды, гидрокискоричные кислоты, дубильные вещества) являются одной из главных групп метаболома растений рода горец. Информация о профиле фенольных соединений может быть использована для определения подлинности видов, особенно при использовании измельченного сырья, а также являться обоснованием для расширения видового разнообразия растений, разрешенных к медицинскому использованию, за счет внедрения близкородственных (примесных).

6.2.1. Изучение гидроксикоричных кислот на примере травы горца почечуйного

Данные, полученные в ходе исследования гидроксикоричных кислот (ГкК) на примере травы горца почечуйного методом ВЭЖХ-МС-ДМД представлены в таблице 19 и рисунок 84.

Таблица 19 - Результаты идентификации и содержание гидроксикоричных кислот в траве горца почечуйного методом ВЭЖХ

№	Производное ГкК	K*	ESI-MS ⁺ , m/z	Детектируе мый ион	λ_{max} , нм	Содержа ние, мг/г
1.	Хлорогеновая кислота	3,12	355.14, 163.07	[M+H] ⁺ [M – хинная кислота + H] ⁺	218, 234, 300 плечо, 326	0,56
2.	Криптохлорогенова я кислота	3,20	355.14, 163.07	[M+H] ⁺ [M – хинная кислота + H] ⁺	218, 234, 300 плечо, 325	0,24
3.	Неидентифицирован ное производное	7,75	798.32, 663.36, 601.23	[M+NH ₄] ⁺	214, 228, 300 плечо, 312	0,09
4.	Неидентифицирован ное производное	9,02	974.38, 601.23	[M+NH ₄] ⁺	214, 228, 300 плечо, 314	0,66
5.	Неидентифицирован ное производное	9,07	631.24, 617.36		206, 298 плечо, 322	0,15
6.	Неидентифицирован ное производное	9,68	694.47, 601.23, 263.16	[M+NH ₄] ⁺	214, 230, 300 плечо, 316	0,22
7.	Неидентифицирован ное производное	9,76	694.47, 631.24, 353.31, 261.26	[M+NH ₄] ⁺	204, 210, 235, 300 плечо, 316	0,09
Сумма производных ГкК						2,01

В результате проведенного с помощью метода ВЭЖХ с УФ и масс-детектированием исследования, в траве горца почечуйного идентифицированы и установлено количественное содержание криптохлорогеновой и хлорогеновой кислоты (0,24 мг/г и 0,56 мг/г соответственно). Остальные ГкК идентифицированы не были. Суммарное количество ГкК составило 2,01 мг/г (рисунки 84-86) [34].

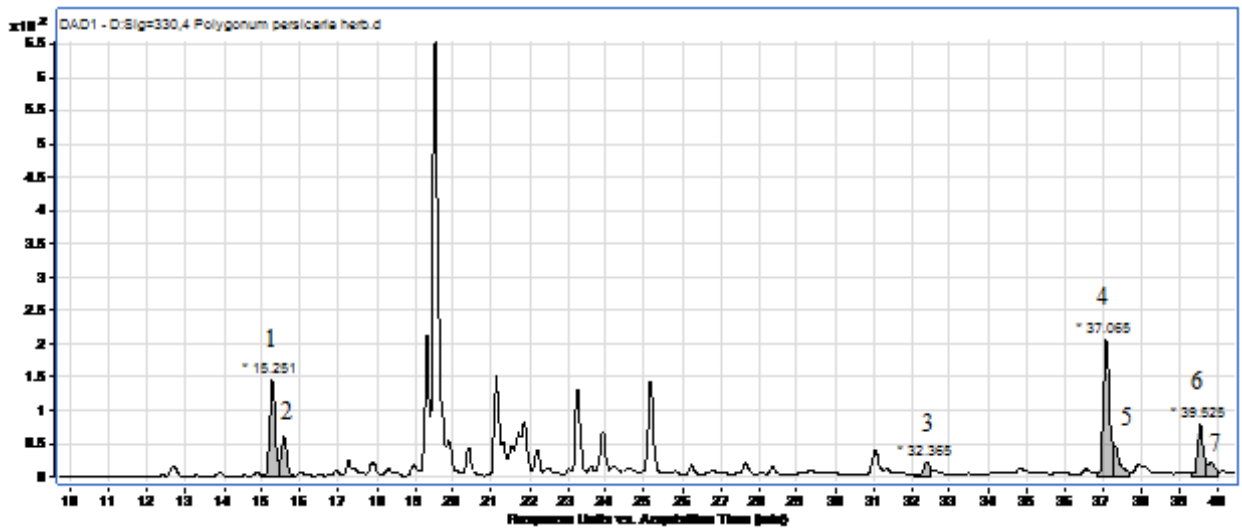


Рисунок 84 - Хроматограмма извлечения из травы горца почечуйного при $\lambda=330$ нм

Номера пиков производных ГкК на хроматограмме соответствуют номерам в таблице 19.

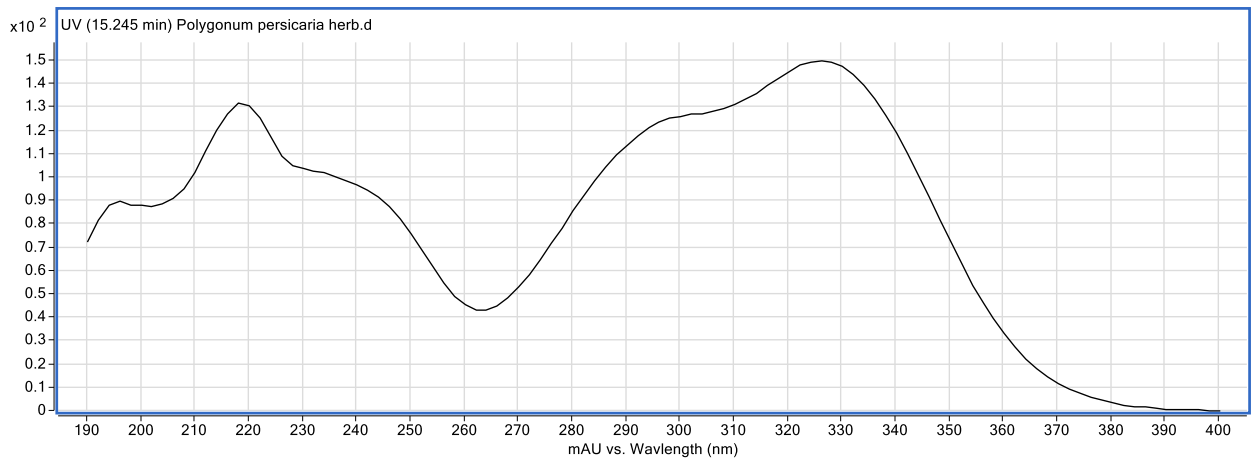


Рисунок 85 - Спектр поглощения хлорогеновой кислоты

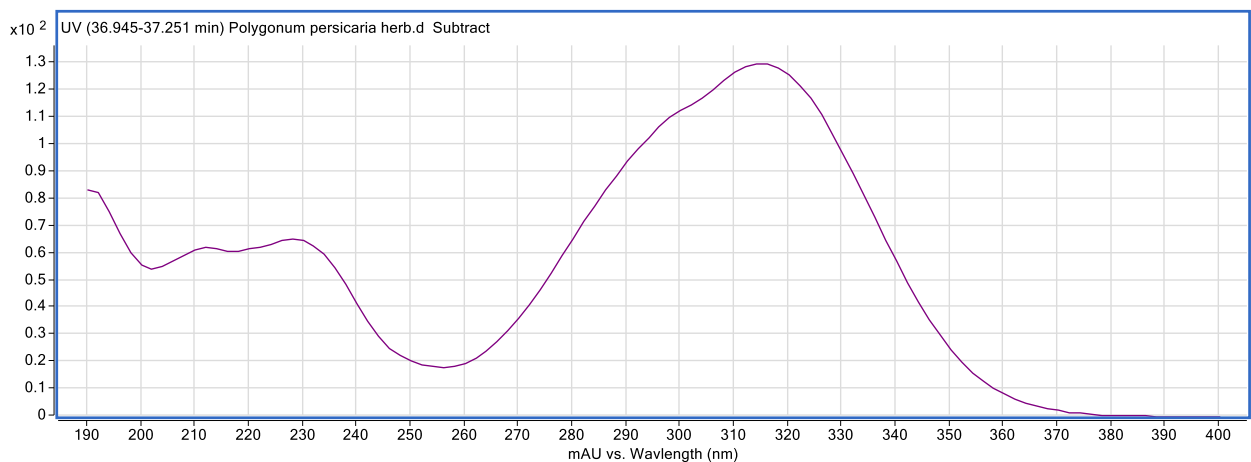


Рисунок 86 - Спектр поглощения неидентифицированного производного дигидроксикоричной кислоты в траве горца почечуйного

6.2.2. Содержание дубильных веществ в представителях рода *Persicaria* Mill.

Дубильные вещества (ДВ) достаточно широко распространены в растительном мире, в частности в составе комплекса комплекса БАВ растений семейства гречишных – *Polygonaceae*. Они обладают вяжущим, противовоспалительным, бактерицидным и кровоостанавливающим действиями, которые основаны на способности ДВ связываться с белками с образованием плотных альбуминатов. ДВ могут выступать в роли основных действующих веществ, обуславливая фармакологическое применение, например, у горца змеиноного (змеевика) [25, 186].

Используя фармакопейную методику перманганатометрического определения суммы дубильных веществ в пересчете на танин (ОФС.1.5.3.0008.15 ГФ РФ XIV изд.) [53] была проведена оценка изучаемых видов горцев по данному показателю. Результаты представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Содержание дубильных веществ в представителях рода горец

Виды горцев	Содержание суммы дубильных веществ, %				
	Метод титриметрический (перманганатометрия)	После осаждения желатином	% от суммы окисляемых соединений	Метод СФМ, %	% от суммы дубильных веществ, осаждаемых желатином
малый	9,50±0,04	4,70±0,03	49,5	3,80±0,02	80,8
перечный	12,30±0,12	7,20±0,05	58,5	5,30±0,04	73,6
почечуйный	28,10±0,70	18,3±0,4	65,1	4,90±0,04	26,8
щавелелистный	28,50±0,65	14,7±0,6	51,6	7,70±0,07	52,4
войлочный	28,90±0,82	13,7±0,3	47,4	7,00±0,05	51,0
шероховатый	15,4±0,2	10,30±0,08	66,8	7,60±0,05	73,7
узловатый	30,7±1,1	17,0±0,9	42,1	6,30±0,03	37,0
Бриттингера	11,8±0,1	7,20±0,05	61,0	5,90±0,02	81,9
земноводный (ВФ)	33,3±1,4	17,9±0,9	53,7	6,10±0,07	34,0
земноводный (НФ)	15,5±0,7	9,60±0,04	61,9	2,30±0,01	24,0

Наибольшее содержание суммы ДВ в пересчете на танин было отмечено у горцев земноводного (водная форма) (33,3%), узловатого (30,7%), войлочного, щавелелистного и почечуйного (28,9%, 28,5%, 28,1% соответственно).

Однако, данный метод, не являясь селективным, дает завышенные значения за счет определения всей суммы окисляемых веществ. Поэтому для определения ДВ были использованы еще другие методы – осаждение желатином и спектрофотометрия (СФМ). Наибольшее количество ДВ, осаждаемых желатином, содержалось в траве горца почечуйного (18,3%), далее следует трава наземной формы горца земноводного (17,9%) и трава горца узловатого (17,0%). Следует отметить, что для горцев почечуйного, шероховатого, Бриттингера и земноводного (водная форма) доля ДВ, осаждаемых желатином, по отношению к сумме всех окисляемых компонентов, определенных в пересчете на танин, составила более 60%.

Более точное представление о содержании ДВ, в пересчете на танин, в растениях дает СФМ [66, 137]. Наибольшие значения, установленные данным методом, получены для травы горцев щавелелистного, шероховатого и войлочного (7,7%, 7,6%, 7,0% соответственно). Вместе с тем, самый высокий процент содержания суммы дубильных веществ в пересчете на танин, определенных СФМ, от их суммы, установленной после осаждения желатином, был отмечен у травы горцев малого, перечного и Бриттингера (80,8%, 73,6% и 81,9% соответственно). Данный факт объясняется, по-видимому, разной природой ДВ, находящихся в растении. Можно предположить, что в сырье горцев почечуйного, узловатого, обеих форм горца земноводного преобладает конденсированная группа ДВ.

На примере травы горца почечуйного была рассмотрена возможность использования метода ВЭЖХ для качественной идентификации данной группы БАВ. Для анализа использовали водное извлечение из травы горца почечуйного, полученное экстрагированием водой очищенной навески растительного сырья на водяной бане в соотношении 1:10. Разделение и идентификацию соединений проводили на хроматографическом комплексе Agilent, с УФ (при длине волны

256 нм) и МС детектором. МС-детектирование веществ осуществляли методом ионизации электроспреей.

На рисунках 87 – 89 приведены полученные хроматограммы стандартных образцов танина, галловой и хлорогеновой кислот. Красным цветом на хроматограммах выделены пики, идентифицированные с помощью МС – детектора.

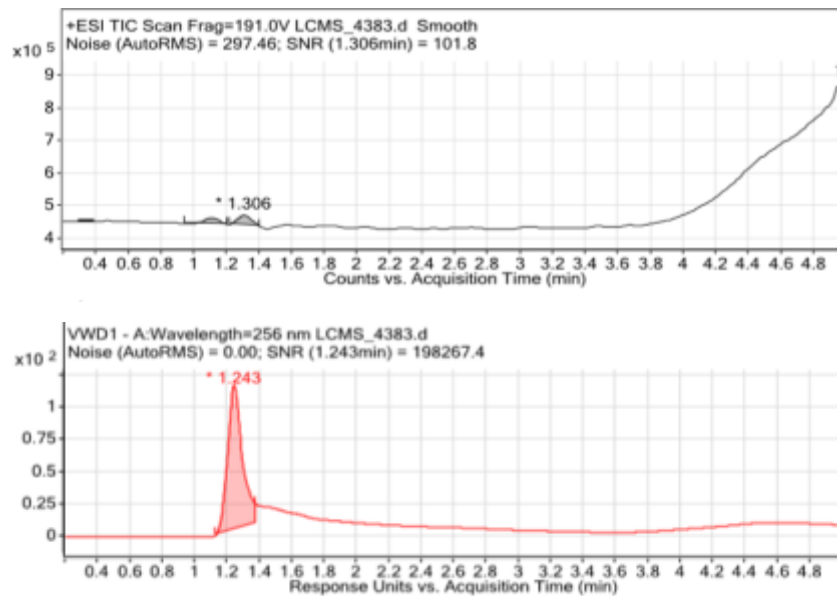


Рисунок 87 - Хроматограмма 0,1% водного раствора СО танина

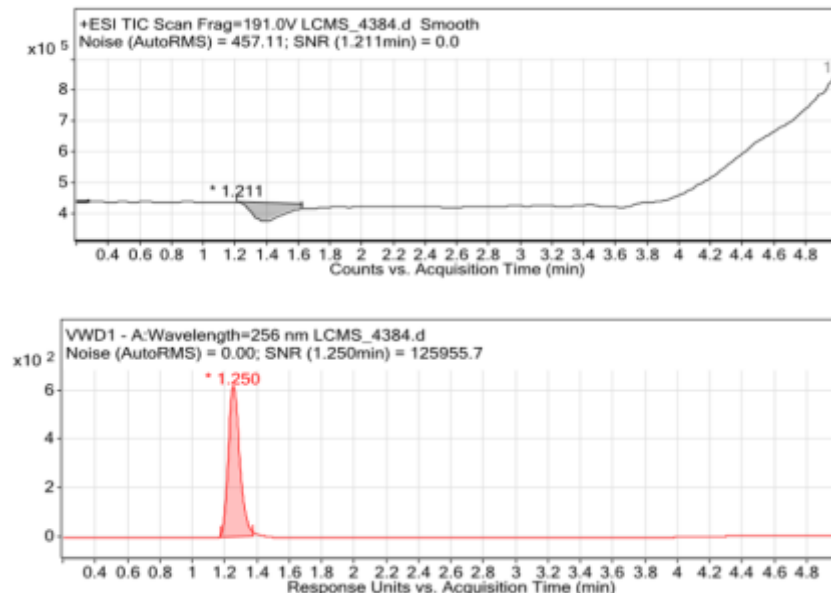


Рисунок 88 - Хроматограмма 0,1% водного раствора СО галловой кислоты

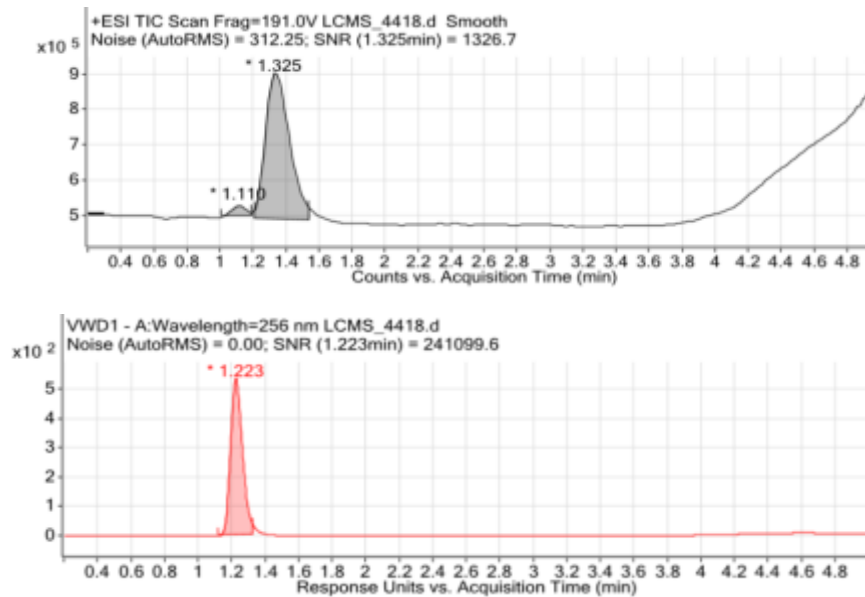


Рисунок 89 - Хроматограмма 0,1% водного раствора СО хлорогеновой
КИСЛОТЫ

На всех хроматограммах стандартных веществ присутствует один пик со сходным временем удерживания 1,22-1,25 мин. Несмотря на то, что эта характеристика индивидуальна для каждого соединения, затрудняется идентификация при их совместном присутствии, что указывает на необходимость использования МС – детектора.

В работе [131] при изучении дубильных веществ методами ВЭЖХ было показано наличие двух разделенных и симметричных пиков на хроматограмме. Этот факт авторы объясняли полимерной структурой танина, представленной мономерными субъединицами октат - и нонагаллоилглюкозы или гекса- и гептагаллоилглюкозы. Скорее всего, это обусловлено тем, что в растительном организме под влиянием фермента фенолоксидазы процесс протекает в сторону укрупнения молекул, что также происходит при образовании семихинонных радикалов из мономерных фрагментов в окислительно-восстановительных процессах с их последующей спонтанной полимеризацией с образованием танинов, и является практически необратимым [131]. Все вышесказанное объясняет высокую химическую стабильность танина и определяет его

достаточно устойчивое процентное содержание в исходном растительном сырье [131].

На рисунке 90 приведена хроматограмма водного извлечения из травы горца почечуйного. При расшифровке масс-спектров пиков (Приложение 6, таблица 1) руководствовались литературными данными и картинками масс-спектров стандартных веществ, имеющих в нашем распоряжении.

Необходимо отметить наличие на хроматограммах пиков, также имеющих сходное время удерживание, что объясняется одинаковой природой изучаемых соединений, их способностью к полимеризации и гидролизу, что приводит к затруднению использования этого параметра для их идентификации.

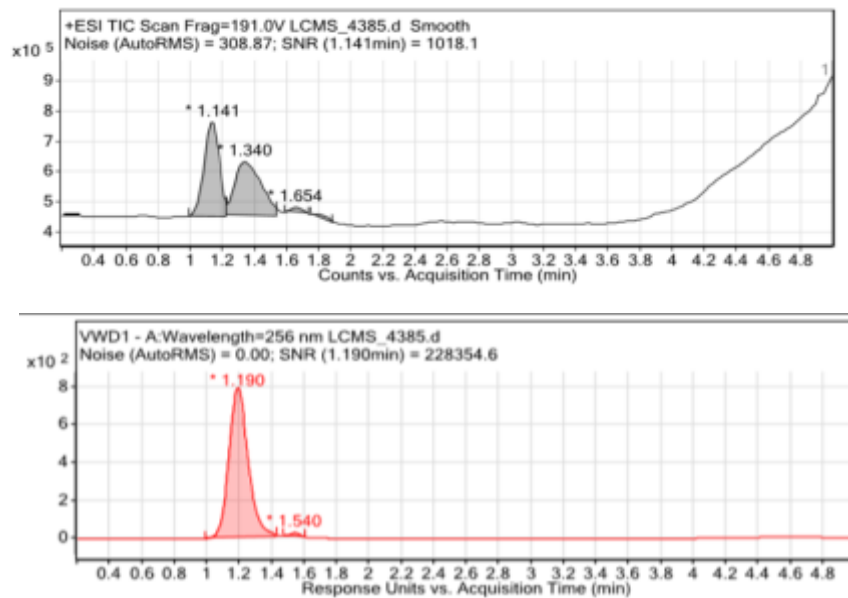


Рисунок 90 - Хроматограмма водного извлечения травы горца почечуйного

Однако, при использовании МС-детектора, по массам молекулярных ионов, с высокой степенью достоверности в ЛРС были качественно идентифицированы разнообразные соединения фенольной природы: танин, галловая кислота, хлорогеновая кислота, хинная кислота, п-кумаровая кислота, эллаговая кислота, эпигаллокатехин, эпикатехин, также присутствовали ионы других органических соединений.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Впервые проведена сравнительная оценка травы 10 видов горцев, произрастающих в Воронежской обл., по содержанию органических кислот, гидроксикоричных кислот и дубильных веществ.

2. Установлено, что содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную в изученных представителях рода горец находится примерно на одном уровне. Больше всего органических кислот содержат трава горца узловатого (7,18%), меньше всего - трава горца войлочного (4,03 %). Аскорбиновой кислотой наиболее богаты горцы почечуйный и перечный (0,17% и 0,15% соответственно).

3. Методом капиллярного электрофореза показано, что в сумме органических кислот травы горца перечного преобладает щавелевая кислота, а в траве наземной формы горца земноводного много муравьиной, винной и янтарной кислот. Щавелевая кислота в изучаемых объектах содержится в основном в свободном виде и лишь незначительная ее часть - в виде солей кальция и др. Зависимости между содержанием щавелевой кислоты, частотой встречаемости и размером друз оксалата кальция не выявлено.

4. Изучен состав и определено содержание гидроксикоричных кислот в траве горца почечуйного. Установлено наличие хлорогеновой, криптохлорогеновой и 5 неидентифицированных производных дигидроксикоричной кислоты.

5. Проведена оценка изучаемых видов горцев по содержанию суммы дубильных веществ с использованием различных методов. Содержание дубильных веществ в пересчете на танин, определенное титриметрически (перманганатометрически), колебалось от 33,3% (трава водной формы горцев земноводного) до 9,5% (трава горца малого). Наибольшее количество дубильных веществ, осаждаемых желатином, содержалось в траве горца почечуйного (18,3%), наименьшее - в траве горца малого (4,7%). При определении дубильных веществ методом СФМ содержание колебалось от 7,7% (трава горца

щавелелистного) до 2,3% (травя наземной формы горца земноводного). Анализ полученных результатов позволяет предположить, что в траве горцев почечуйного, узловатого, обеих форм горца земноводного преобладает конденсированная группа дубильных веществ.

6. На примере травы горца почечуйного показана возможность использования метода ВЭЖХ с МС-детектором для качественной идентификации фенольных соединений. Использованный метод позволил установить наличие в траве горца почечуйного танина, галловой кислоты, хлорогеновой кислоты, хинной кислоты, п-кумаровой кислоты, эллаговой кислоты, эпигаллокатехина, эпикатехина.

ГЛАВА 7. ИЗУЧЕНИЕ ФЛАВОНОИДНОГО ПРОФИЛЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PERSICARIA* MILL.

Флавоноиды являются одной из основных групп метаболома растений рода горец, обуславливают фармакологическое действие ЛРС, широко используются при стандартизации сырья. Информация о профиле флавоноидных соединений может быть использована для определения подлинности видов, особенно при использовании измельченного сырья, а также являться обоснованием для расширения видового разнообразия растений, разрешенных к медицинскому использованию, за счет внедрения близкородственных (примесных).

7.1. Исследование состава флавоноидов в представителях рода *Persicaria* Mill. методом ТСХ

Одним из обязательных требований современной НД на ЛРС является определение основных групп БАВ с помощью ТСХ помимо проведения качественных реакций. При этом, на картине ТСХ, кроме зоны адсорбции главного компонента, согласно НД, описываются и другие зоны, присутствующие на треках пластины. Вся совокупность пятен, обнаруживающихся при ТСХ-анализе, составляет уникальный набор компонентов, так называемые «отпечатки пальцев» [173, 179].

Условия изучения качественного состава флавоноидов методом ТСХ приведены в гл.2.

Общий вид хроматографической картины флавоноидов горцев представлен на рисунке 91. Исследуемые объекты различались не только по количеству зон, но и по цвету свечения в УФ-свете. На треках было обнаружено от 4 до 9 соединений флавоноидной природы, среди которых с помощью стандартных образцов идентифицированы рутин ($R_f - 0,55$), кверцетин ($R_f - 0,81$) и кемпферол ($R_f - 0,88$), также на пластинках присутствовали неидентифицированные зоны веществ (таблица 21).

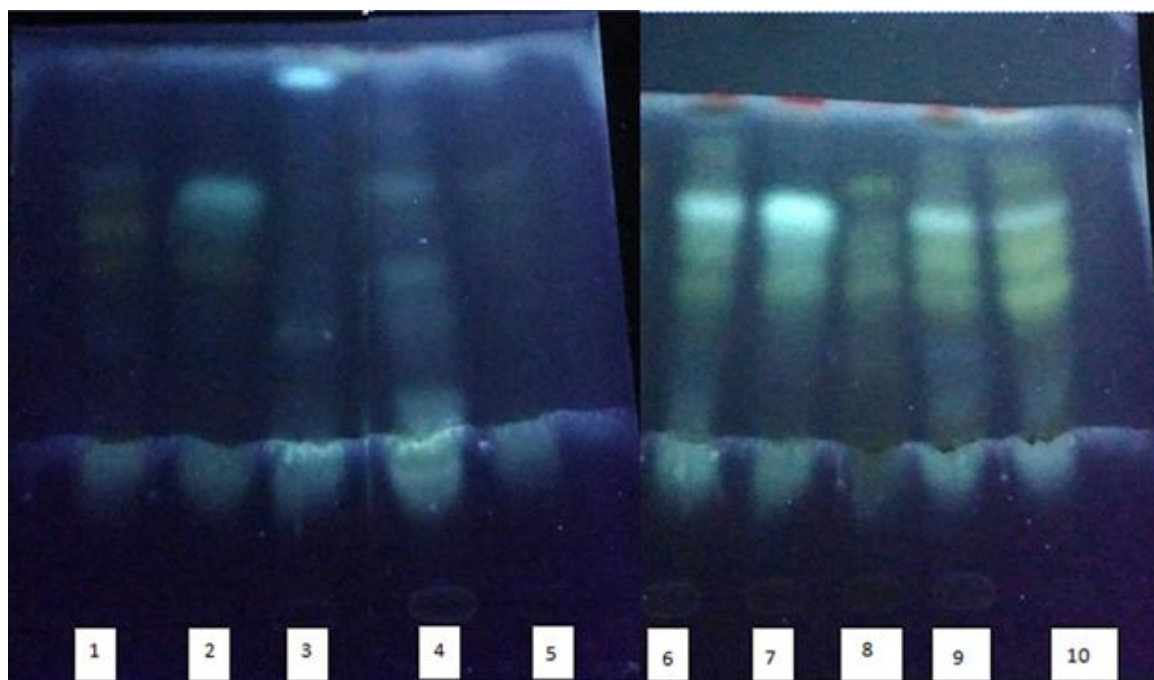


Рисунок 91 - Хроматограммы спиртовых извлечений: 1 – горец щавелелистный; 2 – горец земноводный (НФ); 3 – горец малый; 4 – горец почечуйный; 5 - горец шероховатый; 6 - горец Бриттингера; 7 – горец перечный; 8 – горец земноводный (водная форма); 9 – горец войлочный; 10 – горец узловатый

Таблица 21 - Величины Rf зон флавоноидов видов рода горец

№ пятна	Виды горцев									
	щавелелистный	земноводный (НФ.)	малый	почечуйный	шероховатый	Бриттингера	перечный	земноводный (ВФ)	войлочный	узловатый
1	0,57	0,57	0,30	0,31	0,59	0,43	0,58	0,53	0,43	0,50
2	0,61	0,62	0,42	0,44	0,66	0,61	0,62	0,59	0,55	0,66
3	0,71	0,70	0,57	0,53	0,73	0,73	0,76	0,69	0,64	0,76
4	0,75		0,95	0,75	0,95	0,79	0,97	0,81	0,70	0,81
5	0,96		0,98	0,83		0,91			0,74	0,87
6				0,95		0,96			0,79	0,94
7				0,98		0,98			0,87	0,96
8									0,92	
9									0,96	

Суммарная картина зон, проявившихся на хроматограмме, состоит из уникального набора флавоноидов, характерных для каждого конкретного вида.

Флавоноидный состав всех изучаемых видов горцев различен и данная группа веществ (в частности, количество, окраска зон на треке) может являться химическим маркером представителей рода.

7.2. Определение содержания флавоноидов в изучаемых видах рода *Persicaria* Mill. методом спектрофотометрии

Для количественного определения флавоноидов в растительных объектах широко используется спектрофотометрический метод (СФМ), основанный на способности флавоноидов образовывать окрашенные комплексы при взаимодействии с алюминия хлоридом, которые имеют выраженный максимум в длинноволновой области спектра (406 – 435 нм) [159]. Метод прост в исполнении, не требует использования дорогостоящего оборудования, реактивов, обладает высокой селективностью и чувствительностью.

7.2.1. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве горца почечуйного

В действующую на момент выполнения работы ГФ СССР XI изд. входили ФС на траву горца почечуйного и траву горца перечного [55]. Содержание флавоноидов нормировалось только для травы горца перечного и стандартизация сырья проводилась по сумме флавоноидов в пересчете на кверцетин. Для горца почечуйного данный показатель отсутствовал [55].

Были проведены исследования по разработке спектрофотометрической (СФ) методики определения суммы флавоноидов в траве горца почечуйного, которые включали: определение соотношения количества исследуемого растительного сырья и экстрагента, выявление степени измельчения сырья и времени, необходимого для более полного экстрагирования флавоноидов. Также были установлены время, необходимое для созревания окраски комплексных соединений, образованных в результате взаимодействия флавоноидов с хлоридом

алюминия (AlCl_3) и их временная стабильность. Так как на дифференциальных спектрах исследуемого образца визуализировался отчетливый максимум при 412 ± 2 нм, характерный для продукта взаимодействия рутина с AlCl_3 , он был выбран в качестве соединения, на которое производился пересчет содержания суммы флавоноидов (Рисунок 92). Раствором сравнения являлся 0,05% спиртовой раствор СО рутина (Sigma Aldrich) [82]. Учитывая способность флавоноидов растворяться в спирте этиловом 70%, он был использован в качестве экстрагента.

Для установления оптимального соотношения массы сырья и объема экстрагента использовали следующие соотношения - 1:20, 1:30, 1:50, 1:70, 1:90, 1:100. Наибольший выход флавоноидов наблюдается при соотношении сырье – экстрагент 1:50 (таблица 22).

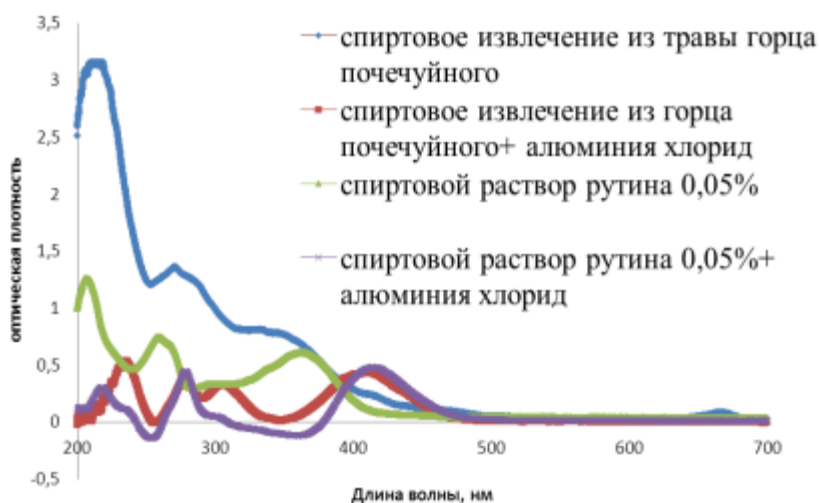


Рисунок 92 - Картина спектров поглощения спиртовых извлечений из горца почечуйного травы до и после взаимодействия с алюминия хлоридом

При выявлении оптимальной степени измельченности сырья [23], установлено, что максимальный выход флавоноидов наблюдался при использовании размера частиц проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм (таблица 22).

Во время определения оптимального времени экстрагирования установлено, что наибольший выход флавоноидов наблюдается при экстрагировании растительного сырья в течение 60 минут (рисунок 93).

Таблица 22 - Выход флавоноидов в зависимости от соотношения сырье : экстрагент и степени измельченности сырья (n=6, p=0,95) (на примере травы горца почечуйного)

Сырье:экстрагент	1:20	1:30	1:50	1:70	1:90	1:100
Выход флавоноидов, %	0,67	0,84	1,85	1,15	0,86	0,73
Размер частиц, мм	3	2	1	0,5	0,2	
Выход флавоноидов, %	0,82	1,42	1,87	1,28	0,97	



Рисунок 93 - Выход флавоноидов из травы горца почечуйного в зависимости от времени экстрагирования

Определение времени созревания окраски комплекса флавоноидов с $AlCl_3$ проводили, измеряя оптическую плотность каждые 15 минут с момента добавления спиртового раствора $AlCl_3$ 2% в течение часа (рисунок 94). Оптическая плотность достигала максимума через 40 мин и была стабильна последующие 10 мин. Последующее снижение происходило в результате разрушения комплекса флавоноидов и $AlCl_3$.

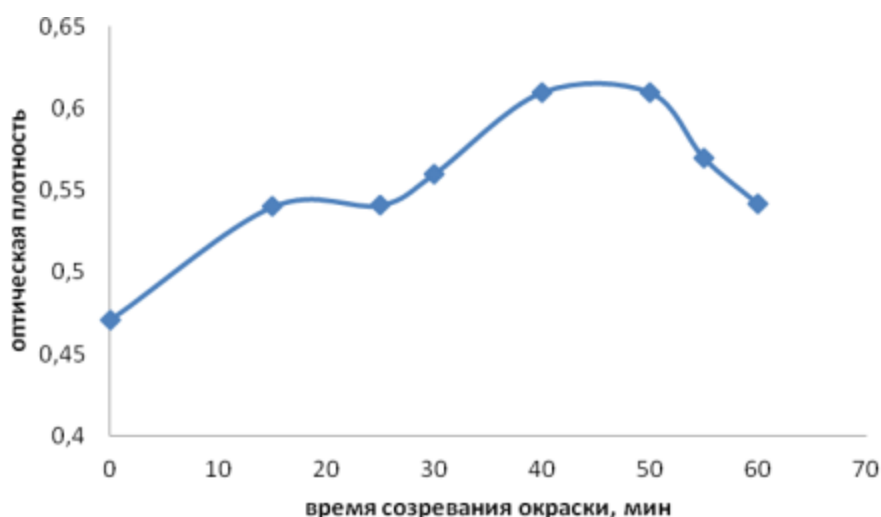


Рисунок 94 - Величина оптической плотности в зависимости от времени созревания окраски комплекса флавоноидов с раствором хлорида алюминия

Методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного:

Аналитическую навеску измельченной до порошкообразного состояния растительного сырья (размер частиц 1 мм) помещали в колбу конической формы (объем 100 мл), заливали в соотношении 1:50 спиртом этиловым 70%. Колбу взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г до и после экстракции, доводя при необходимости до первоначальной массы. Экстракцию осуществляли в течение 1 часа на водяной бане с обратным холодильником. Для получения расьвора А, извлечение охлаждали и, отбрасывая первые 20 мл, фильтровали через бумажный фильтр «Белая лента».

Рабочий раствор готовили в мерной колбе объемом 25 мл, куда помещали 1,0 мл раствора А, и 1,0 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом, объем раствора доводили до метки 95% спиртом этиловым.

Раствор сравнения: 1,0 мл раствора А, доведенного 95% спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25,0 мл.

Оптическую плотность измеряли через 40 минут после добавления алюминия хлорида в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряли оптическую плотность РСО рутина. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1,0 мл 0,05% раствора рутина, 1,0 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом и доводили объем раствора 95% спиртом до метки. Раствор сравнения: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1,0 мл 0,05% РСО рутина и доводили объем раствора 95% спиртом до метки.

Приготовление РСО рутина и алюминия хлорида проводили в соответствии с НД [53, 55].

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X) в процентах в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора после взаимодействия с $AlCl_3$; A_0 – оптическая плотность РСО рутина после взаимодействия с $AlCl_3$; a – масса сырья, г; a_0 – масса СО рутина, г; W – потеря в массе при высушивании, %

С использованием разработанной методики было определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин при анализе 6 образцов травы горца почечуйного, которое колебалось от 1,65% до 2,60%

В результате расчета метрологических характеристик разработанной методики (таблица 23) установлено, что относительная ошибка с доверительной вероятностью 95% составляет около 5%, т.е. находится в пределах случайной ошибки.

Таблица 23 -Метрологические характеристики СФ-методики определения суммы флавоноидов в траве горца почечуйного (n=6; p =0,95)

Объект исследований	Параметры							
	f	\bar{x}	S^2	S	S_{γ}	t(p,f)	$\pm\Delta X$	$\varepsilon_{ср}$, %
Трава горца	5	1,87	0,00125	0,025	0,005	2,57	0,021	4,12

Валидационные исследования проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [53]. Для чего были определены:

специфичность, подлинность, прецизионность (сходимость, воспроизводимость), аналитическая область методики, линейность [6, 19, 53, 54].

При установлении специфичности методики методом добавок в извлечение вводили РСО рутина, на дифференциальном спектре отмечались при этом максимумы поглощения, характерные для рутина при 224 ± 2 ; 270 ± 2 и 410 ± 2 нм рисунок 95.

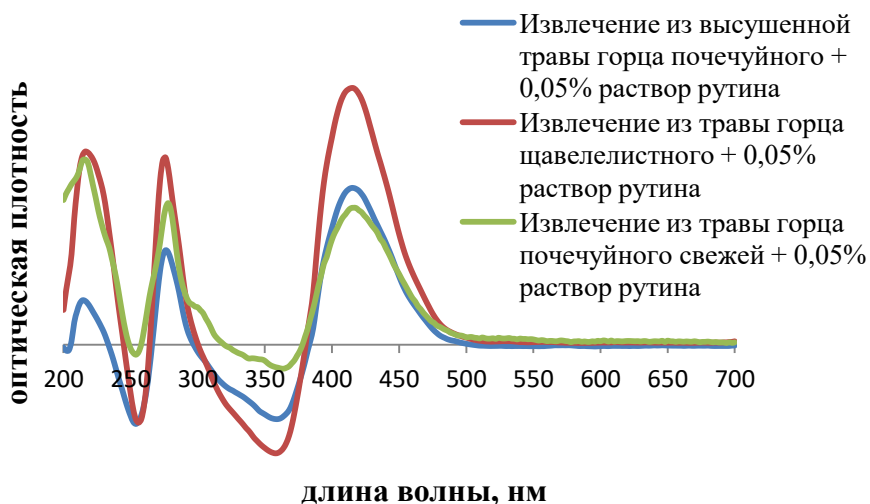


Рисунок 95 - Специфичность методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве изучаемых видов горцев

Оценку правильности разработанной методики проводили в трех уровнях концентраций рутина по 9 определений в пределах аналитической области методики (таблица 24).

Процент восстановления методики находился в пределах 1-2% во всех определяемых уровнях концентраций, что соответствовало требованиям к характеристике «правильность». Сходимость выявляли на 6 параллельных определениях в одних условиях на одном и том же оборудовании (таблица 25).

Для определения «воспроизводимости» методики исследования проводили на двух приборах – СФ 2000-01 (Россия) и Hitachi Spectrophotometer (Япония), в 6 параллельных определениях (таблица 26).

Таблица 24 - Определение правильности методики количественного определения суммы флавоноидов в траве горца почечуйного

Содержание флавоноидов в сырье, мг	Добавлено рутина, мг	Содержание рутина, мг		Открываемость, %
		Расчетное	Полученное	
18,60	1,0	19,60	19,32	98,57
18,60	1,0	19,60	19,64	100,20
18,60	1,0	19,60	19,56	99,79
18,60	2,0	20,60	20,67	100,34
18,60	2,0	20,60	20,55	99,76
18,60	2,0	20,60	20,62	100,10
18,60	3,0	21,60	21,63	100,14
18,60	3,0	21,60	21,58	99,91
18,60	3,0	21,60	21,48	99,44
Средний % восстановления методики				99,8

Таблица 25 - Определение сходимости метода количественного определения флавоноидов в траве горца почечуйного

№	Содержание суммы флавоноидов, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	1,90	-1,44
2	1,85	+1,23
3	1,90	-1,44
4	1,90	-1,44
5	1,85	+1,23
6	1,84	+1,76

Таблица 26 - Определение воспроизводимости методики количественного определения флавоноидов в траве горца почечуйного

№	СФ 2000-01		Hitachi U-1900	
	Содержание суммы флавоноидов в пробе, %	Относительное стандартное отклонение, %	Содержание суммы флавоноидов в пробе, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	1,90	-1,44	1,92	-1,33
2	1,85	+1,23	1,91	-1,00
3	1,90	-1,44	1,89	+1,00
4	1,90	-1,44	1,92	-1,33
5	1,85	+1,23	1,91	-1,00
6	1,84	+1,76	1,89	+1,00

Полученные данные указывают на прецизионность анализируемой методики.

При установлении линейной зависимости оптическую плотность измеряли в 5 вариантах навесок травы горца почечуйного в пределах разброса значений массы навески $\pm 25\%$, в результате чего была получена градуировочная зависимость (рисунок 96). Согласно полученным данным - методика линейна.

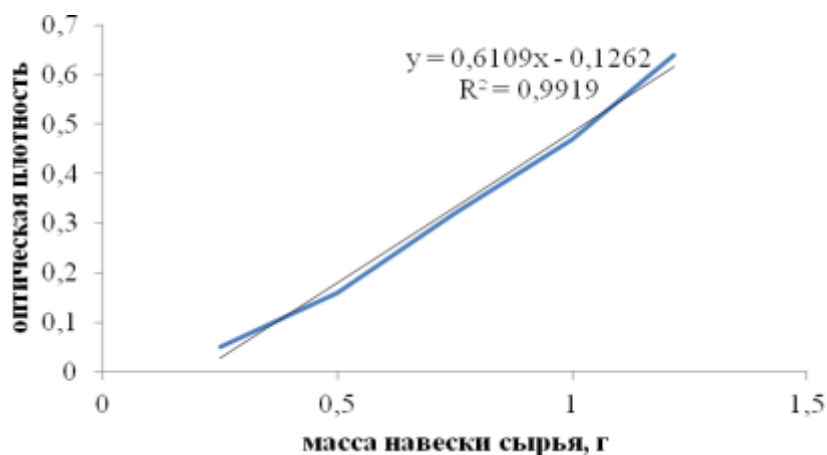


Рисунок 96 - Градуировочная зависимость величины оптической плотности от величины навески

Таким образом, в результате исследования установлена валидность разработанной СФ - методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного (таблица 27).

Таблица 27 - Валидационные характеристики методики количественного определения в траве горца почечуйного суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Характеристика	Значение
Правильность	% восстановления методики 99,8
Сходимость	Коэффициент вариации -1,44% до +1,76%
Воспроизводимость	СФ 2000-01 коэффициент вариации от - 1,44% до 1,76% Hitachi h-1900 коэффициент вариации от - 1,33% до 1,00%
Минимальное значение, %	1,84
Максимальное значение, %	1,90
Среднее значение, %	1,87
Значение доверительного интервала (P=95%), %	$1,87 \pm 0,03$ 1,84 – 1,90
Уравнение линейности	$y = 0,6109x - 0,1262$
R^2	0,9919

Разработанная и валидированная методика, представленная в данном разделе, была использована при составлении ФС.2.5.0068.18 ГФ РФ XIV изд. «Горца почечуйного трава» [53].

7.2.2. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве горца щавелелистного

Наиболее близким к горцу почечуйному и горцу перечному, представителем рода *Persicaria* является горец щавелелистный, произрастающий с официальными в одних растительных сообществах [30, 99]. Он образует крупные заросли и считается на настоящий момент примесным видов, не подлежащим заготовке. Учитывая особенности процедуры регистрации лекарственных растительных препаратов и включения растений в ранг лекарственных, первым этапом является разработка НД, обязательно включающей количественное определение основной группы БАВ в растительном сырье. При подборе оптимальных условий количественного определения флавоноидов в сырье исследовали влияние ряда факторов: концентрация спирта этилового; степень измельченности сырья; продолжительность и кратность экстракции; соотношение количества извлечения и раствора $AlCl_3$; время созревания окраски комплекса флавоноидов и спиртового раствора $AlCl_3$ и стабильность во времени.

В качестве экстрагента был выбран спирт этиловый в концентрации 70%, так как он является универсальным экстрагентом для флавоноидов (рисунок 97) в результате эксперимента выявлено оптимальное соотношение сырья и экстрагента 1:50 (рисунок 98); степень измельченности сырья 1 мм (рисунок 99); время экстракции - 60 минут (рисунок 100).

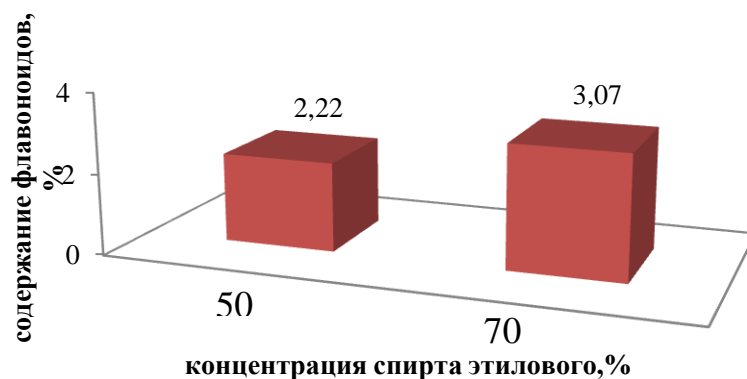


Рисунок 97 - Зависимость выхода флавоноидов из травы горца щавелелистного от используемой концентрации спирта этилового

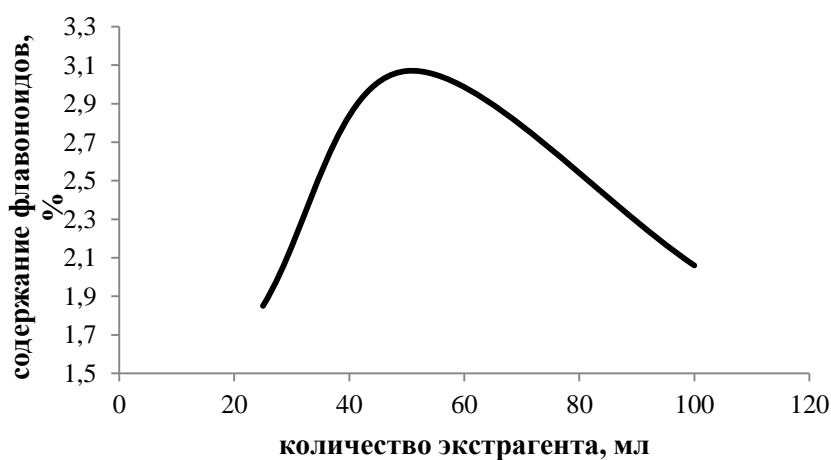


Рисунок 98 - Выход флавоноидов из травы горца щавелелистного в зависимости от соотношения «сырье – экстрагент»

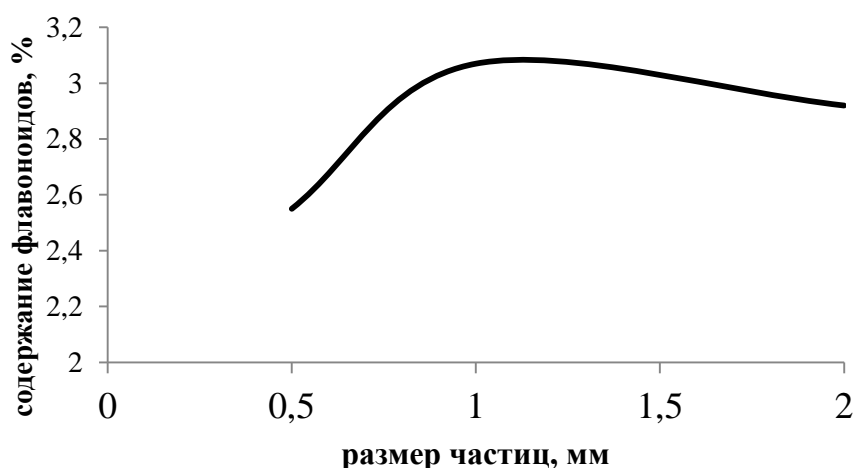


Рисунок 99 - Выход флавоноидов из травы горца щавелелистного в зависимости от степени измельчения

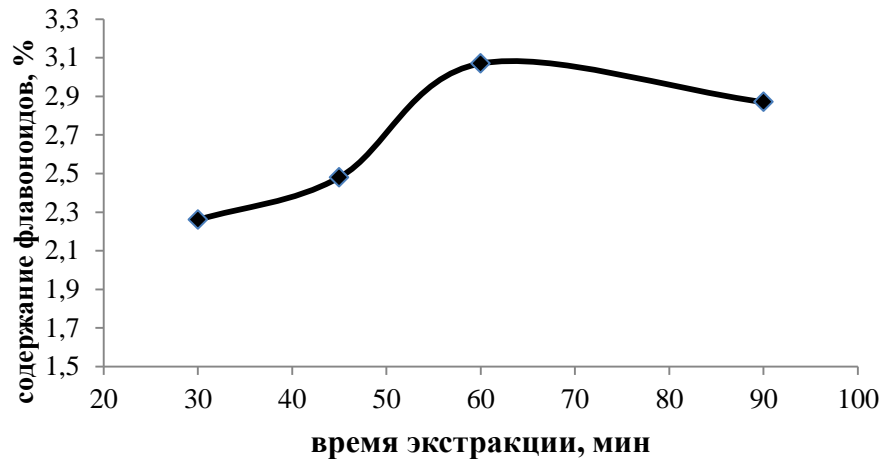


Рисунок 100 - Зависимость выхода флавоноидов из травы горца щавелелистного от времени экстракции

В дальнейших исследованиях подобрано оптимальное соотношение количества алюминия хлорида и исследуемого извлечения, которое, на основании экспериментальных данных, составило 1:2 (1 мл извлечения и 2 мл спиртового раствора $AlCl_3$) (рисунок 101).

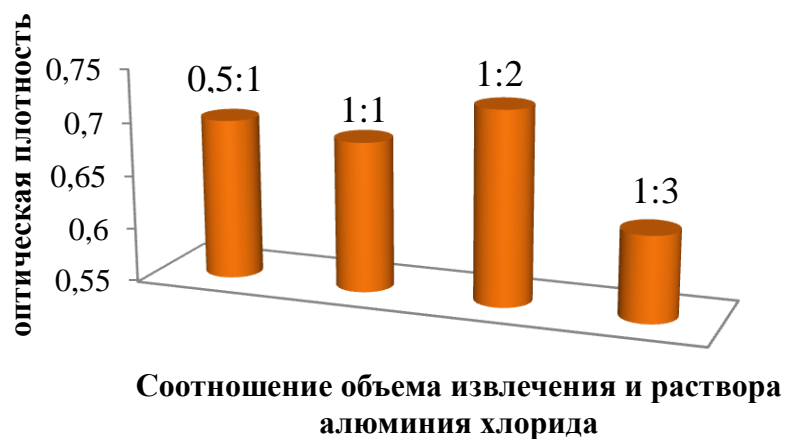


Рисунок 101 - Зависимость величины оптической плотности от соотношения объемов извлечения и спиртового раствора алюминия хлорида

Установлено оптимальное время созревание комплекса флавоноидов травы горца щавелелистного с алюминия хлоридом, равное 35 минутам, стабильность комплекса сохраняется в течение следующих 10 минут (рисунок 102).

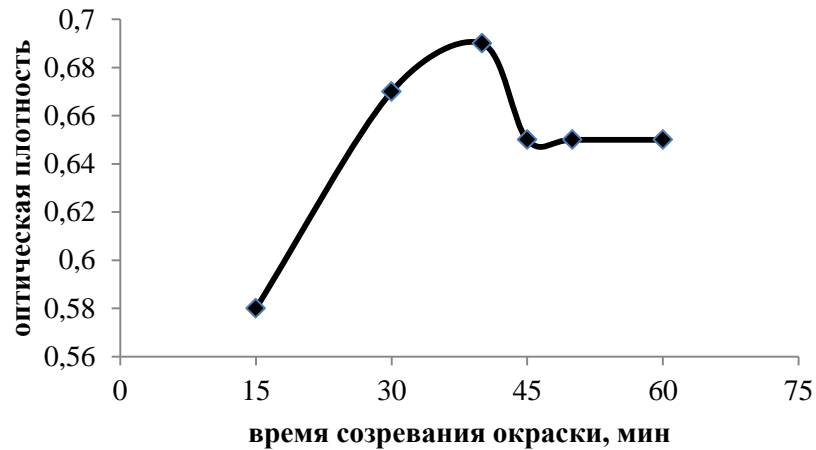


Рисунок 102 - Стабильность во времени продуктов реакции флавоноидов травы горца щавелелистного с алюминия хлоридом

Метрологические характеристики разработанной методики представлены в таблице 28. В результате расчета метрологических характеристик установлено, что относительная ошибка с доверительной вероятностью 95% составила около 5%, т.е. находится в пределах случайной ошибки предложенной методики. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в разных образцах травы горца щавелелистного колебалось от 2,3% до 3,5%.

Таблица 28 - Метрологические характеристики методики определения суммы флавоноидов в горца щавелелистного траве

Горца щавелелистного трава	Параметры							
	f	x	S ²	S	S _χ	t(p,f)	±ΔX	ε _{ср} , %
	4	2,84	0,013	0,114	0,051	2,78	0,142	5,0

Методика количественного определения флавоноидов в траве горца щавелелистного

Приготовление РСО рутина и 2% спиртового раствора алюминия хлорида осуществляли в соответствии с рекомендациями ГФ XI - XIV [53, 55].

Аналитическую навеску измельченной до порошкообразного состояния растительного сырья (размер частиц 1 мм) помещали в колбу конической формы

(объем 100 мл), заливали в соотношении 1:30 спиртом этиловым 70%. Экстракцию проводили на кипящей водяной бане в течение 30 мин, присоединив к обратному холодильнику, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Извлечение фильтровали не охлаждая через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 50 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Экстракцию повторяли дважды, каждый раз добавляя по 10 мл экстрагента. После, для получения раствора А, извлечение в мерной колбе охлаждали, объем доводили экстрагентом до метки и затем перемешивали.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, 0,5 мл раствора уксусной кислоты разведенной, доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивали (испытуемый раствор).

Через 35 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 410 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А, 0,5 мл раствора уксусной кислоты разведенной, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% РСО рутина, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, 0,5 мл раствора уксусной кислоты разведенной, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл РСО рутина, 0,5 мл раствора уксусной кислоты разведенной и доведят спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где: А – оптическая плотность испытуемого раствора после взаимодействия флавоноидов с раствором алюминия хлорида;

A_o – оптическая плотность РСО рутина после взаимодействия флавоноидов с раствором алюминия хлорида; a – навеска сырья, г; a_o – навеска СО рутина, г; W – влажность сырья, %.

На следующем этапе были проведены валидационные исследования разработанной методики. При установлении специфичности методики методом добавок, в извлечение вводили РСО рутина, на дифференциальном спектре отмечались при этом максимумы поглощения, характерные для рутина при 224 ± 2 ; 270 ± 2 и 410 ± 2 нм.

Оценку правильности разработанной методики проводили в трех уровнях концентраций рутина по 9 определений в пределах аналитической области методики (таблица 29).

Таблица 29 - Определение правильности методики количественного определения флавоноидов в траве горца щавелелистного

Содержание флавоноидов в сырье, мг	Добавлено рутина, мг	Содержание, мг		Открываемость, %
		Расчетное	Полученное	
28,40	1,0	29,40	29,42	100,06
28,40	1,0	29,40	29,25	99,40
28,40	1,0	29,40	29,68	100,95
28,40	2,0	30,40	30,03	98,78
28,40	2,0	30,40	30,57	100,56
28,40	2,0	30,40	29,51	97,07
28,40	3,0	31,40	31,12	99,10
28,40	3,0	31,40	30,95	98,57
28,40	3,0	31,40	31,84	101,40
Средний % восстановления методики				99,60

Процент восстановления методики находился в пределах 1-2% во всех определяемых уровнях концентраций и соответствовал требованиям к характеристике «правильность».

Сходимость определяли в одних условиях на одном и том же оборудовании в результате проведения 6 параллельных определений. Полученные данные для разработанной методики представлены в таблице 30.

Таблица 30 - Результаты определения сходимости метода количественного определения флавоноидов в траве горца щавелелистного

№	Содержание флавоноидов, %	суммы	Относительное отклонение, %	стандартное
1	2,90		+2,10	
2	2,78		-2,11	
3	2,80		-1,40	
4	2,82		-0,70	
5	2,90		+2,11	
6	2,84		0,00	

«Воспроизводимость» для разработанной СФ - методики исследования выявляли на двух приборах – СФ 2000-01 (Россия) и Hitachi Spectrophometer (Япония), проводя 6 параллельных определений. Результаты представлены в таблице 31.

Таблица 31 - Определение воспроизводимости методики количественного определения флавоноидов в траве горца щавелелистного

№	СФ 2000-01		Hitachi U-1900	
	Содержание суммы флавоноидов в пробе, %	Относительное стандартное отклонение, %	Содержание суммы флавоноидов в пробе, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	2,90	+2,1	2,64	- 2,22
2	2,78	-2,11	2,72	+0,74
3	2,80	-1,4	2,75	+1,85
4	2,82	-0,7	2,62	-2,96
5	2,90	+2,11	2,69	-0,37
6	2,84	0,0	2,77	+2,59

Величина относительного стандартного отклонения не превышала допустимые значения (3%), что указывает на прецизионность анализируемой методики.

Линейность методики устанавливали путем измерения оптической плотности 6 вариантов навесок травы горца щавелелистного в пределах разброса значений массы навески $\pm 50\%$ – 200%, были получены градуировочные зависимости (рисунок 103).

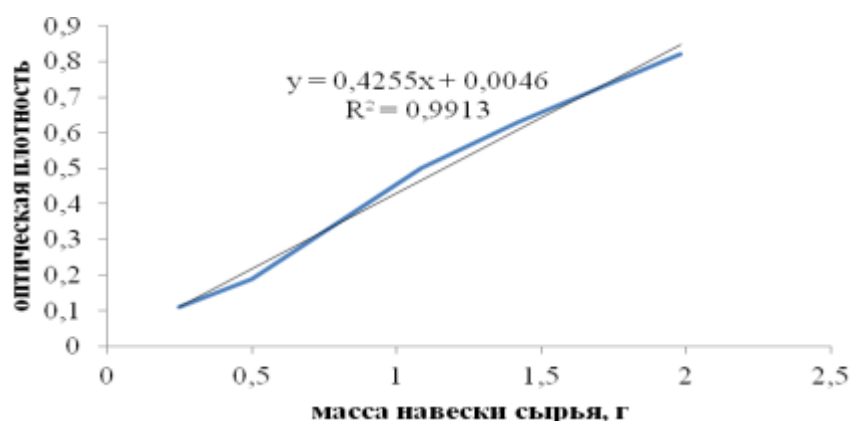


Рисунок 103 - Градуировочная зависимость величины оптической плотности от величины навески травы горца щавелелистного

Таблица 32 - Валидационные характеристики методики количественного определения в траве горца щавелелистного суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Характеристика	Значение
Правильность	% восстановления методики 99,6
Сходимость	Коэффициент вариации -2,11% до +2,11%
Воспроизводимость	СФ 2000-01: коэффициент вариации от – -2,11% до +2,11% Hitachi h-1900: коэффициент вариации от – -2,96% до + 2,59%
Минимальное значение, %	2,78
Максимальное значение, %	2,90
Среднее значение, %	2,84
Значение доверительного интервала (P=95%), %	2,84±0,06 2,78 – 2,90
Уравнение линейности	$y=0,4255x+0,0046$
R^2	0,9913

Таким образом, полученные результаты (таблица 32) показали, что разработанная СФ - методика количественного определения в траве горца щавелелистного суммы флавоноидов в пересчете на рутин валидна.

7.3. Определение содержания суммы флавоноидов в изучаемых видах рода *Persicaria* Mill.

Количественное определение суммы флавоноидов в изучаемых видах горцев проводили с использованием разработанных выше СФ - методик, а также методики, приведенной в НД для горца перечного травы [53, 55, 201]. В качестве растворов сравнения были использованы спиртовые 0,1% растворы рутина и кверцетина (Sigma).

При анализе общего вида спектров поглощения, было обнаружено, что в картине спектра отсутствует четко выраженный максимум, верхушка «пика» имеет вид плоской площадки и варьирует от 408 до 412 и от 414 до 416 нм. Это связано с преобладанием в определяемой сумме флавоноидов разных компонентов, что обуславливает сдвиг «пика» в ту или иную сторону, и подтверждается результатами ВЭЖХ исследования объектов, описанных в п.6.2.5. В траве горца почечуйного и горца малого методом ВЭЖХ, кроме других производных кверцетина и кемферола, установлено наличие рутина из-за чего максимум поглощения на дифференциальном спектре находится в интервале 408–410 нм, трава горца войлочного включает гиперозид и преимущественно гликозиды кверцетина, максимумы поглощения на дифференциальном спектре сдвинуты в область 410-412 нм, остальные объекты содержат преимущественно гликозиды кверцетина и кемпферола, которые имеют на дифференциальном спектре поглощения максимумы в интервале 414-416 нм. Пересчет содержание суммы флавоноидов возможно проводить на рутин, кверцетин, гиперозид или кемпферол, однако, учитывая близость спектральных характеристик, а также распространенность и экономическую доступность рутина, считаем целесообразным проводить пересчет суммы флавоноидов, определяемой в изучаемых растениях методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин (таблица 33).

Таблица 33 - Положение максимума поглощения и величина оптической плотности при определении флавоноидов видов рода *Persicaria* Mill.

(n=5, p=0,95)

Виды горца	Оптическая плотность в максимуме поглощения		Оптическая плотность при 410 нм	Содержание суммы флавоноидов, %	
	λ нм	D		в пересчете на кверцетин	в пересчете на рутин
почечуйный	408	0,275	0,272	--	2,24±0,12
войлочный	410	0,168	0,168	--	2,50±0,15
шероховатый	414	0,337	0,331	1,83±0,05	2,16±0,10
Бриттингера	408	0,580	0,574	--	4,39±0,32
щавелелистный	412	1,479	1,443	3,31±0,27	4,36±0,24
узловатый	414	0,769	0,747	1,96±0,09	5,63±0,45
перечный	414	0,335	0,329	2,12±0,12	2,46±0,10
малый	408	0,272	0,266	--	1,35±0,08
земноводный (водная форма)	414	0,164	0,160	2,17±0,14	1,67±0,05
земноводный (наземная форма)	412	0,253	0,253	--	1,72±0,03
СО Рутин 0,1%	410	0,74	0,740	--	--
СО Кверцетин 0,1%	416	0,874	0,841	--	--

В таблице 33 приведены результаты количественного определения суммы флавоноидов в изучаемых видах в пересчете как на рутин, так и на кверцетин (в случае расположения максимумов в интервале 414-418 нм).

Наиболее богатыми флавоноидами являются виды ряда *Lapathiiformes*, горец узловатый (5,63%), горец Бриттингера (4,39%) и горец щавелелистный (4,36%). Горцы почечуйный, перечный, войлочный и шероховатый содержат близкое содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин – от 2,10% до 2,50%.

Таким образом, проведенные исследования показали таксономическую неоднородность рода горец, что отражается в химическом составе его представителей. Также установлено, что все виды горцев содержат большое количество флавоноидов, что показывает их дальнейшую перспективность и возможность заготовки наряду с официальными видами.

Количественное содержание веществ фенольной природы в растительном сырье зависит не только от видовых характеристик, но и от места произрастания

[104, 196]. На примере травы горца почечуйного была изучена вариабильность состава флавоноидов и их количественного содержания в образцах сырья, заготовленного в разных районах Воронежской области, Липецкой, Тамбовской, областях, Крыму, Ставропольском и Краснодарском краях (таблица 1 Приложение 7).

Хроматографические картины зон флавоноидов (рисунок 104) характеризовались неоднородностью в распределении пятен на треках хроматограмм, где визуализировалось от 7 до 13 зон веществ, относящихся к группе флавоноидов (таблица 2 Приложения 7). Наиболее разнообразный состав флавоноидов отмечен у растений, произрастающих в Ставропольском крае (г. Кисловодск) - 14 зон, в Липецкой области (п.г.т. Усмань) - 12 зон и Воронежской области (п.г.т. Панино) - 11 зон.

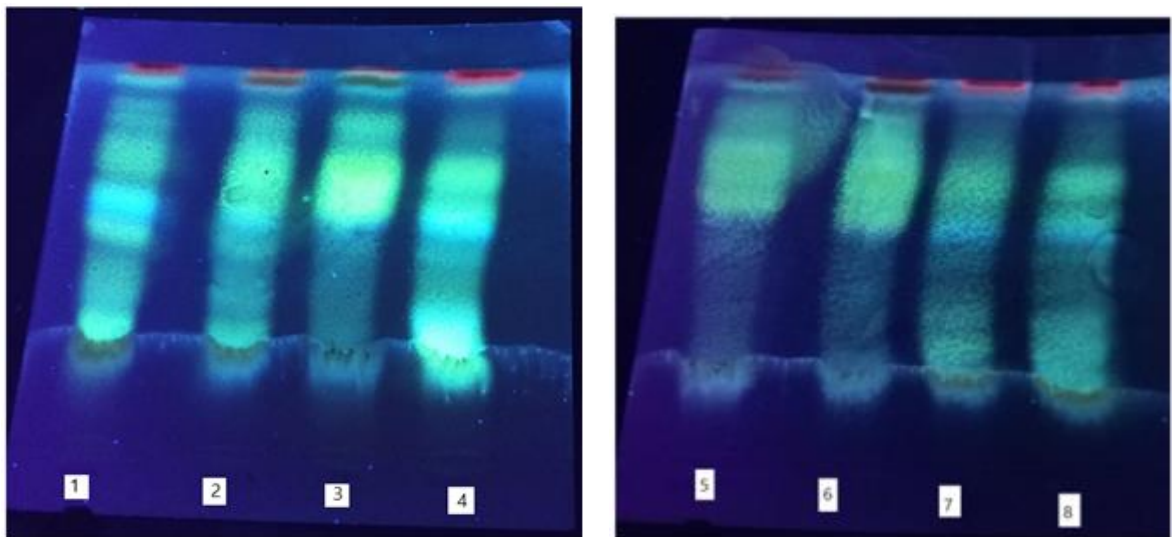


Рисунок 104 - Хроматографическая картина зон флавоноидов травы горца почечуйного различных мест заготовки: 1 – п.г.т. Усмань; 2 – г. Кисловодск; 3 – пос. Головинка; 4 – г. Севастополь; 5 – г. Острогожск; 6 – г. Тамбов; 7 – п.г.т. Панино; 8 – г. Геленджик

Максимальное количество зон флавоноидов характерно для растения, произрастающего в г. Кисловодске – 14 зон. При этом прослеживается влияние высотного фактора, город располагается на высоте 800 метров над уровнем моря. Данный факт подтверждается также тем, что, не смотря на довольно

благоприятные условия произрастания, количество зон флавоноидов в растениях, заготовленных в непосредственной близости к морю (несколько метров), одно из самых низких, что видно для растений из Краснодарского края (8 зон).

Небольшое количество зон флавоноидов в сырье, собранном в Крыму можно объяснить расположением растений в ущелье, в затененном месте. Можно предположить, что свет является одним из решающих факторов, влияющих на процессы биосинтеза, качественный состав и количество флавоноидов в растениях. В то же время, синтез флавоноидов и их накопление можно рассматривать как фактор приспособления растительного организма к неблагоприятным окружающим условиям. Также, на данном этапе работы был выявлен маркерный компонент, с величиной $R_f 0,71 \pm 0,02$, который встречался во всех образцах, не зависимо от места сбора.

При количественной оценке флавоноидов в траве горца почечуйного (таблица 34), в зависимости от места заготовки ЛРС, установлено, что наибольшее их содержание характерно для растений, собранных в г. Тамбове (4,40%), а также на черноморском побережье Краснодарского края (г. Геленджик 3,60%, пос. Головинка 3,61%).

Таблица 34 - Содержания флавоноидов в траве горца почечуйного в зависимости от места произрастания растений

Место заготовки травы горца почечуйного	Содержание флавоноидов, %
п.г.т Усмань	2,13±0,02
г. Кисловодск	2,40±0,01
г. Тамбов	4,40±0,03
г. Геленджик	3,60±0,02
г. Острогожск	2,80±0,01
г. Севастополь	2,60±0,02
пос Головинка (Лазаревское)	3,61±0,04
п.г.т. Панино	0,920±0,005

Меньше всего флавоноидов содержалось в траве горца почечуйного, заготовленной в районе п.г.т. Панино (0,92%). Следует отметить, что ЛРС с

высоким содержанием суммы флавоноидов (г. Тамбов – 4,40%, Краснодарский край – 3,60%) характеризовалось минимальным качественным составом соединений.

Таким образом, при изучении флавоноидного профиля травы горца почечуйного выявлено наличие флавоноида с $R_f 0,71 \pm 0,02$, присутствующего у растений не зависимо от места произрастания. Данное соединение можно рассматривать как маркер травы горца почечуйного.

7.4. Исследование профиля флавоноидов видов *Persicaria Mill* методом ВЭЖХ

Для изучения компонентного состава флавоноидов видов рода горец использовали метод ВЭЖХ-ДМД-МС [61]. Условия проведения эксперимента представлены в главе 2.

Анализируя полученные данные, в изучаемых видах обнаружено более 40 производных флавонолов и флавонов (таблица 35, таблица 3 Приложения 6). В качестве примеров на Рисунок 105, 106, 107 приведены роматограммы извлечения из травы горца почечуйного и спектр поглощения кемпферола-3-вицианозида. Хроматограммы извлечений из травы горцев войлочного, перечного, малого, и двух форм горца земноводного, а также спектры поглощения некоторых неидентифицированных компонентов флавоновой природы при 350 и 338 нм представлены на рисунках 1 - 3 Приложения 6.

Идентифицированные производные флавонолов представляют собой в основном гликозиды мирицетина, кверцетина и кемпферола, а в случае значений m/z 617, 609 и 507, являются гликозидами, этерифицированными нетипичными алифатическими или гидроксibenзойными кислотами.

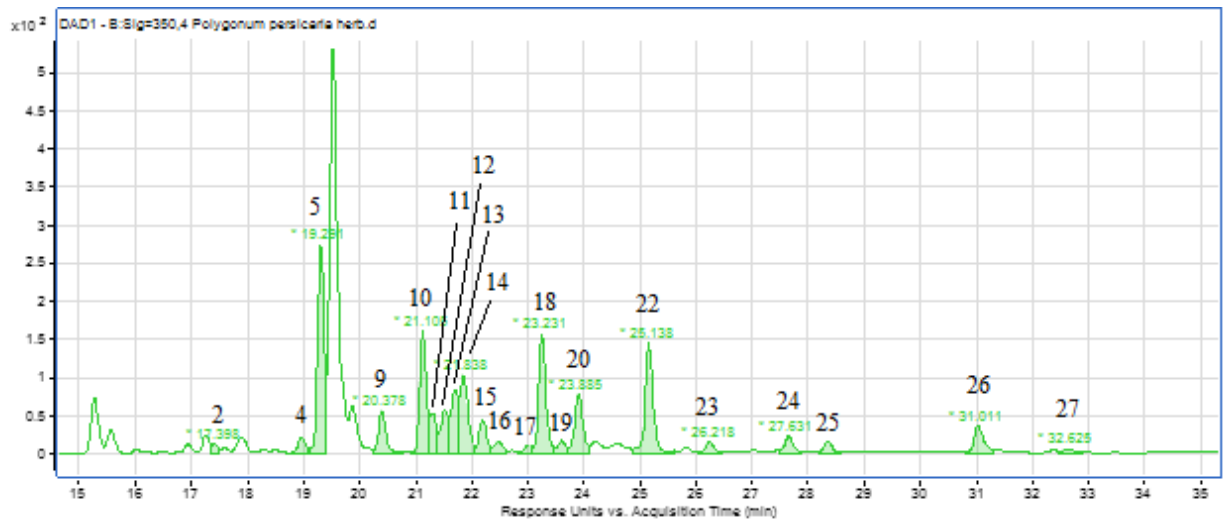


Рисунок 105. Хроматограмма извлечения из травы горца почечуйного при $\lambda=350$ нм

*Номера пиков флавоноидов на хроматограмме и последующих рисунках 105, 106 соответствуют номерам в таблице 3 Приложения 7.

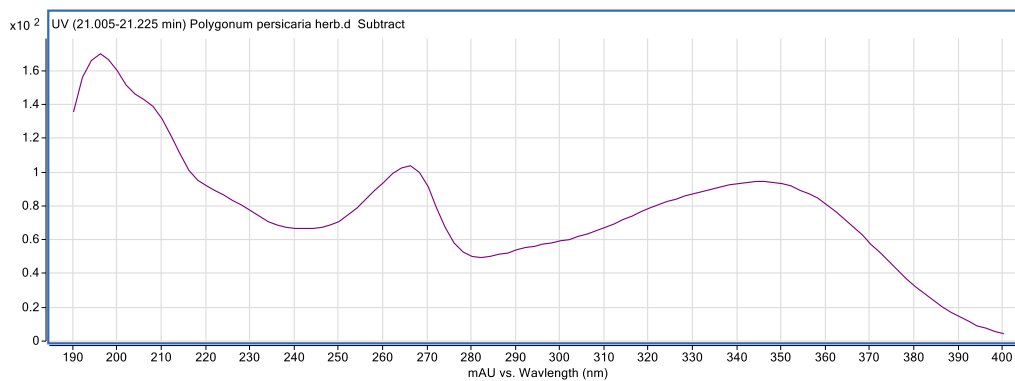


Рисунок 106 - Спектр поглощения кемпферол-3-вицианозида

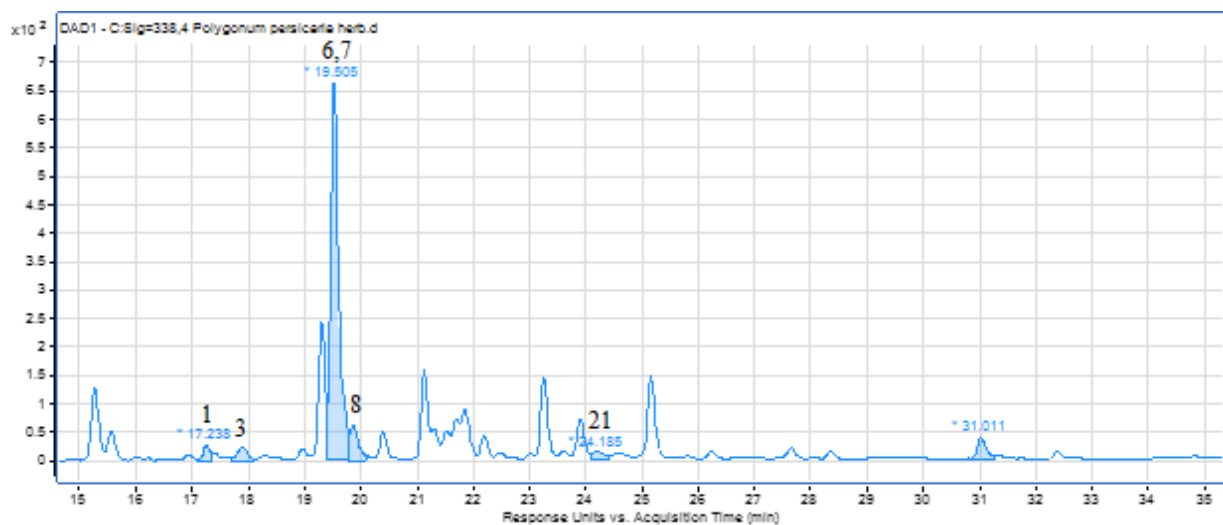


Рисунок 107 - Хроматограмма извлечения из травы горца почечуйного при $\lambda=338$ нм

Таблица 35 - Содержание флавоноидов в траве изучаемых видов рода горец

№	Флавоноиды	Содержание, мг/г						
		Горец почечуйный	Горец перечный	Горец малый	Горец войлочный	Горец щавелелистный	Горец земноводный (НФ)	Горец земноводный (ВФ)
1	Мирицетин-3-вицианозид	0,07	--	--	--	--	--	--
2	Кверцетин-3-вицианозид	1,54	--	--	--	--	--	--
3	Кемпферол-3-вицианозид	0,97	--	--	--	--	--	--
4	Апигенин-7-глюкозид	0,10	--	--	--	--	--	--
5	Апигенин + пентоза + гексоза (С-гликозид)	0,13	--	--	--	--	--	--
6	Лютеолин + глюкоза + глюкуроновая кислота (С-гликозид)	0,16	--	--	--	--	--	--
7	Мирицетин-глюкуронид	--	--	--	--	--	0,58	--
8	Мирицетин-3-галактозид	--	--	--	следы	0,07	0,16	0,61
9	Кверцетин-самбубиозид	--	--	0,82	--	--	--	--
10	Кверцетин-глюкуронид	--	--	--	0,10	0,09	2,98	1,64
11	Мирицетин-3-глюкуронид	--	0,18	--	0,13	0,24		--
12	Производное кверцетина	--	--	--	2,54	1,71	--	--
13	Рутин	0,27	--	0,07	--	--	--	--
14	Производное кверцетина	--	--	--	1,72	0,66	--	--
15	Витексин	--	--	0,03	--	--	--	--
16	Кемпферол-глюкуронид	--	--	--	--	--	0,62	--
17	Производное мирицетина	--	--	--	--	--	0,08	1,46
18	Кверцетин-3-сульфат	--	0,62	--	--	--	--	--
19	Гиперозид	0,35	0,83	--	0,95	1,57	0,95	1,96
20	Изокверцитрин	0,36	--	0,57	7,70	следы	--	--
21	Кверцетин-3-глюкуронид	--	3,30	--	--	10,94	2,07	3,59
22	Производное кверцетина	--	--	--	--	3,42	--	--

23	Кверцетин-малонил-галактозид/глюкозид	--	--	--	0,15	0,29	--	--
24	Кемпферол-3-галактозид	--	--	0,08	1,18	1,11	--	--
25	Кверцетин-рамнозид	--	--	1,09	--	--	--	--
26	Кверцетин-арабинозид	--	0,53	--	--	--	--	--
27	Астрагалин	--	0,15	0,18	2,57	2,79	0,04	--
28	Кемпферол-3-глюкуронид	--	0,09	--	--	--	0,19	0,29
29	Производное кемпферола	--	--	--	0,80	1,39	--	--
30	Кверцитрин	0,50	--	--	--	--	0,13	1,32
31	Изорамнетин-3-сульфат	--	3,10	--	--	--	--	--
32	Изорамнетин-3-глюкозид	--		--	--	--	--	--
33	Изорамнетин-3-глюкуронид	--		--	--	--	--	--
34	Производное кемпферола	--	--	--	1,37	1,61	--	--
35	Кемпферол-рамнозид	--	--	0,07	--	-	--	--
36	Производное кемпферола	--	--	--	0,60	0,89	--	--
37	Мирицетин	--	--	--	--	--	0,03	0,05
38	Ацилированное производное кемпферола	--	--	--	0,31	0,40	--	--
39	Ацилированное производное кемпферола	--	--	--	0,27	0,43	--	--
40	Изорамнетин-сульфат	--	0,39	--	--	--	--	--
41	Кемпферид-3-сульфат	--	0,47	--	--	--	--	--
42	Изомеры рамназин-сульфата	--	6,85	--	--	--	--	--
43	Лютеолин	0,17	--	0,06	--	--	--	--
44	Кверцетин	--	0,21	0,05	0,06	0,25	--	0,12
45	Кемпферол	--	--	--	--	0,10	--	--
	Сумма неидентифицированных соединений	7,43	0,01	8,27	2,40	3,41	0,43	0,11
	Сумма флавоноидов	12,05	16,73	11,29	25,61	31,37	8,26	11,15

Соединения группы флавонов, обнаруженные в растениях, включают как С-так и О-гликозиды. Превалирующей группой флавоноидов в траве горца почечуйного являются вицианозиды мирицетина, кверцетина и кемпферола, не проявившиеся на хроматограммах других видов (что согласуется с данными литературы [30, 275, 276]).

Специфическими соединениями для горца перечного являются гликозиды изорамнетина, а также сульфированные производные – изомеры рамнозин-сульфата, кемпферола-3 сульфат, изорамнетина сульфат. Индивидуальность горца малого определяется наличием кверцетина самбубиозида, кемпферола рамнозида, кверцетина рамнозида и витексина (С-гликозид).

Растения ряда *Lapathiiformes* имеют сходный состав флавоноидов, состоящий из производных кверцетина и кемпферола. Отличие между горцами войлочным и щавелелистным определяется наличием ацилированных производных кверцетина и кемпферола, которые характерны для травы горца щавелелистного.

Уникальной особенностью наземной формы горца земноводного является присутствие глюкуроновых производных мирицетина и кемпферола. Обе формы горца земноводного содержат мирицитин, отличием водной формы от наземной является отсутствие в составе кверцетина.

Применяя метод ВЭЖХ, было установлено, что наибольшее содержание суммы флавоноидов установлено для травы горцев щавелелистного и войлочного (31,37 и 25,61 мг/г соответственно), что почти в 3 раза выше, чем в горце почечуйном (12,05 мг/г) и почти в 2 раза больше, чем в горце перечном (16,37 мг/г). Меньше всего флавоноидов содержится в траве наземной формы горца земноводного (8,26 мг/г).

Данные о количественном содержании флавоноидов в траве изучаемых растений, полученные методом ВЭЖХ, коррелируют с результатами спектрофотометрического определения флавоноидов. Несколько завышенные результаты для некоторых объектов, объясняются неселективностью спектрофотометрической методики по сравнению с ВЭЖХ.

7.6. Определение флавоноидов в свежей траве горца почечуйного

Горца почечуйного трава в настоящее время используется в аллопатии в высушенном виде, а для изготовления настоек матричных гомеопатических чаще используется свежее сырье. Трава горца почечуйного в гомеопатической практике РФ не используется, однако, широко применяется в США и Германии. Учитывая вышесказанное, а также отсутствие данных о влиянии процесса высушивания на содержание основных групп БАВ в траве изучаемых растений, на примере травы горца почечуйного проведен сравнительный анализ состава БАВ в высушенном и свежем растительном сырье. Изучение свежезаготовленной травы проводили в течение 24 часов после заготовки [151]. Для анализа использовали стандартные методики, приведенные в ГФ РФ XIV [53], а также разработанную методику определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин. Результаты приведены в таблице 36.

Таблица 36 - Числовые показатели горца почечуйного травы высушенной и свежей (n=5)

Показатель	Содержание, %	
	Высушенная трава	Свежая трава
Влажность	10,5±1,5	83,0±2,0
Зола общая	9,40±0,47	9,8±0,2
Зола не растворимая в 10% HCl	0,45±0,03	0,110±0,004
БАВ		
<i>Экстрактивные вещества, извлекаемые ...</i>		
Водой	35,32±2,10	18,60±1,50
Спиртом этиловым 20%	28,81±2,30	18,08±1,20
Спиртом этиловым 40%	27,90±1,90	18,43±1,40
Спиртом этиловым 70%	27,08±1,20	17,66±1,70
Спиртом этиловым 90%	15,73±1,10	14,36±1,20
Сумма флавоноидов в пересчете на рутин	2,24±0,12	3,75±0,20
Полисахариды	4,00±0,10	10,9±0,8
Аскорбиновая кислота	0,173 ± 0,005	0,100±0,005
<i>Сумма дубильных веществ...</i>		
в пересчете на танин	28,10±0,70	10,16±0,60
в пересчете на танин после осаждения желатином	18,3±0,4	2,38±0,10
в пересчете на галловую кислоту	4,90±0,04	1,21±0,04

Максимальное количество экстрактивных веществ (ЭВ) извлекается и в свежей и в высушенной траве водой и спиртом этиловым в концентрации 20% и 40%. Однако, содержание ЭВ, ДВ и АсК в высушенной траве выше, чем в свежей, причина этого в уменьшении выхода ДВ и суммы свободных полисахаридов, которые хорошо растворимы в воде и слабой концентрации спирта, а также возможном окислении АсК и гидролизе фенольных и других гликозидов, происходящем в процессе транспортировки и подготовки свежего сырья к анализу.

Количество суммы флавоноидов в пересчете на рутин незначительно, а суммы свободных полисахаридов почти в три раза выше в свежезаготовленной траве. Подобная разница в содержании суммы полисахаридов может быть объяснима тем, что некоторые белковые и углеводные структуры в полисахаридном комплексе менее устойчивы при воздействии температуры 50⁰С [24].

В связи с мировым стремлением привести к общему знаменателю требования к критериям оценки качества ЛРС и препаратов на его основе, используемых в гомеопатической практике и аллопатии, была проведена адаптация условий известной и общепринятой методики для проведения количественного определения флавоноидов в горца почечуйного траве свежей.

При подборе условий количественного определения флавоноидов в сырье установлены оптимальные соотношение сырья и экстрагента; время экстракции; соотношение количества извлечения и раствора $AlCl_3$; время созревания окраски комплекса флавоноидов и $AlCl_3$ и стабильность его во времени.

Полученные УФ-спектры имели четкий максимум поглощения, совпадающий со спектром поглощения комплексного соединения, образованного рутином и алюминия хлоридом, при длине волны 415 ± 2 нм. Экстрагентом выступал спирт этиловый в концентрации 70%. В результате эксперимента установлено оптимальное соотношение сырья и экстрагента 1:20; время экстракции - 45 минут (рисунки 108, 109).

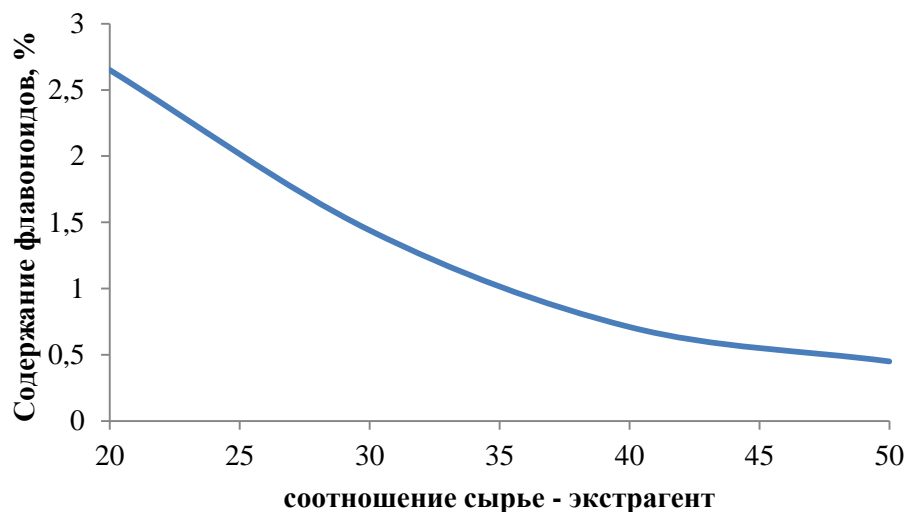


Рисунок 108 - Зависимость выхода флавоноидов от соотношения сырье – экстрагент

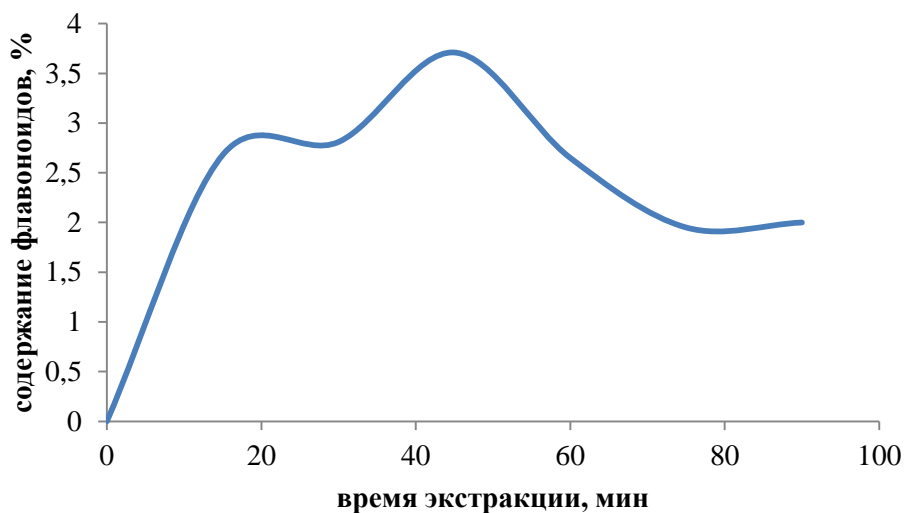


Рисунок 109 - Зависимость выхода флавоноидов от времени экстракции

В дальнейших исследованиях подобрано оптимальное соотношение количества алюминия хлорида и исследуемого извлечения, которое, на основании экспериментальных данных, составило 1:1 - 2 мл извлечения и 2 мл спиртового раствора $AlCl_3$ (рисунок 110).

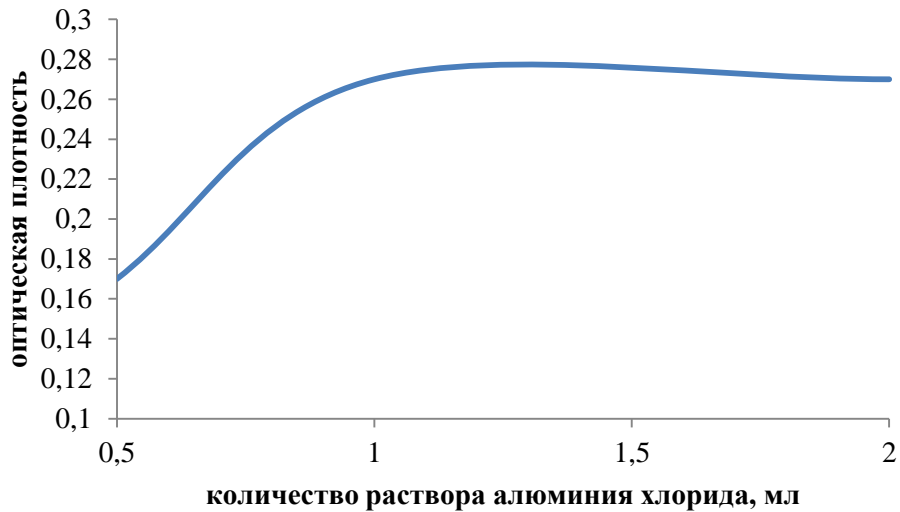


Рисунок 110 - Зависимость величины оптической плотности от соотношения объемов извлечения и спиртового раствора алюминия хлорида

Для установления оптимального времени созревания окраски продуктов реакции флавоноидов с хлоридом алюминия оптическую плотность измеряли каждые 10 минут в течение часа с момента добавления к извлечению из травы горца спиртового раствора хлорида алюминия 2%. Оптимальное время созревания окраски составило 20 минут. Полученный комплекс был стабилен в течение следующих 10 минут (рисунок 111).

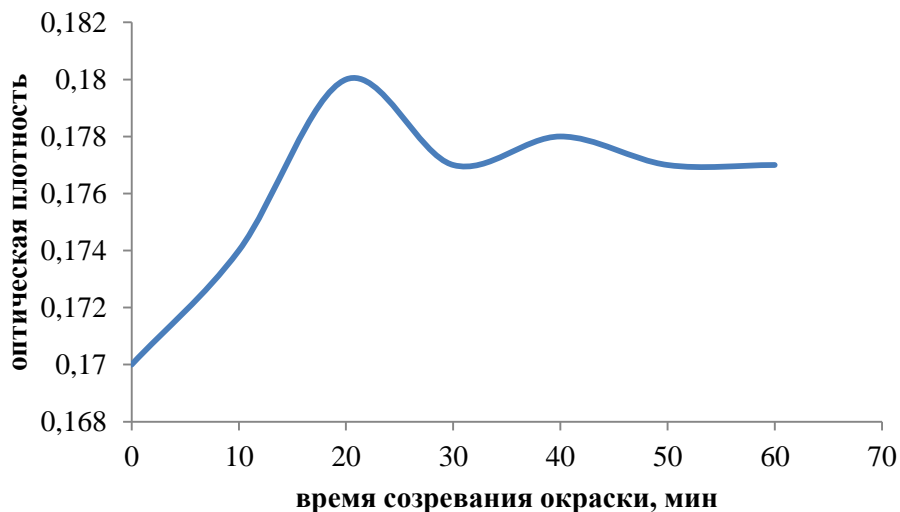


Рисунок 111 - Зависимость величины оптической плотности от времени созревания комплекса флавоноидов с раствором алюминия хлорида

Метрологические характеристики предлагаемой методики представлены в таблице 37.

Таблица 37 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в горца почечуйного траве свежей

Горца почечуйного трава свежая	Параметры							
	f	x	S ²	S	S _x	t(p,f)	±ΔX	ε _{ср} , %
	4	3,75	0,010	0,106	0,060	2,57	0,19	5,1

Методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в горца почечуйного траве свежей

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 10,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 %. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. После охлаждения объем извлечения доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор). Через 20 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора Б СО рутин, 1 мл алюминия хлорида

спиртового раствора 2 %, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутина, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 2 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность стандартного раствора; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; W – влажность сырья, %.

Далее были проведены валидационные исследования разработанной методики. При установлении специфичности методики методом добавок, в извлечение вводили РСО рутина, дифференциальном спектре отмечались при этом максимумы поглощения, характерные для рутина при 224 ± 2 ; 270 ± 2 и 410 ± 2 нм. Правильность методики оценивали в трех уровнях концентраций рутина в пределах аналитической области методики по результатам 9 определений (таблица 38).

Таблица 38 - Результаты определения правильности метода количественного определения флавоноидов в траве горца почечуйного свежей

Содержание флавоноидов в сырье, мг	Добавлено рутина, мг	Расчетное содержание, мг	Полученное содержание, мг	Открываемость, %
37,5	1,0	38,5	38,15	99,09
37,5	1,0	38,5	38,95	98,57
37,5	1,0	38,5	38,82	100,83
37,5	2,0	39,5	38,93	98,55
37,5	2,0	39,5	39,76	100,66
37,5	2,0	39,5	39,11	99,01
37,5	3,0	40,5	39,67	97,95
37,5	3,0	40,5	40,02	101,08
37,5	3,0	40,5	40,94	101,40
Средний % восстановления методики				99,39

Процент восстановления методики находился в пределах 1-2% во всех определяемых уровнях концентраций и соответствовал требованиям к характеристике «правильность».

Установление сходимости выполняли в одних условиях на одном и том же оборудовании на 6 параллельных определениях. Полученные данные для УФ СФ - методики представлены в таблице 39.

Определение параметра «Воспроизводимость» проводили на двух приборах – СФ 2000-01 (Россия) и Hitachi Spectrophometer (Япония) в 6 параллельных определениях. Результаты представлены в таблице 40.

Таблица 39 - Результаты определения сходимости метода количественного определения флавоноидов в траве горца почечуйного свежей

№	Содержание суммы флавоноидов, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	3,72	-0,67
2	3,64	-2,80
3	3,69	-1,47
4	3,85	-2,80
5	3,91	+1,73
6	3,77	+0,66

Таблица 40 - Определение воспроизводимости методики количественного определения флавоноидов в траве почечуйного свежей

№	СФ 2000-01		Hitachi U-1900	
	Содержание суммы флавоноидов в пробе, %	Относительное стандартное отклонение, %	Содержание суммы флавоноидов в пробе, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	3,72	-0,67	3,83	+2,13
2	3,64	-2,80	3,68	- 1,87
3	3,69	-1,47	3,82	+1,86
4	3,85	-2,80	3,65	-2,66
5	3,91	+1,73	3,79	+1,06
6	3,77	+0,66	3,74	-0,27

Величина относительного стандартного отклонения, установленная в данном эксперименте, не превышает допустимые значения 3%, что указывает на прецизионность анализируемой методики.

При установлении линейной зависимости оптическую плотность измеряли в 6 вариантах навесок травы горца почечуйного в пределах разброса значений массы навески $\pm 50\% - 200\%$, в результате чего была получена градуировочная зависимость рисунок 112. Согласно полученным данным - методика линейна.

Таким образом, результаты проведенного валидационного исследования (таблица 41) показали, что СФ - методика определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин валидна и может использоваться для количественной оценки сырья.

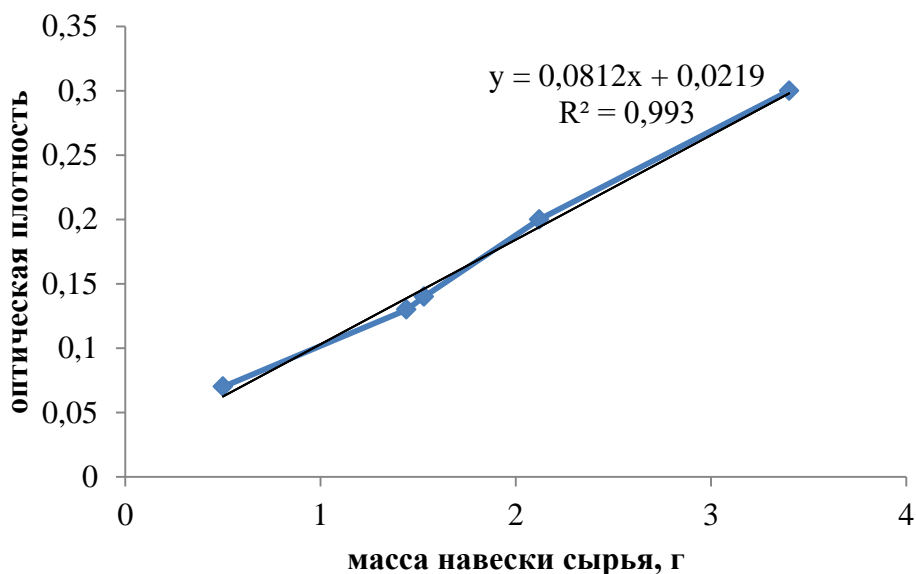


Рисунок 112 - Градуировочная зависимость величины оптической плотности от величины навески

Полученные данные были использованы при разработке проектов ФС для ГФ РФ XIV «Горца почечуйного трава свежая» и «Настойка гомеопатическая горца почечуйного травы свежей».

Таблица 41 - Валидационные характеристики методики количественного определения в траве горца почечуйного свежей суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Характеристика	Значение
Правильность	% восстановления методики 99,39
Сходимость	Коэффициент вариации -2,80% до +1,73%
Воспроизводимость	СФ 2000-01 коэффициент вариации от -2,80% до +1,73% Hitachi h-1900 коэффициент вариации от -2,66% до + 2,13%
Минимальное значение, %	3,64
Максимальное значение, %	3,91
Среднее значение, %	3,75
Значение доверительного интервала (P=95%), %	3,75±0,14 3,64 – 3,91
Уравнение линейности	$y=0,0812x+0,0219$
R^2	0,993

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 7

1. Методом ТСХ установлено различие в составе профиля флавоноидов. Флавоноидный состав всех изучаемых видов горцев различен и данная группа веществ (в частности, количество, окраска зон на треке) может являться химическим маркером представителей рода. На примере горца почечуйного травы выявлен компонент с величиной $R_f 0,71 \pm 0,02$, присутствующий у растений, не зависимо от места произрастания.

2. Разработаны и валидированы две спектрофотометрические методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного и траве горца щавелелистного. Относительная ошибка определения составила $\pm 4,12\%$ и 5% соответственно.

3. Используя разработанные методики, определена сумма флавоноидов в изучаемых видах рода горец. Установлено, что наибольшее содержание флавоноидов характерно для видов ряда *Lapathiiformes* - горца узловатого (5,63%), горца Бриттингера (4,39%) и горца щавелелистного (4,36%). Горец почечуйный, горец перечный, горец войлочный, горец шероховатый содержат

близкое содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин – от 2,10% до 2,50%.

4. Методом ВЭЖХ-ДМД-МС в траве изучаемых видах горцев показано присутствие более 45 различных соединений флавоноидной природы и установлено их количественное содержание. Выявлены маркерные компоненты, характерные для каждого конкретного вида. В траве горца почечуйного маркерными являются вицианозиды мирицетина, кверцетина и кемпферола, не проявившиеся на хроматограммах других видов, для горца перечного это гликозиды изорамнетина и сульфированные производные – изомеры рамнозин – сульфата, кемпферола – 3 сульфат, изорамнетина сульфат, уникальность горца малого заключается в наличии кверцетина самбубиозида, кемпферола и кверцетина рамнозидов и витексина (с – гликозид). Растения ряда *Lapathiiformes* имеют сходный состав флавоноидов, состоящий из производных кверцетина и кемпферола. Ацилированные производные кверцетина и кемпферола характерны для травы горца щавелелистного. Уникальной особенностью наземной формы горца земноводного является наличие глюкуроновых производных мирицетина и кемпферола. Обе формы горца земноводного содержат мирицитин, отличием водной формы от наземной является отсутствие в составе кверцетина. Наибольшее содержание флавоноидов, установленное методом ВЭЖХ – ДМД – МС установлено для травы горцев щавелелистного и войлочного (31,37 и 25,61 мг/г соответственно), что почти в 3 раза выше, чем в горце почечуйном (12,05 мг/г) и почти в 2 раза больше, чем в горце перечном (16,37 мг/г).

5. Разработана и валидирована спектрофотометрическая методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного свежей. Относительная ошибка определения составила $\pm 5,1\%$.

6. Проведен сравнительный анализ содержания биологически активных веществ в высушенной и свежей траве горца почечуйного. Максимальное количество экстрактивных веществ извлекается в обоих случаях водой и спиртом этиловым в концентрации 20% и 40%. Установлено снижение содержания ЭВ, дубильных веществ и аскорбиновой кислоты в свежей траве. Содержание в

свежей траве горца почечуйного суммы флавоноидов в пересчете на рутин незначительно, а полисахаридов почти в три раза выше, чем в высушенной.

7. На основании полученных данных разработаны: ФС «Горца почечуйного трава» включенная в ГФ РФ XIVизд., проекты ФС «Горца щавелелистного трава», «Горца щавелелистного экстракт жидкий», «Горца почечуйного экстракт жидкий», «Горца почечуйного трава свежая», «Горца почечуйного травы свежей настойка гомеопатическая матричная».

ГЛАВА 8. ИЗУЧЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PERSICÁRIA* MILL.

В последнее время прослеживается тенденция к комплексному изучению химического состава растений, при этом немалое внимание уделяется как веществам органического, так и минерального происхождения. Это объясняется тем, что макро- и микроэлементы являются БАВ растений, играющими большую роль в жизнедеятельности как животных, так и растений. Накопление и концентрирование минеральных компонентов зависит от ряда факторов, подвержены влиянию окружающей среды и онтогенетические особенности (принадлежность растения к тому или иному роду и виду), что определяет уникальное соотношение минеральных веществ в растениях [84, 111, 116]. Уровень биологического накопления веществ минерального происхождения является показателем степени экологической чистоты ЛРС и иногда рассматриваться в систематике как хемотаксономический признак [20].

Элементы содержатся в почве в 4 формах: 1) прочно фиксированные и недоступные для растения (например, ионы калия и аммония в некоторых глинистых минералах; 2) труднорастворимые неорганические соли (сульфаты, фосфаты, карбонаты), недоступные в такой форме для растения; 3) адсорбированные на поверхности коллоидов, доступные для растений благодаря ионному обмену на выделяемые растением ионы; 4) растворенные в воде и легкодоступные для растений [124]. Исследования ученых школы Д.Н. Прянишникова показали, что каждый вид растения предъявляет специфические требования к количественным комбинациям отдельных зольных элементов и потребность растения в них изменяется на разных фазах его развития [80].

8.1. Изучение элементного состава видов рода *Persicária* Mill. методом хромато-масс-спектрометрии

Для исследования на данном этапе эксперимента были выбраны официальные представители рода горец - горец почечуйный и горец перечный, используемые в качестве противогемморoidalного и кровоостанавливающего средства, а также наиболее распространенные примеси к ним - горец войлочный и горец малый. Изучаемые виды, являясь сорными растениями, широко распространены в умеренном поясе, часто встречаются на экологически неблагоприятных территориях [182].

Количественное содержание элементов для горцев почечуйного, перечного, малого и войлочного, состав элементов почвы с места их произрастания и рассчитанные значения коэффициентов биологического поглощения (Кбп) представлены в таблице 1 Приложения 8А (значения приведены в пересчете на абсолютно сухое сырье). Все изучаемые виды содержат широкий спектр элементов (56 наименований). Установлено высокое содержание в растительном сырье магния, фосфора, калия и кальция (рисунок 113), что объяснимо важной ролью этих элементов в биосинтезе соединений первичного и вторичного метаболизма [124, 182, 205]. Наибольшее количество калия (2,9%) и магния (1,09%) содержит горец малый, кальций в большей степени накапливается в надземных частях горца войлочного (2,08%).

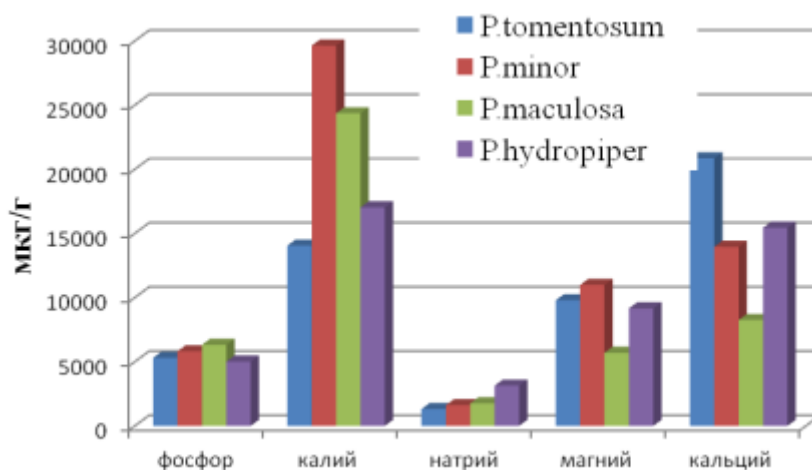


Рисунок 113 - Содержание макроэлементов в представителях рода горец

Кальций является продуктом метаболизма растительного организма, который при избыточном накоплении откладывается в клетках растения в виде различных образований. Для изучаемых видов характерной особенностью является наличие друз оксалата кальция (рисунок 114). Установлена прямая связь между размером, частотой встречаемости друз оксалата кальция и количеством кальция в растительных объектах (таблица 42).

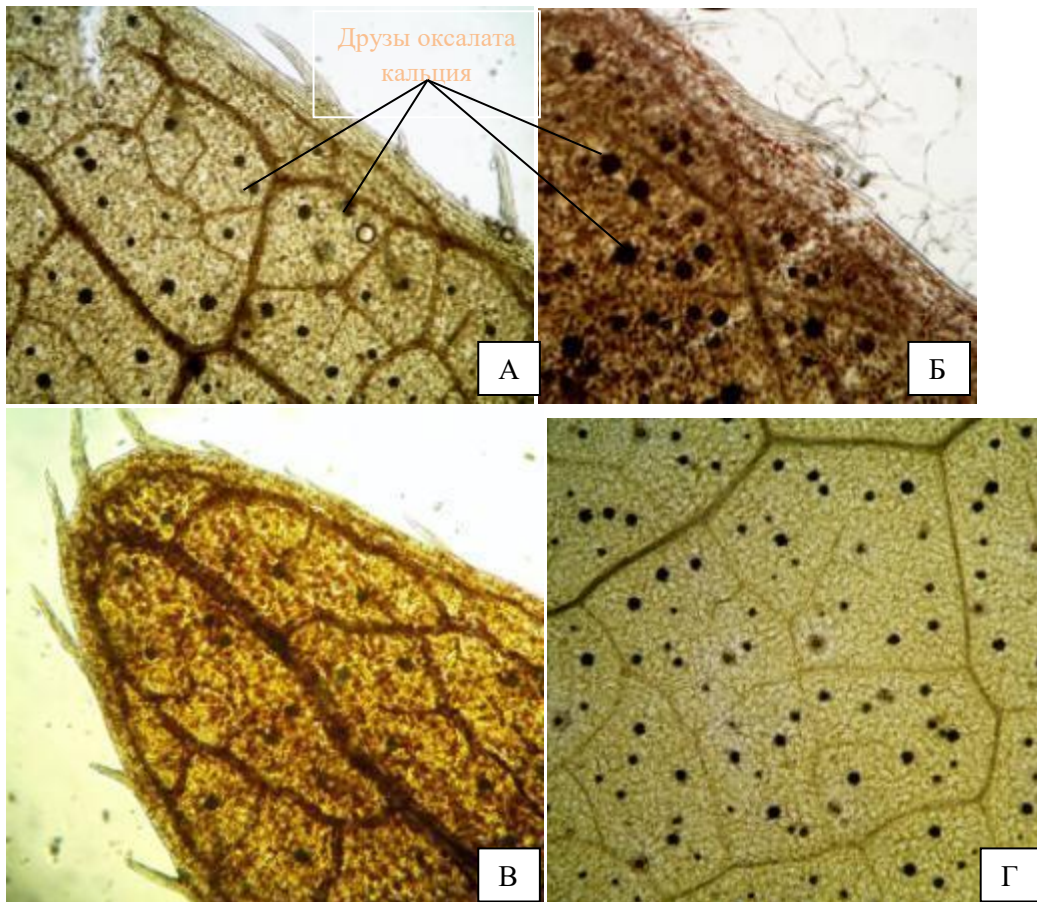


Рисунок 114 -Микропрепараты листа с поверхности горцев почечуйного (А), войлочного (Б), малого (В) и перечного (Г), ув. x100

Ряд ученых (Круглов, 2010а) предположили, что элементный состав растительного организма менее зависит от состава почвы с места его произрастания, в то время как фактор эволюционного возраста и филогенетического родства играет важную роль [89]. Это прослеживается при исследовании макроэлементного состава изучаемых объектов, относящихся к разным таксономическим рядам.

Таблица 42 - Зависимость содержания кальция от количества и размера друз оксалата кальция в листьях представителей рода горец

Характеристики	Виды горцев			
	почечуйный	войлочный	малый	перечный
Частота встречаемости (1мм ²)	70±4	170±12	130±6	150±4
Диаметр друз, мкм	11,65-41,94	49,0-81,55	11,5-69,9	9,32-23,3
Содержание кальция в ЛРС, мг/кг	8249	20847	13958	15445

При изучении накопления в растительном сырье наиболее важных для человека микроэлементов (рисунок 115), было выявлено, что марганец и кобальт в большем количестве содержатся в горце перечном, медь, цинк и никель – в горце малом. Горец почечуйный богат хромом, а железо присутствует во всех объектах примерно на одинаковом уровне.

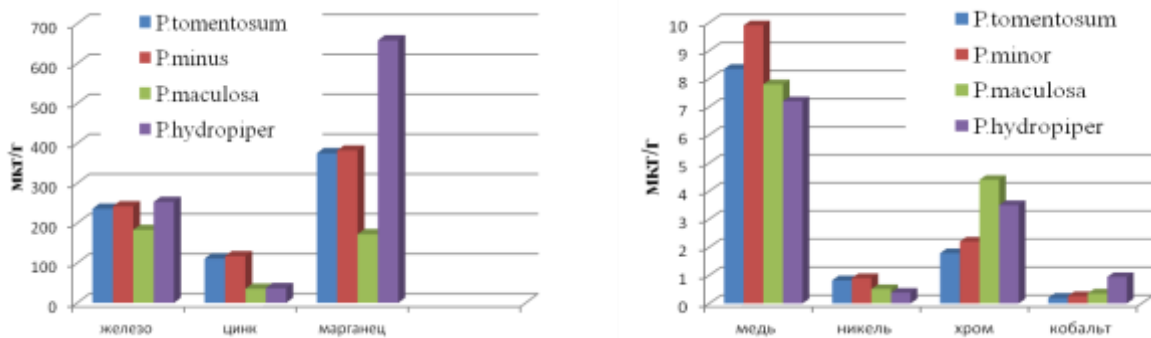


Рисунок 115 - Содержание микроэлементов в представителях рода горец

В СанПин 2.3.21078-01 «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» [149] приведены предельно допустимые количества (ПДК) для некоторых микроэлементов, которые представлены в таблице 43, где также отражены нормы содержания тяжелых металлов и мышьяка для растительного сырья [77, 149]. Анализируя полученные экспериментальным путем данные, видно превышение ПДК (которые установлены для овощей и зелени) по количественному содержанию цинка, железа, кобальта, меди и хрома. НД, где установлены нормы содержания данных элементов для ЛРС на настоящий момент не разработана. Содержание в сырье

анализируемых горцев токсичных элементов (свинец, кадмий, ртуть, мышьяк), определенное методом ХМС не превышает норм, допустимых НД (рисунок 116).

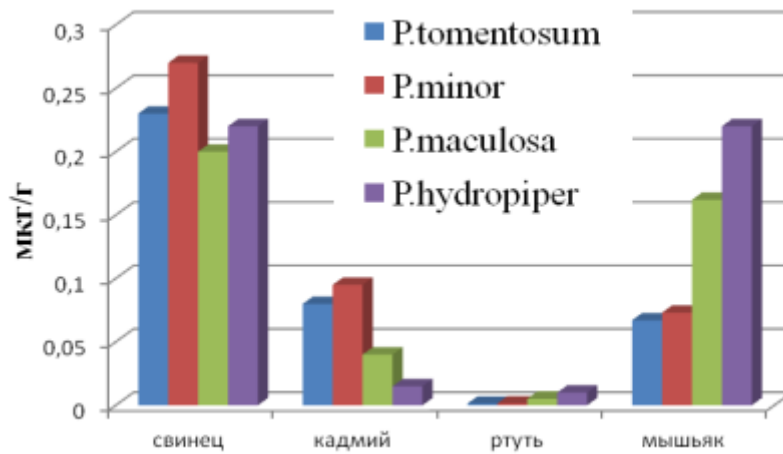


Рисунок 116 - Содержание токсичных элементов в представителях рода горец

Не смотря на довольно высокое содержание некоторых микроэлементов в растительных объектах, числовые показатели «зола общая» и «зола не растворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты», которые характеризуют всю сумму минеральных компонентов для официальных видов, не превышают требований НД (таблица 44). Анализ полученных данных (таблица 1 Приложения 8А) показал, что систематически близкие виды имеют сходный набор макро - и микроэлементов. Разница в количественном составе минеральных компонентов близкородственных видов может быть объяснима взаимосвязью между элементным составом растения и синтезом вторичных метаболитов [107, 119, 187].

Таблица 43 - Содержание макро – и микроэлементов в представителях рода горец

Элемент	ПДК, мг/кг	Содержание, мг, кг					Оптимальная физиологическая потребность для взрослого человека в сутки, мг	Порог токсичности, мг/сутки	Всасываемость, %
		Гореч войлочный	Гореч малый	Гореч почечуйный	Гореч перечный	Гореч птичий*			
Калий (К)	--	14046	29637	24357	17030	5300	2500	7 г	100
Натрия (Na)	--	1318	1617	1762	3142	67	1100-1300*	15 г	--
Магний (Mg)	--	9791	10987	5697	9161	3900	400	30 г	30
Кальций (Ca)	--	20847	13958	8249	15445	7400	800-1200	--	30
Фосфор (P)	--	5303	5815	6318	5008	--	800	--	80
Железо (Fe)	5,0	236,6	242,2	183,3	253,4	270	15,0-20,0	200	10
Медь (Cu)	5,0	8,35	9,9	7,8	7,2	1,685	2,0-2,5	200	50
Цинк (Zn)	10	110,7	117,0	35,3	36,9	15,138	10,0-12,0	600	50
Марганец (Mn)	--	375,0	382,0	172,0	658,0	580	5,0-6,0	40	10
Кобальт (Co)	0,03	0,2	0,26	0,35	0,94	0,058	0,1-0,2	500	30
Никель (Ni)	3,0	0,82	0,9	0,51	0,38	0,791	0,6-0,8	20*	--
Хром (Cr)	0,2	1,79	2,2	4,4	3,5	0,754	0,05	5	10
Свинец (Pb)	6,0	0,23	0,27	0,2	0,22	0,419	--	1,0	--
Кадмий (Cd)	1,0	0,08	0,095	0,04	0,015	0,130	--	0,03	--
Ртуть (Hg)	0,1	0,0013	0,0015	0,0052	0,01	0,002	--	0,4	--
Мышьяк (As)	0,5	0,067	0,073	0,162	0,22	0,112	--	10	--

Примечание: * - литературные данные [20, 89, 182]

Таблица 44 - Содержание золы общей и золы не растворимой в 10% растворе HCl для изучаемых видов

№	Объект	Зола общая, %	Зола, не растворимая в 10% HCl
1	Горец почечуйный	9,40±0,47 (по НД не более 10%)	0,45± 0,03 (по НД не более 1%)
2	Горец войлочный	8,53±0,08	1,73±0,05
3	Горец шероховатый	12,20±0,65	2,15±0,05
4	Горец Бриттингера	12,10±0,63	0,85±0,07
5	Горец щавелелистный	12,00±0,75	1,54±0,05
6	Горец узловатый	12,30±0,39	2,10±0,03
7	Горец перечный	7,50±0,47 (по НД не более 8 %)	0,71± 0,01 (по НД не более 2%)
8	Горец малый	11,64±0,89	1,74±0,03
9	Горец земноводный (ВФ)	8,80±0,44	1,9±0,05
10	Горец земноводный (НФ)	10,15±0,09	2,1±0,04

Таблица 45 - Общее содержание элементов в растительных объектах и почве с места их произрастания, мкг/г

Объект	Содержание, мкг/г			
	Макроэлементы	Микроэлементы	Токсичные элементы	Всего
<i>Горец войлочный</i>	50000	1240	0,3783	51240
Почва	24110	56469	38,04	80618
<i>Горец малый</i>	60413	1380	0,4395	61795
Почва	9170	38893	19,06	48082
<i>Горец почечуйный</i>	44639	716	0,4072	45356
<i>Горец перечный</i>	46675	1863	0,465	48539
Почва	43224	82298	24,2	125547

Как видно из таблицы 45, наибольшее количество минеральных веществ содержится в траве горца малого (61795 мкг/г), при этом, следует отметить, что количество элементов в почве с места его произрастания наименьшее среди анализируемых проб почвы (48082 мкг/г). Наиболее богатой минеральными веществами является почва с места заготовки горцев почечуйного и перечного (125547 мкг/г), однако, общее количество элементов в растениях примерно одинаково и значительно меньше (45356 и 48539 мкг/г соответственно), чем в почве.

Полученные результаты показывают неравномерность распределения элементов в пределах рода горец. Разница в количественном содержании неорганических веществ в растениях и почве с места их произрастания еще раз указывает на незначительную роль условий произрастания на элементный состав изучаемых видов.

Химический состав растений не всегда повторяет состав почв, с места их произрастания, что объяснимо избирательностью поглощения минеральных веществ в зависимости от физиологических и биохимических потребностей [20].

Для оценки возможного накопления в изучаемых растениях отдельных элементов, определяли коэффициенты биологического поглощения (Кбп), предложенные А.И. Перельманом, представляющие собой отношение количества элемента в растении к его в почве с места его произрастания [122, 187].

Таблица 46 - Распределение элементов, содержащихся в горцах, согласно классификации А.И. Перельмана

Группа элементов по Перельману	Виды горцев			
	войлочный	малый	почечуйный	перечный
Энергично накапливаемые $n \cdot 10^1 - n \cdot 10^2$	--	Mg, P, K	P	--
Сильно накапливаемые $n \cdot 10^0 - n \cdot 10^1$	Mg, P, K, Ca, Zn, Sr, Ba	Ca, Zn, Sr, Ba, Rb	K	Mg, P, K, Ca, Mn
Слабого накопления и среднего захвата $n \cdot 10^{-1} - n \cdot 10^0$	Mn, Mo, Cd	Mn	Mg, Ca	Rb, Mo, Hg
Слабого захвата $n \cdot 10^{-1} - n \cdot 10^{-2}$	Cu, Rb, Au	Ni, Cu, Mo, Au	Cu, Zn, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Au, Hg	Cu, Zn, Se, Au

Распределение элементов, присутствующих в изучаемых растениях, согласно классификации А.И. Перельмана приведено в таблице 46. выявлено, что минеральные соединения не одинаково накапливаются среди представителей рода *Persicaria* Mill.. Больше накопление характерно для Mg, P, K, Ca, Zn, Sr, Ba, Mn.

Элементы, которые не отражены в таблице, но обнаруженные в составе изучаемых видов, относятся к группе слабого и очень слабого захвата.

8.2. Микрорентгенспектральный анализ видов *Persicaria* Mill.

В материале анализируемых объектов за счет неупругих потерь энергии электронов зонда возникает рентгеновское излучение. Испускаемый мишенью рентгеновский спектр практически однозначно связан с атомным составом образца и позволяет достаточно точно определить содержание входящих в него элементов. Для определения элементного состава образца рентгеновское излучение, генерируемое образцом-мишенью, разлагается в спектр по длинам волн при помощи диспергирующего элемента [63, 77].

Исследование микроструктуры образцов часто сопровождается микрорентгенспектральным анализом, характерной особенностью которого является локальность – максимальная область возбуждения составляет 2 - 5 мкм. Ошибка измерений составляет не более 0,01%. Результаты микрорентгенспектрального исследования, в виде стандартных протоколов, где приведена фотография микроструктуры исследуемой области растительного образца, таблицы данных в весовом и атомарном соотношении и картины спектров приведены в приложении 8Б рисунки 1 – 6.

Все электронно-микроскопические исследования, представленные в данной работе, проведены в лаборатории электронной микроскопии ЦКП ФГБОУ ВО ВГУ. Для анализа были выбраны макроэлементы (калий, кальций и магний), характерные для изучаемых видов в высоких концентрациях (п. 8.1).

Анализируя сводные данные таблицы 47., видно, что наибольший процент в составе элементов имеет углерод и кислород, что объяснимо органической природой изучаемых образцов. Ведущим элементом для образца горца почечуйного является калий. Содержание калия в горцах земноводном (НФ), малом и перечном в два раза меньше, чем в горце почечуйном, а в горца

войлочном и горце земноводном наименьшее из всех объектов (0,8 и 0,9 атом.%, соответственно).

Таблица 47 -Содержание калия, кальция и магния в выделенной области образцов

Элемент	Содержание элементов, %											
	Горце почечуйный		Горце войлочный		Горце земноводный (ВФ)		Горце земноводный (НФ)		Горце малый		Горце перечный	
	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.
С К	33,8	42,8	46,4	55,0	46,2	54,6	48,4	57,2	29,9	38,6	16,5	22,2
О К	54,6	51,9	47,2	42,0	48,8	43,3	45,1	40,0	57,1	55,3	72,1	72,7
Mg К	2,7	1,7	2,8	1,6	1,2	0,7	1,9	1,1	3,9	2,5	1,7	1,2
К К	7,7	3,0	2,5	0,9	2,3	0,8	3,3	1,2	5,8	2,3	5,8	2,4
Ca К	1,1	0,4	1,2	0,4	1,5	0,5	1,2	0,4	3,2	1,2	3,7	1,5

Наибольшее содержание магния необходимо отметить в горце малом (2,5 атом.%), в остальных объектах количество магния примерно одинаково (1,2 – 1,7 атом.%), наименьшее наблюдается в траве горца земноводного (0,7 атом.%). Больше содержание кальция характерно для горцев малого и перечного (1,2 и 1,5 атом.% соответственно), в остальных видах его количество сходно и составляет около 0,5 атом.%.

Проводя сравнение полученных результатов с данными хроматомассспектрометрического анализа (для горцев почечуйного, войлочного, малого и перечного), нужно отметить расхождение значений. Так, калий в большем количестве характерен для горца перечного (3142 мг/кг), а кальций для горца войлочного (20847 мг/кг). Магний в большем количестве содержится в горце малом (10987 мг/кг), что коррелирует с данными РЭМ.

Подобное расхождение, на наш взгляд, можно объяснить особенностями и отличиями методов анализа. РЭМ дает возможность определения количества элементов в конкретной выделенной области объекта (конкретной морфологической части растения, например, листа), в то время как хроматомасспектрометрия позволяет получить обобщенные и усредненные данные для конкретного вида растительного сырья (травы). В частности, магний, являясь структурной единицей хлорофилла, присутствует в большей степени в

листьях, а кальций, являясь составной частью не только клеточных стенок, но и друз оксалата кальция встречается во всех морфологических органах (листья, стебли, цветки).

Возможность данного метода, одновременно с микроскопическим анализом, определить элементный состав, включая обширный спектр элементов (в т.ч. и тяжелых металлов), и отсутствие многоуровневой пробоподготовки, позволяет использовать данный метод в фармацевтическом анализе, в качестве экспрессного.

8.3. Определение содержания кальция и магния в водном извлечении на примере травы горца почечуйного

Все изучаемые объекты содержат значительное количество кальция (Ca) и магния (Mg), играющих не последнюю роль в биохимических процессах организма, что особенно актуально при увеличении заболеваемости, связанных с нарушением обмена макроэлементов, в этом аспекте важно изучение лекарственных растений, являющихся дополнительными источниками жизненно необходимых элементов, представленных в легко усваиваемой форме.

В настоящее время количественное содержание кальция и магния в фармацевтических субстанциях, ЛРС определяют с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС). Метод ААС, не смотря на высокую чувствительность, имеет ряд недостатков, заключающихся в необходимости приобретения дорогостоящего оборудования и комплектующих, стандартных образцов, трудоемкость и длительное время исследования [160].

Более экономически выгодным и доступным методом определения ионов Ca и Mg в ЛРС является комплексометрическое титрование с применением специфичных металлоиндикаторов [39, 96, 177]. Для реализации данного метода, изучаемые ионы извлекают из ЛРС путем экстракции 10% раствором хлористоводородной кислоты. Полученное извлечение титруют трилоном Б в

присутствии мурексида или хромового темно – синего для Ca и пирокатехинового фиолетового для Mg [64, 87, 155, 157, 162, 166, 183].

С помощью описанной выше методики [177, 184] были определено содержание кальция и магния на примере травы горца почечуйного. В результате анализа содержание Ca в извлечении из горца почечуйного травы при экстракции 10% раствором соляной кислоты составило $0,237 \pm 0,009\%$, в водном извлечении – $0,011 \pm 0,001\%$. Ионы Mg обнаружены не были, что может быть объяснимо тем, что Ca, выходя из растительного сырья, способствует снижению экстрагируемости ионов Mg.

Данный способ дает возможность определения свободных элементов, в то время как изучаемые элементы могут находиться в растении в виде растворимых солей (соединения Ca в виде оксалата) и др., и в связанном виде (Ca – как компонент клеточных оболочек, Mg – в составе структуры хлорофилла и др.) (рисунок 117).

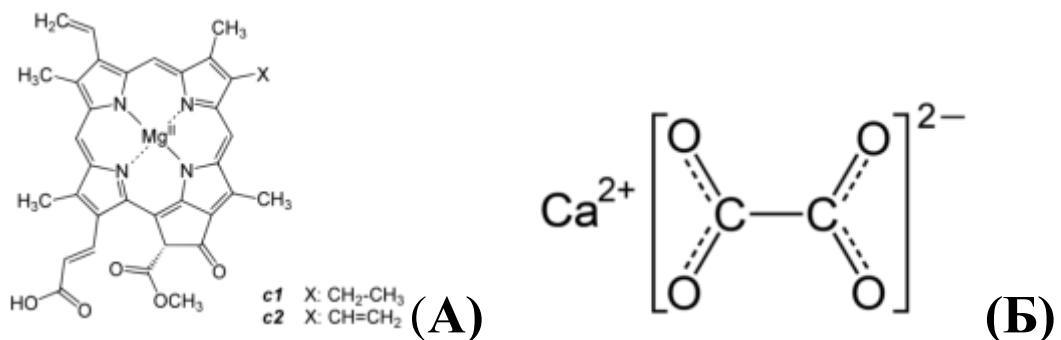


Рисунок 117 - Структурные формулы хлорофилла (А) и кальция оксалата (Б)

Извлечение из высушенного растительного сырья ионов Ca²⁺ и Mg²⁺ посредством экстракции достаточно сложный процесс. В раствор способны переходить только соединения Ca и Mg, растворимые в используемом экстрагенте, так как этот процесс не способствует полному разрушению клеточных стенок и органелл клетки, где локализованы изучаемые элементы в качестве строительных. Кальций и магний также выступают составляющими ферментативного аппарата клетки, являющегося высокомолекулярными веществами (биополимерами), которые не могут проходить сквозь мембраны клеток в процессе экстракции. Выходом из данной ситуации может выступать

сжигание ЛРС при температуре 500°C с последующим прокаливанием в целях его озоления, что способствует полной минерализации не только кальция и магния, локализованных в клеточном соке, но и сложных соединений, включенных в клеточные стенки и органеллы.

8.3.1. Разработка методики количественного определения кальция и магния в траве горца почечуйного

Для проведения эксперимента получали сумму минеральных соединений их горца почечуйного травы посредством ее озоления.

Озоление горца почечуйного травы проводили посредством сжигания и последующим прокаливанием в муфельной печи по методике действующей на момент проведения исследования ГФ XI изд. [55]. Далее ионы Ca и Mg извлекали посредством растворения полученной золы в 10% растворе хлороводородной кислоты.

Осаждение ионов Mg для упрощения определения содержания Ca, проводили посредством добавления к солянокислому раствору натрия гидроксида, выпавший осадок отделяли фильтрованием и фильтрат использовали в дальнейшей работе.

Отработку методики количественного определения Ca и Mg проводили на субстанциях, содержащих изучаемые элементы (таблицы 48, 49, рисунок 118).

Таблица 48 - Выбор оптимального индикатора, чувствительного к определяемому элементу

Характеристика индикатора	Определение кальция		Определение магния
	Эриохром черный Т	Хромоген темно-синий	Пирокатехиновый фиолетовый
Не специфичен	Чувствителен к иону Ca в присутствии Mg	Чувствителен к иону Mg	

Таблица 49 - Оптимальные условия количественного определения ионов кальция и магния

Этап работы, условия	Ca ²⁺	Mg ²⁺
Озоление	2 часа при t=500°, до постоянной массы	
Очистка от сопутствующих соединений	Растворение в 10 % HCl	
Очистка от ионов Mg ²⁺	Доведение раствором натрия гидроксида 30% до сильно щелочного pH и отфильтровывание осадка	
Оптимизация pH	pH = 11-12	pH = 8-9
Индикатор	Эриохром темно-синий	Пирокатехиновый фиолетовый
Титрование	Титрование 0,05 М Трилоном Б	
Переход окраски индикатора	От розовато-сиреневой до фиолетово-синей	От сине-зеленой в темно-вишневую

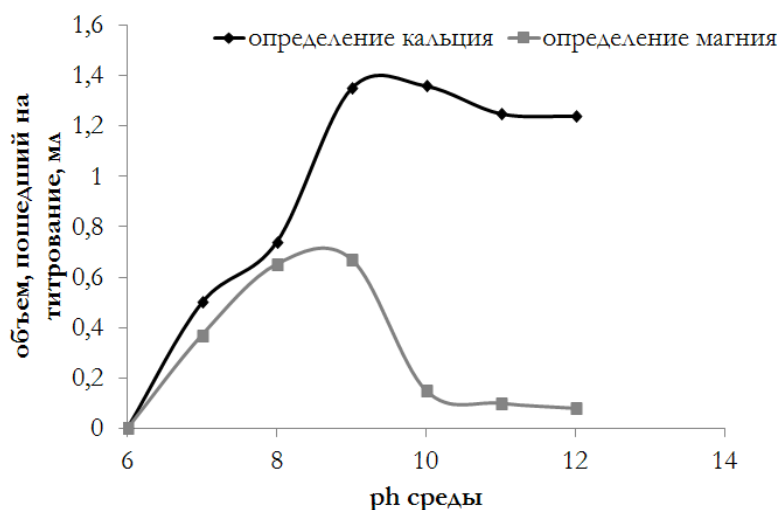


Рисунок 118 - Зависимость объема, пошедшего на титрование кальция и магния, от pH среды

Методика определения содержания кальция и магния в горца почечуйного траве

1.Подготовки золы из лекарственного растительного сырья.

Точную навеску растительного сырья измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм помещали в предварительно взвешенный и прокаленный тигель и сжигали при температуре 500⁰С в муфельной печи. Прокаливание проводили до постоянной массы. Точную

навеску золы (около 0,2 г) растворяли в мерной колбе объемом 50 мл в 10% растворе хлористоводородной кислоты, далее доводили до метки 10% раствором хлористоводородной кислоты, перемешивали и фильтровали через беззольный фильтр «Синяя лента», первые 20 мл фильтрата отбрасывали.

2. Количественное определение содержания кальция

Аликвоту (10 мл) помещали в колбу для титрования конической формы объемом 100 мл, добавляли 0,1 мл 30% раствора едкого натра и аммиачный буферный раствор до pH 11-12 (по универсальной индикаторной бумаге) до момента выпадения солей магния в осадок, который затем отфильтровывали. В фильтрате устанавливали содержание кальция, титруя 0,025 М раствором трилона Б в присутствии нескольких крупинок индикатора хромового темно-синего до перехода окраски от розовато-сиреневой до сине - фиолетовой.

Содержание кальция в ЛРС (X) в % рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot V_k \cdot 100}{a \cdot V_a} \cdot \frac{m}{100}$$

где V – объем 0,025 М раствора трилона Б, пошедшего на титрование, мл,

K – поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T – титр по определяемому веществу, равный 0,001 г/мл;

V_k – объем мерной колбы, взятой для разведения, мл;

a – масса золы, г;

V_a – объем аликвоты, взятой на анализ, мл.

m – содержание золы общей в образце ЛРС, %

3. Количественное определение содержания магния

Аликвоту (10 мл) помещали в колбу для титрования конической формы объемом 100 мл, добавляли 0,1 мл 30% раствора едкого натра до pH 9-10, 0,1 мл аммиачного буферного раствора, и титровали 0,025 М раствором трилона Б в присутствии индикатора пирокатехинового фиолетового до изменения окраски от сине-зеленой в темно-вишневую.

Содержание магния в ЛРС (X_2) рассчитывали по формуле:

$$X_2 = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot V_k \cdot 100}{a \cdot V_a} \cdot \frac{m}{100}$$

где V – объем 0,025 М раствора трилона Б, пошедшего на титрование, мл,

K – поправочный коэффициент, к концентрации титранта;

T – титр по определяемому веществу, равный 0,006 г/мл;

V_k – объем мерной колбы, взятой для разведения, мл;

a – масса золы, г;

V_a – объем аликвоты, взятой на анализ, мл.

m – содержание золы общей в образце ЛРС, %

Метрологические характеристики разработанной методики представлены в таблице 50.

Таблица 50 - Метрологические характеристики методики комплексонометрического определения кальция и магния в горца почечуйного траве после озоления ($n=6$; $P=0,95$)

Определяемый элемент в золе, %	Параметры					
	\bar{x}	S^2	S	S_{γ}	$\pm \Delta X$	$\bar{\varepsilon}, \%$
Содержание Ca^{2+}	2,460	0,0014	0,037	0,015	0,039	1,60
Содержания Mg^{2+}	0,179	$9,6 \cdot 10^{-6}$	0,0031	0,00125	0,0033	1,84

8.2.2. Валидация комплексонометрической методики определения кальция и магния

Валидацию разработанной комплексонометрической методики проводили в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV изд. [53].

Специфичность определяли комплексонометрическим титрованием раствора 10% соляной кислоты (плацебо) с последующим доведением до необходимого рН и добавлением в качестве индикатора кислотного хрома темно – синего для определения кальция и пирокатехинового фиолетового для магния. Изменение окраски раствора происходило при добавлении 1 капли титранта, что свидетельствует о специфичности методики.

Правильность методики устанавливали на модельных смесях с раствором кальция хлорида методом «введено-найдено». Модельные смеси готовили трех концентраций. Полученный средний процент восстановления для трех концентраций в трех повторностях составил 99,05% для магния и 98,30% для кальция, что соответствует критериям приемлемости ($100 \pm 2\%$). Результаты определения правильности методики представлены в таблицах 51, 52.

Таблица 51 - Результаты определения правильности метода количественного определения кальция в траве горца почечуйного

Содержание кальция в пробе	Добавлено кальция, г	Ожидаемое содержание, г	Полученное содержание, г	Воспроизводимость, %
0,00023	0,00033	0,00056	0,00054	96,43
	0,00033	0,00056	0,00055	98,21
	0,00066	0,00089	0,00087	97,75
	0,00066	0,00089	0,00089	100,00
	0,00132	0,00155	0,00154	99,35
	0,00132	0,00155	0,00152	98,06
Среднее				98,30

Определение сходимости выполняли в одних условиях на одном образце золы травы горца почечуйного в 6 параллельных определений. Относительное стандартное отклонение RSD не превысило 2%. Результаты определения сходимости представлены в таблице 53.

Таблица 52 - Результаты определения правильности метода количественного определения магния в траве горца почечуйного

Содержание магния в пробе	Добавлено магния г	Ожидаемое содержание, г	Полученное содержание, г	Воспроизводимость, %
0,000186	0,000876	0,001062	0,00105	98,87
	0,000876	0,001062	0,001068	100,56
	0,001752	0,001938	0,001872	96,60
	0,001752	0,001938	0,00192	99,07
	0,003504	0,00369	0,00369	100
	0,003504	0,00369	0,00366	99,20
Среднее				99,05

При определении воспроизводимости анализируемой методики, анализ проводили два исследователя, выполняя по 6 параллельных определений. Результаты представлены в таблицах 54, 54.

Установленная на данном этапе эксперимента величина относительного стандартного отклонения не превышает 5%, что показывает прецизионность анализируемой методики.

Таблица 53 - Результаты определения сходимости методики количественного определения кальция магния в траве горца почечуйного

№	Содержание кальция, %	Относительное стандартное отклонение, %	Содержание магния, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	2,35	-4,47	0,174	-2,79
2	2,51	+2,11	0,184	+2,79
3	2,51	+2,11	0,180	+0,55
4	2,44	-0,73	0,172	-3,91
5	2,54	+3,25	0,180	+0,55
6	2,42	-1,62	0,185	+3,35
Среднее	2,46	2,38	0,179	2,32

Таблица 54 - Определение воспроизводимости методики количественного определения кальция в траве горца почечуйного

№	Исследователь 1		Исследователь 2	
	Содержание кальция, %	Относительное стандартное отклонение, %	Содержание кальция, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	2,35	-4,47	2,21	-5,08
2	2,51	+2,11	2,24	-5,08
3	2,51	+2,11	2,51	+6,35
4	2,44	-0,73	2,26	-4,24
5	2,54	+3,25	2,48	+5,08
6	2,42	-1,62	2,46	+4,43
Среднее	2,46	2,38	2,36	5,00

Для подтверждения линейности методик и определения аналитических областей была получена градуировочная зависимость объема титранта от количества аликвоты, взятой на анализ. Согласно полученным данным - методика

линейна. На рисунках 119, 120 представлены градуировочные зависимости величины объема титранта от аликвоты для кальция и магния.

Таблица 55 - Определение воспроизводимости методики количественного определения магния в траве горца почечуйного

№	Исследователь 1		Исследователь 2	
	Содержание магния, %	Относительное стандартное отклонение, %	Содержание магния, %	Относительное стандартное отклонение, %
1	0,174	-2,79	0,175	-2,50
2	0,184	+2,79	0,183	+1,94
3	0,180	+0,55	0,177	-1,39
4	0,172	-3,91	0,181	+0,83
5	0,180	+0,55	0,182	+1,39
6	0,185	+3,35	0,179	-0,28
Среднее	0,179	2,32	0,180	1,39

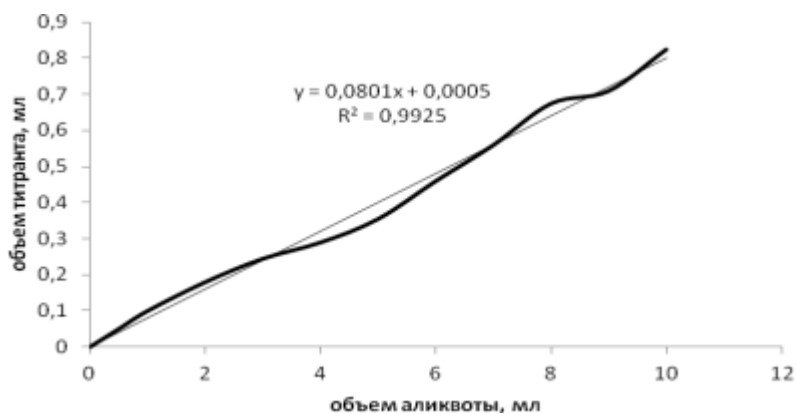


Рисунок 119 - Градуировочная зависимость объема титранта от аликвоты для количественного определения кальция

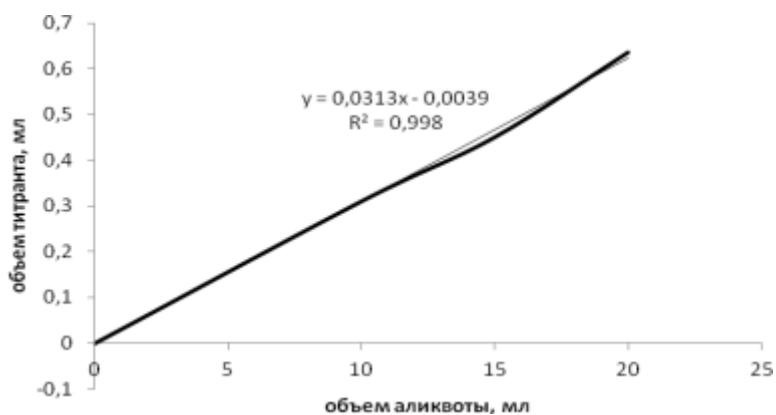


Рисунок 120 - Градуировочная зависимость объема титранта от аликвоты для количественного определения магния

Таким образом, полученные результаты показывают, что разработанная комплексонометрическая методика количественного определения Ca и Mg валидна (таблица 56). Разработанная методика отличаются доступностью, простотой выполнения, не требует временных и экономических затрат.

Таблица 56 - Валидационные характеристики методики количественного определения кальция и магния в траве горца почечуйного

Характеристика	Значение для Ca ²⁺	Значения для Mg ²⁺
Специфичность	+	+
Правильность	% восстановления методики 98,3 %	% восстановления методики 99,05 %
Сходимость	Относительное стандартное отклонение 2,38%	Относительное стандартное отклонение 2,32%
Воспроизводимость	Относительное стандартное отклонение 2,38% и 5%	Относительное стандартное отклонение 2,33% и 1,39%
Линейность	$y=0,0801x+0,0005$; $R^2=0,9925$	$y=0,0313x - 0,0039$; $R^2=0,9980$

С помощью разработанной методики было определено содержание кальция и магния в траве горца почечуйного, заготовленной в Воронежской области в период с 2015 – 2017 гг. (таблица 57).

Таблица 57 -Содержание кальция и магния в золе и траве горца почечуйного

Год заготовки	Зола, %	Содержание Ca ²⁺ в золе, %	% от общей золы	Содержание Ca ²⁺ в растении, %	Содержание Mg ²⁺ в золе, %	% от общей золы	Содержание Mg ²⁺ в растении, %
2015	8,0±0,6	2,46±0,30	30,75	0,12±0,01	0,18±0,01	2,22	0,030±0,001
2016	10,3±0,9	5,65±0,40	54,85	0,58±0,02	0,16±0,02	1,52	0,020±0,001
2017	12,3±0,6	4,23±0,20	34,39	0,52±0,02	0,18±0,01	1,49	0,020±0,001

Содержание кальция колеблется от 2,46 % до 5,65% в золе, от 0,12% до 0,58% в растении. Ошибка среднего определения с 95% вероятностью не более 1,60%. Содержание магния от 0,15% до 0,18% в золе и от 0,02 до 0,03 % в растении. Ошибка среднего определения с 95% вероятностью не более 1,84%.

Разработанная методика была апробирована при сравнительном изучении содержания кальция и магния в других представителях рода горец – горцах

щавелистном, шероховатом, Бриттингера, войлочном, узловатом, перечном, малом, земноводном (водная и наземная формы).

При оценке доли, приходящейся на Са (таблица 58), видно, что наибольший его процент от общего содержания золы характерен для горцев перечного, щавелелистного и войлочного. Необходимо отметить, что при оценке содержания Са в растительном сырье, наблюдается другая картина: больше всего Са обнаружено в траве горца почечуйного (0,76%), а меньшее в траве горца щавелелистного (0,23%) (в три раза).

Таблица 58 - Содержание кальция в золе и лекарственном растительном сырье на примере рода горец

Объект исследования	Содержание кальция в золе, %	% от общей золы	Содержание кальция в растении, %
Горец почечуйный	4,78±0,20	29,88	0,76±0,05
Горец щавелелистный	3,78±0,10	62,27	0,23±0,01
Горец шероховатый	3,57±0,20	33,36	0,38±0,02
Горец Бриттенгера	2,69±0,20	20,38	0,36±0,02
Горец узловатый	1,82±0,10	13,38	0,25±0,02
Горец войлочный	5,12±0,30	51,72	0,51±0,03
Горец земноводный (НФ)	4,00±0,20	47,85	0,33±0,02
Горец земноводный (ВФ)	3,16±0,10	31,57	0,32±0,02
Горец перечный	4,86±0,20	64,80	0,36±0,02
Горец малый	4,01±0,20	27,85	0,58±0,03

Наибольшее содержание доли Mg (таблица 59) наблюдается в золе из травы горца щавелелистного, для обеих форм горца земноводного и горца почечуйного. Однако, в пересчете на растительное сырье, большее количество магния характерно для травы горца малого (0,04%), почечуйного (0,03%) и узловатого (0,03%).

Не смотря на то, что содержание макроэлементов кальция и магния в растениях значительно ниже суточной потребности организма в них, они могут служить их дополнительными источниками.

Таблица 59 - Содержание магния в золе и лекарственном растительном сырье на примере рода горец

Объект исследования	Содержание магния в золе, %	% от общей золы	Содержание магния в растении, %
Горец почечуйный	0,20±0,02	2,00	0,030±0,005
Горец щавелелистный	0,19±0,01	3,13	0,010±0,005
Горец шероховатый	0,18±0,01	1,68	0,020±0,005
Горец Бритеннгера	0,15±0,01	1,17	0,020±0,005
Горец узловатый	0,20±0,01	1,50	0,030±0,005
Горец войлочный	0,14±0,01	1,37	0,010±0,005
Горец земноводный (НФ)	0,19±0,01	2,32	0,020±0,005
Горец земноводный (ВФ)	0,21±0,01	2,08	0,020±0,005
Горец перечный	0,16±0,01	2,13	0,010±0,005
Горец малый	0,28±0,02	1,98	0,040±0,005

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 8

1. Методом хроматомассспектрометрии с индуктивно связанной плазмой в представителях рода горец впервые идентифицировано 56 элементов. Показано, что накопление элементов среди представителей рода не однородно. Наибольшая аккумуляция характерна для Mg, P, K, Ca, Zn, Sr, Ba, Mn.

2. Установлено, что содержание тяжелых металлов и мышьяка находится в пределах, установленных НД. Однако, учитывая, что заготовка растительного сырья проводится от дикорастущих представителей, что не дает возможности регулирования минерального состава почв, необходимо обратить внимание на разработку ПДК для микроэлементов, входящих в состав изучаемых объектов.

3. Методом РЭМ установлено содержание калия, кальция и магния в растительном сырье. Больше количество магния характерно для горца малого, кальция – для горца перечного, а калия – для горца почечуйного. Показана перспективность использования метода РЭМ, сочетающего возможность изучения морфологии и определения элементного состава, включая обширный спектр элементов (в т.ч. и тяжелых металлов), с отсутствием многоуровневой пробоподготовки, в фармацевтическом анализе, в качестве экспрессного для оценки подлинности и качества растительного сырья.

4. Подобраны оптимальные условия и разработана методика количественного определения содержания кальция и магния в растительных объектах с помощью комплексометрического титрования после их озоления и прокаливания (заявка на изобретение №2015102880 от 28.01.15).

5. Проведенные исследования показали валидность разработанной методики по показателям подлинность, прецизионность (сходимость, воспроизводимость), специфичность, линейность.

6. Методика апробирована на 10 представителях рода горец в ходе сравнительного изучения содержания в них кальция и магния. Больше всего кальция обнаружено в траве горца почечуйного, а наименьшее - в траве горца щавелелистного (в три раза). Больше количество магния характерно для травы горца малого, почечуйного и узловатого.

**ГЛАВА 9. ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВИДОВ
РОДА *PERSICARIA* MILL.
(НА ПРИМЕРЕ *PERSICARIA MACULOSA* GRAY)**

Большинство представителей рода горец являются сорняками и достаточно широко распространены по всей территории России. Заготовка ЛРС от дикорастущих растений предусмотрена на территориях, удаленных от источников промышленного загрязнения. В существующих на настоящий момент инструкциях по организации сбора ЛРС отмечается, что заготовительный процесс запрещен в зонах промышленного загрязнения, в городах, рядом с автомобильными дорогами, однако, не указаны конкретные предельные допустимые расстояния от экологически неблагоприятных источников. В связи с отсутствием точной интерпритации этих рекомендаций, заготовка ЛРС может осуществляться в зоне техногенного воздействия предприятий [56], поэтому, установление показателей, характеризующих экологическую безопасность ЛРС, приобретает весомое значение.

В Российской Федерации требования к оценке безопасности ЛР и фитопрепаратов на их основе, сформулированы в «Руководстве по стандартизации лекарственных средств» (2009), а также в ОФС ГФ РФ XIII – XIV изданий [50 - 54]. В соответствии с этими документами определяется содержание токсичных элементов (свинец, ртуть, кадмий, мышьяк), пестицидов (гексахлорцикло-гексан, ДДТ и его метаболиты, гептахлор, алдрин и др.), радионуклидов (цезий-137 и стронций-90), а так же микробиологическая чистота сырья.

Учитывая, что значительная часть экотоксикантов обладают широким спектром токсических эффектов (включая канцерогенный, мутагенный, тератогенный и др.) определение их в растительных объектах и фитопрепаратах является важным показателем безопасности последних [110, 121, 198].

9.1. Определение пестицидов, токсичных элементов и радионуклидов

Изучение показателей безопасности представителей рода горец произрастающих в Воронежской обл., проводился на примере горца почечуйного - *Persicaria maculosa* Gray.

Растительный организм способен поглощать токсичные элементы (ТЭ) через корневую систему, а также листовой пластинкой из газопылевых выбросов и аэрозолей [16, 174]. Далее ТЭ попадают в клеточные структуры, кумулируются в них и способствуют значительному снижению содержания БАВ [129, 141]. Тяжелые металлы (ТМ) и мышьяк в процессе производства фитопрепаратов переходят в лекарственные растительные препараты, учитывая их высокую токсичность, они включаются в биохимические процессы, накапливаются в организме человека, представляя опасность даже в незначительных дозах. Длительное использование подобного ЛРС приводит к возникновению неспецифической патологии [10, 58, 66, 130, 149, 171].

Из почвы в растения через подземные органы могут поступать радиационные изотопы. В качестве наиболее опасных источников загрязнения ЛРС выступают АЭС, хранилища и предприятия, перерабатывающие радиационные отходы [285]. В Фармакопее некоторых стран (США, Европа) включен такой параметр как «Радиоактивная контаминация», в соответствии с которым, в случае необходимости, оцениваются риски загрязнения ЛРС радионуклидами [95, 158]. В каждую ФС ГФ РФ XIII и XIV изд. включен показатель «Радионуклиды», «Остаточные количества пестицидов» и «Тяжелые металлы и мышьяк» и разработаны соответствующие ОФС.

Поскольку ЛРС должно отвечать стандартам не только качества, но и безопасности, на примере травы горца почечуйного было определено содержание тяжелых металлов и мышьяка, остаточных пестицидов и радионуклидов с помощью методик, описанных НД [53, 55, 169]. Параллельно осуществляли анализ почвы с места произрастания горца почечуйного. Установлено, что

содержание пестицидов и радионуклидов в анализируемом сырье находилось на допустимом уровне (таблица 60).

Таблица 60 - Содержание пестицидов, радионуклидов и тяжелых металлов и мышьяка в траве горца почечуйного

Определяемые показатели	Трава горца почечуйного	Почва с места произрастания растения	Нормы содержания в ЛРС по НД (не более ...)
Тяжелые металлы, мг/кг			
свинец	0,62±0,130	8,65±1,810	6,00
кадмий	0,017±0,060	0,11±0,020	1,00
ртуть	0,004±0,002	0,014±0,004	0,10
мышьяк	0,032±0,008	1,96±0,37	0,50
Пестициды, мг/кг			
ДДТ и его метаболиты	менее 0,007	менее 0,007	0,10
ГХЦГ (α, β, γ-изомеры)	менее 0,001	менее 0,001	0,10
Радионуклиды, Бк/кг			
Цезий-137	менее 0,001	менее 0,001	400,00
Стронций-90	менее 0,001	менее 0,001	200,00

9.2. Определение присутствия плесневых грибов, микотоксинов и микробиологической чистоты

Лекарственные растения, относятся к объектам, наиболее загрязненным различными микроорганизмами, вирусами, плесневыми грибами. При этом заражению может подвергаться не только ЛРС, но почти все субстанции и лекарственные растительные препараты [155]. В связи с чем, микробиологическая чистота является важнейшим показателем безопасности применения ЛРС и ЛРП, получаемых из него, особенно отваров и настоев [44, 178].

Трава горца почечуйного, используемая для изготовления водных извлечений, в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота» [198]

относится к категории 4А «Лекарственные растительные препараты и лекарственное растительное сырье, применяемые в виде настоев и отваров, приготовленных с использованием кипящей воды».

Таблица 61 - Микробиологическая чистота травы горца почечуйного, заготовленного в Воронежской обл.

Определяемые микроорганизмы	Содержание в траве горца почечуйного	Требования НД		
		ГФ РФ		СанПиН 2.3.2.1078-01 [149]
		категория 4А	категория 3Б	
КМАиФАМ, КОЕ/г	$7 \cdot 10^3$	Не более 10^7 КОЕ/г	не более 10^4	$5 \cdot 10^5$
БГКП (коли-формы) в 0,01 г	Не обнаружены	Не более 10^2 КОЕ/г	Отсутствие <i>Escherichia coli</i> в 1 г	Отсутствие в 0,01 г
<i>S. aureus</i> в 0,1 г	Не обнаружены	---	Отсутствие в 1 г	---
Патогенные (в т.ч. сальмонеллы) в 25 г	Не обнаружены	---	Отсутствие <i>Salmonella spp.</i> в 10 г	Отсутствие в 10 г
Дрожжи, КОЕ/г	115	Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^5	Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2	100
Плесени, КОЕ/г	30			10^3

Полученные результаты (таблица 61) показали, что изучаемый объект соответствует требованиям ОФС «Микробиологическая чистота» [53, 149, 198], т.е. в процессе заготовки, сушки, приведения в стандартное состояние и хранения подвержен микробной контаминации в пределах установленных норм и может быть использован в официальной медицине для получения водных лекарственных форм.

В настоящее время проблема зараженности растительного сырья продуктами метаболизма микроскопических плесневых грибов и микроорганизмов является одной из важнейших для фармации. Из наиболее распространенных в умеренном климате плесневых микромицетов, паразитирующих на растениях, выделяются представители класса дейтеромицетов [75]. Микотоксины, продуцируемые данным классом плесневых грибов (альтернариалы, тенуазоновая кислота, фумонизины и др.), обладают разносторонними токсическими эффектами [105]. Для здоровья человека

опасность также представляют *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus*, продуцирующие афлатоксин и охратоксин (производные дифуранкумарина), а также представители рода *Fusarium*, выделяющие зеараленон, Т-2 токсин и vomitоксин (дезоксиниваленол (ДОН)). Микотоксины, продуцируемые данными микромицетами устойчивы к действию высокой температуры (более 200 °С), высушиванию, замораживанию, воздействию разного рода излучений (исключение составляет ДОН, частично инактивируемый под действием ультрафиолетовых лучей). Медленно кумулируясь в организме, микотоксины через некоторое время могут вызвать разные тяжелые заболевания [28]. В настоящее время в РФ, документа, нормирующего содержание микотоксинов в ЛРС и ЛРП не существует.

При изучении микропрепаратов из высушенного ЛРС горцев, помимо характерных диагностических признаков, визуализировались структуры овальной или обратно яйцевидной формы, идентифицированные как тела (конидии) конидиальной стадии дейтеромицетов (микроскопические плесневые грибы). На листьях, цветках и пленчатых раструбах горца почечуйного были обнаружены многочисленные многоклеточные конидии с поперечными и продольными перегородками, темного цвета. Верхний конец конидии вытянут в длинный «носик» (рисунок 122). По строению конидий, данный гриб-паразит был отнесен к роду альтернания [105]. С помощью окуляра-микрометра были определены средние размеры конидий: длина составила $58,25 \pm 5,7$ мкм, ширина $23,3 \pm 2,5$ мкм, длина «носика» $23,3 \pm 3,1$ мкм. Частота встречаемости конидий составила от 1-2 до 10-15 в поле зрения микроскопа (201 мкм^2). Кроме того, на листьях горца почечуйного были обнаружены конидии иного строения: многоклеточные, вытянутой, цилиндрической формы. Конидии довольно крупные, длина их составляет около $75 \pm 7,7$ мкм, ширина $18,64 \pm 3,2$ мкм. По строению конидий данный возбудитель был отнесен к роду гельминтоспорий (рисунок 121).

Чтобы исключить зараженность высушенного сырья за время его хранения, анализу были подвергнуты свежесобранные объекты. При этом, на листьях горца почечуйного, были также обнаружены конидии, характерные для плесневого

гриба рода альтернария, что говорит о возможности зараженности растения непосредственно на месте его произрастания.

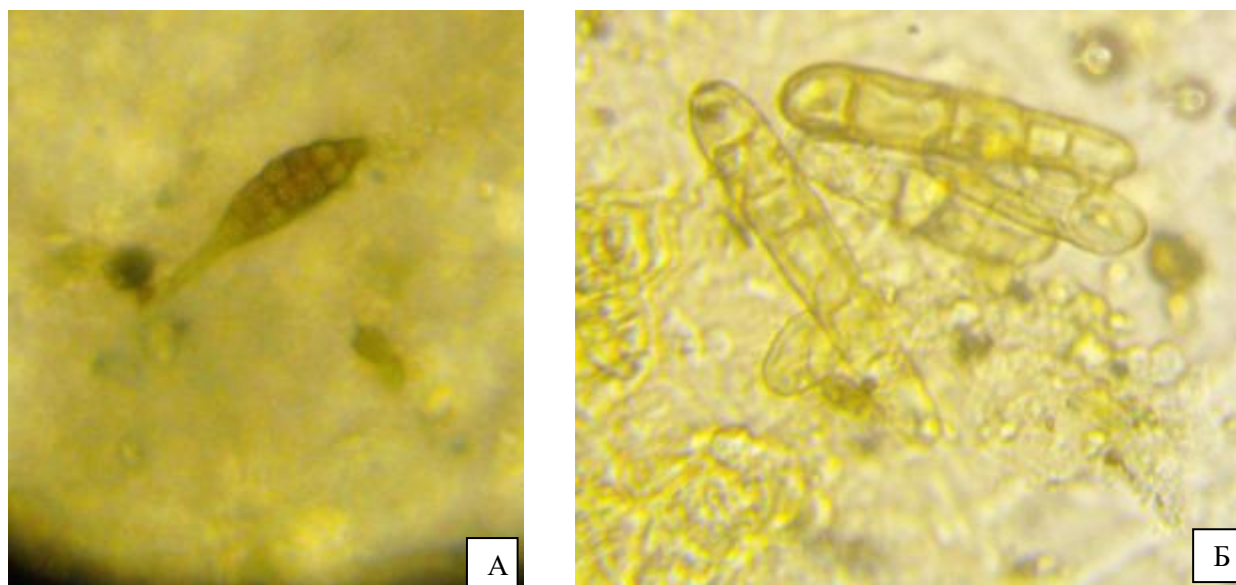


Рисунок 121 - Микропрепарат раструба горца почечуйного. Конидии альтернарии (А) и гелиминтоспория (Б), ув. x400

Применение в медицинских целях сырья, зараженного плесневыми грибами, в частности, представителями рода альтернария, может вызывать аллергические реакции, грибковые заболевания (микозы) у людей и животных, обычно на фоне снижения естественной резистентности организма. *A. alternata* способен вызывать кожные и подкожные инфекции; онихомикозы (поражения ногтей), а также обострение некоторых хронических заболеваний [58, 105].

Учитывая, что в Центральном Черноземье наиболее часто паразитирующими микромицетами являются представители дейтеромицетов (*Deuteromycetes*), разработка способов (ВЖЭХ, иммуноферментный анализ и др.), позволяющих определить их присутствие в ЛРС и ЛРП, особенно актуальна. Одним из путей решения данного вопроса может служить первичный микроскопический скрининг растительных объектов с целью выявления и последующей идентификации паразитирующего микромицета по строению конидий. Кроме того, в случае установления корреляционной связи между

количественным содержанием микотоксина, представляющего угрозу для здоровья человека, продуцируемого грибом, и числом особей возбудителя на единицу площади микропрепарата, визуализированным под микроскопом, будет возможна выбраковка сырья на этапе микроскопического анализа, без использования дорогостоящего оборудования.

В настоящее время, в пищевой промышленности регламентируется содержание таких микотоксинов, как афлотоксин В, охратоксин А, Т-2 токсин, зеараленон и ДОН. В России предельно допустимые концентрации охратоксина А в пищевых продуктах регулируются на основании СанПиНа 2.3.2.2401-08 «Дополнения и изменения № 10 к СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» [149]. Однако, нормы содержания охратоксина А и других микотоксинов в ЛРС до сих пор не установлены.

Были проведены испытания травы горца почечуйного на содержание наиболее распространенных и токсичных для человека микотоксинов и сравнение полученных результатов с нормами, установленными для пищевых продуктов (таблица 62).

Таблица 62 - Содержание микотоксинов в траве горца почечуйного

Микотоксин	Содержание, мг/кг	Норма, мг/кг (не более) [149]
Афлатоксин В ₁	Менее 0,002	0,005
Охратоксин А	Менее 0,005	0,005
Т-2	Менее 0,02	0,1
Зеараленон	Менее 0,02	0,2
ДОН	Менее 0,222	0,7

Установлено, что в траве горца почечуйного содержание афлотоксина В, охратоксина А, Т-2 токсина, зеараленона и ДОН не превышает допустимые нормы, приведенные в СанПиНе 2.3.2.2401-08.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 9

1. Установлено, что содержание экотоксикантов (радионуклидов, тяжелых металлов, мышьяка, остаточных количеств пестицидов) в траве горца почечуйного, произрастающего в Воронежской обл., находится на уровне, допустимом НД. Микробиологическая чистота сырья, используемого для изготовления водных извлечений, также соответствует требованиям НД.

2. В результате микроскопического анализа надземной части горца почечуйного, выявлена зараженность плесневыми грибами класса дейтеромицетов. Показана целесообразность разработки методик оценки уровня микотоксинов, продуцируемых плесневыми грибами рода альтернария в ЛРС.

3. Содержание микотоксинов (афлотоксин В, охратоксин А, Т-2 токсин, зеараленон и ДОН) в траве горца почечуйного не превышает величин, установленных требованиями СанПиН 2.3.2.1078-01.

4. На основании проведенного исследования показана необходимость дальнейшей работы по определению микотоксинов в ЛРС и включению данного показателя в современную НД на ЛРС и ЛРП.

ГЛАВА 10. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ, КАПИЛЛЯРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ЖИДКИХ ЭКСТРАКТОВ ТРАВЫ ГОРЦЕВ ПОЧЕЧУЙНОГО, ЩАВЕЛЕЛИСТНОГО И ПЕРЕЧНОГО

Трава горца почечуйного и трава горца перечного издавна применялись в виде настоя как кровоостанавливающих средств, что, очевидно, связано с влиянием на организм комплекса БАВ (флавоноиды, дубильные вещества, филлохинон, соли кальция). Через аптечную сеть подлежит реализации лекарственный растительный препарат «Горца почечуйного трава», «Горца перечного трава» и «Горца перечного травы экстракт жидкий» [142]. В 50-х гг. XX столетия в СССР выпускался жидкий экстракт травы горца почечуйного, в настоящее время готовые лекарственные формы (например, жидкий экстракт) из травы горца почечуйного отсутствуют. Учитывая возрастающую тенденцию к поиску среди представителей одного рода видов, имеющих сходную фармакологическую активность, перспективных в качестве новых источников фитопрепаратов, наиболее близким к горцу почечуйному в компонентном составе БАВ является горец щавелелистный.

Оценку вероятности наличия того или иного фармакологического эффекта, а также побочных эффектов проводили методом компьютерного моделирования *in silico* [59]. Для оценки активности изучаемых видов горцев использовали структурные формулы основных биологически активных соединений фенольной природы (флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества).

10.1. Оценка биологической активности видов рода *Persicaria* Mill.с помощью веб-ресурса PASS online

Одним из наиболее простых и экспрессных способов, позволяющих более или менее точно предположить наличие фармакологического эффекта, является метод *in silico*, позволяющий оценить вероятность эффекта с точностью 95%. Полученные данные представлены в Приложении 9. В таблицах 1 и 2 приведены

вероятности проявления в эксперименте «активности» (P_a) и «неактивности» (P_i) по убыванию их разности ($P_a > 0,7$). Данные актуализированы по состоянию на октябрь 2019 года.

Для выбранных компонентов характерны следующие виды активности: ингибиторы хлордеконредуктазы (исключение хлорогеновая кислота), агонисты целостности мембран (искл. рутин и хлорогеновая кислота), ингибиторы проницаемости мембран (искл. астрагалин и рутин) агонисты апоптоза (искл. рутин и эллаготанины), антигеморрагические средства (искл. кверцетрин, лютеолин, танины и хлорогеновая кислота), антиоксиданты (искл. лютеолин, эллаготанины), вазопротекторы (искл. кверцетрин, танины). ингибиторы оксидоредуктазы (искл. рутин, астрагалин, апигенин, танины и хлорогеновая кислота), удаляют свободные радикалы (искл. мирицитин), ингибиторы липопероксидазы (искл.кверцетрин, апигенин), кардиопротекторы (искл. кверцетрин, апигенин, лютеолин, танины, хлорогеновая кислота), противоопухолевые (искл. лютеолин) и др.

Геомостатической и гепатопротекторной активностью обладают источники гиперозида, кверцетрина, витексина и изорамнетина, астрагалин, рутин; против хрупкости капилляров – гиперозид, витексин и изорамнетин, астрагалин и рутин; вяжущий эффект характерен для мирицитина. Галлотанины участвуют в регуляции кальциевого обмена, а также отвечает за фибринолитический, иммунодепрессивный эффекты. Антогонисты холестерина – хлорогеновая кислота и галлотанины; антисептический эффект характерен для лютеолина; антипротозойный и противогрибковый эффекты – для рутина.

Наиболее вероятными из побочных эффектов можно выделить генотоксический и токсичный (сосуды) (у 57,1% соединений), токсичный (у 50,0% соединений), гемотоксичность, дрожание, язвенная болезнь (афтозная язва), воспаление, дрожание (у 42,8% соединений), нейротоксический, гипергликемический (у 28,6% соединений), абстинентный синдром (у 21,4% соединений), токсичный (желудочно – кишечный тракт), гиперхолестеринемия, диарея (у 14,3% соединений), остальные возможные побочные и токсические

эффекты установлены для 7,4% соединений (каждый эффект), токсический (дыхание), гемотоксический, мутагенный, нефротоксичный, кровавая рвота, репродуктивная дисфункция, изменение цвета мочи, подергивание, нарушение сна, паника, гипертония, мышечная слабость, слабость, одышка, некроз.

Учитывая химический состав изучаемых объектов, полученные данные *in silico*, опыт применения травы горца почечуйного в научной медицине, а других горцев - в народной медицине, для экспериментальной проверки на животных были выбраны гемостатическая и капилляропротекторная активности.

10.2. Получение и оценка качества жидких экстрактов из травы горца почечуйного и травы горца щавелелистного

Жидкие экстракты (1:1) травы горца почечуйного и травы горца щавелелистного получали в лабораторных условиях методом перколяции [82, 108, 128, 134, 145, 201] с использованием 70% спирта этилового и коэффициентом спиртопоглощения = 1, размер частиц сырья – 1мм [127].

Характеристика полученных лабораторных жидких экстрактов дана в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд. (ОФС 1.4.1.0021.15 Экстракты) [53]. Оценку содержания суммы флавоноидов в жидких экстрактах проводили согласно принципа «сквозной стандартизации» в ряду растительное сырье – лекарственный растительный препарат, по методикам адаптированным и валидированным к траве горца почечуйного и траве горца щавелелистного.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл экстракта, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доводили объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивали (испытуемый раствор). Через 40 минут измеряли оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл экстракта, доведенного спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора СО рутина, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутина, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в экстракте (X, г/мл) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 25 \cdot 1,0 \cdot P}{A_0 \cdot V \cdot 100 \cdot 25}$$

где A – оптическая плотность комплекса суммы флавоноидов испытуемого раствора с алюминия хлоридом; A₀ – оптическая плотность поглощения раствора СО рутина с алюминия хлоридом; a₀ – навеска стандартного образца рутина, г; V – аликвота экстракта, мл; P – объем лекарственной формы, мл.

Характеристики и показатели качества полученных жидких экстрактов представлены в таблице 63.

Таблица 63 - Характеристика жидких экстрактов 1:1 травы горца почечуйного и травы горца щавелелистного

Показатель	Жидкий экстракт травы горца почечуйного	Жидкий экстракт травы горца щавелелистного
Прозрачность	Слегка опалесцирующая жидкость	Слегка опалесцирующая жидкость
Цвет	Коричневато - зеленый	Зеленоватый
Запах	Специфический	Специфический
Вкус	Горьковато- вяжущий	Горьковато- вяжущий
Содержание спирта, %	66	65
Сухой остаток, %	6,8	11,2
Тяжелые металлы	Отсутствуют	
Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, мг/мл	9,8±0,5	16,0±0,7

Необходимо отметить, что в жидком экстракте травы горца щавелелистного (ЖЭ ГЩ) сухой остаток (11,2%) и содержание суммы флавоноидов (16 мг/мл) почти в два раза выше, чем в жидком экстракте травы горца почечуйного (ЖЭ ГП) (6,8% и 9,8 мг/мл соответственно). Это связано с видовыми особенностями растений и коррелирует с данными, полученными при изучении экстрактивных веществ и флавоноидов (гл. 6, 7) для исходного сырья.

10.3. Доклинические исследования по оценке гемостатической активности жидкого экстракта травы горца почечуйного и горца щавелелистного

Определение гемостатической активности ЖЭ ГП и ЖЭ ГЩ проводили в тесте «время остановки кровотечения». Для проведения эксперимента животные были разделены на 4 группы. Опытные группы животных получали суспензию сухого остатка изучаемых жидких экстрактов в свежеприготовленной 1% крахмальной слизи с помощью желудочного зонда. Контрольной группе животных изучаемые экстракты не вводились. Препаратом сравнения выступал жидкий экстракт горца перечного травы (ЖЭГПер) заводского производства.

Таблица 64 - Сравнительная характеристика кровоостанавливающей активности экстрактов травы горца перечного, горца почечуйного и горца щавелелистного в тесте «время остановки кровотечения» при краткосрочном курсовом применении на мышцах

Группа	Время остановки кровотечения, мин.	Кровопотеря, г
Контроль	5,97±0,738	0,004±0,001
ЖЭГПер	9,18±1,293	0,010±0,001
разница с контролем, %	+53,8	+39,1
ЖЭГП	4,93±0,775	0,050±0,040
разница с контролем, %	-17,4	-
ЖЭГЩ	7,08±1,029	0,004±0,001
разница с контролем, %	+18,6	-

Установлено, что ни один объектов исследования не оказывал значимого достоверного влияния на кровопотерю. Жидкие экстракты горца перечного и горца щавелелистного увеличивали время остановки кровотечения соответственно на 53,8% и 18,6%. Жидкий экстракт горца почечуйного недостоверно снижал время остановки кровотечения на 17,4%, что свидетельствует о наличии кровоостанавливающей активности слабой степени выраженности [188, 189].

10.4. Доклинические исследования по оценке капилляропротекторной активности жидких экстрактов травы горца почечуйного, горца щавелелистного и горца перечного

Изучение капилляропротекторной активности горцев проводили в тесте ксилоловых петехий на 30 белых аутбредных мышах-самцах и мышах-самках массой тела 20-27 г, не менее чем по 7 особей в каждой из групп. В эксперименте использовали модель повышенной сосудистой проницаемости кожи в тесте выхода трипанового синего в место воспаления. Животные были разделены на 4 группы. Контрольной группе мышей изучаемые экстракты не вводились. Остальным группам животных в течение трех дней с помощью внутрижелудочного зонда вводили образцы жидких экстрактов в дозе 50 мг/кг массы тела животного. Предварительно, жидкие экстракты упаривали под вакуумом для удаления спирта этилового, сухой остаток вводили в виде суспензии в свежеприготовленной 1% крахмальной слизи.

В момент проведения эксперимента, животным контрольной и опытных групп вводили 250 мкл 1% водного раствора трипанового синего и через 10 минут на заранее депилированный участок кожи передней брюшной стенки пипеткой наносили ксилол в количестве 50 мкл. Отмечали выход трипанового синего в очаг воспаления по времени начала появления и времени визуализации отчетливого окрашивания в месте нанесения ксилола [189]. Согласно литературным данным известно, что в контрольной группе животных появление отчетливого окрашивания обычно наблюдается в течение первых 2-3 мин. после нанесения ксилола.

Таблица 65 - Сравнительная характеристика капилляропротекторной активности жидких экстрактов горца перечного, горца почечуйного и горца щавелелистного на модели ксилоловых петехий при краткосрочном курсовом применении у мышей

Группа животных	Время появления окрашивания, мин.	Время отчетливого окрашивания, мин.	Кол-во животных без признаков отчетливого окрашивания в течение 15 мин., %
Контроль	2,91±1,081	4,09±2,579	20,0
ЖЭГПер	2,73±0,908	12,72±1,004	20,0
разница с контролем, %	-6,3	+30,7	0
ЖЭГП	5,35±0,00	13,84±1,158	80,0
разница с контролем, %	+83,3	+42,2	+60,0
ЖЭГЩ	6,47±1,334*	13,23±1,101	0
разница с контролем, %	+122,3 +2,22 раза	+35,9	-20,0

Примечание: * - $P < 0,05$ – достоверность различий в опытных группах по сравнению с контролем

В контрольной группе здоровых животных установлено (таблица 65), что время появления окрашивания составило не более 3-х мин., в среднем $2,91 \pm 1,081$ мин., время появления отчетливого окрашивания не более 4 мин (в среднем $4,09 \pm 2,579$ мин.), количество животных без признаков отчетливого окрашивания в течение 15 мин. составило 20%. Жидкий экстракт горца перечного не оказывал существенного влияния на количество животных без признаков отчетливого окрашивания в течение 15 мин. (20% так же как в контроле) и время появления окрашивания (в среднем $2,73 \pm 0,908$ мин., что на 6,3% меньше чем в контроле), но при том способствовал увеличению времени отчетливого окрашивания на 30,7% по сравнению с контролем. Жидкий экстракт горца почечуйного значительно увеличивал время появления окрашивания на 83,3%, время отчетливого окрашивания на 42,2% и количество животных без признаков отчетливого окрашивания на 60%, что свидетельствует о наличии капилляропротекторной активности. Жидкий экстракт горца щавелелистного так же являлся эффективным, значительно и достоверно увеличивая время появления окрашивания в 2,2 раза (максимально выраженный эффект по сравнению с

жидкими экстрактами горца перечного и почечуйного), время отчетливого окрашивания на 35,9%, существенно не влиял на количество животных без признаков отчетливого окрашивания, что в целом свидетельствует о наличии достаточно выраженной капилляропротекторной активности.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 10

1. С помощью веб-ресурса PASS-online проведена сравнительная оценка вероятных видов фармакологической активности, побочных и токсических эффектов основных соединений, входящих в состав видов рода горец.

2. В лабораторных условиях изготовлены травы горца почечуйного экстракт жидкий и впервые получен жидкий экстракт травы горца щавелелистного, даны их характеристики и определены показатели качества. Показано, что содержание сухого остатка в жидком экстракте из травы горца щавелелистного (11,2%) и содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин (16,0мг/мл), в два раза выше, чем в жидком экстракте травы горца почечуйного (6,8% и 9,8 мг/мл соответственно).

3. Жидкий экстракт травы горца почечуйного при краткосрочном курсовом применении (3 дня, перорально, 50 мг/кг) в тесте остановки кровотечения не оказывает существенного влияния на кровопотерю и незначительно (на 17,4%) снижает время остановки кровотечения, что свидетельствует о наличии кровоостанавливающей активности слабой степени выраженности.

4. Жидкий экстракт горца почечуйного и жидкий экстракт горца щавелелистного при краткосрочном курсовом применении (3 дня, перорально, 50 мг/кг) на модели ксилоловых петехий значительно увеличивают время появления окрашивания (не менее чем на 80%), время отчетливого окрашивания (не менее чем на 35%), что свидетельствует о наличии достаточно выраженной капилляропротекторной активности, превосходящей на данной модели эффективность препарата сравнения – жидкого экстракта горца перечного.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Информационно – аналитический обзор показал фрагментарность изучения метаболома представителей рода горец и отсутствие системного подхода к их идентификации. Выявлена необходимость совершенствования НД, регламентирующей заготовительный процесс и оценку качества официального растительного сырья и фитопрепаратов на его основе.
2. В результате анатомо-морфологического исследования выявлены и визуализированы основные морфологические и микроскопические признаки изучаемых видов горцев, установлена частота встречаемости диагностических признаков и их биометрические характеристики и проведено их сравнение. Предложены усовершенствованные методики подготовки свежезаготовленного растительного сырья.
3. С использованием современных перспективных методов микроскопического анализа получены новые данные для идентификации и анализа подлинности 10 изучаемых видов горцев. Выявлены различия между видами по характеру люминесценции вместилищ, расположенных на листьях, железок раструба и цветка (люминесцентная микроскопия). На основании данных петиолярной анатомии предложено использовать строение поперечного среза медиальной части черешков листьев (форма поперечного среза, количество и расположение проводящих элементов) в качестве идентификатора вида. Показана возможность использования метода растровой электронной микроскопии (РЭМ) в микроскопическом анализе лекарственного растительного сырья. С использованием метода РЭМ выявлены дополнительные особенности морфологии поверхности листовой пластинки видов рода горец.
4. Впервые с использованием различных хроматографических методов (ТСХ, ВЭЖХ и др.) для 10 видов рода горец, произрастающих в Воронежской обл., определен качественный состав и количественное содержание БАВ (дубильных веществ, органических кислот, гидроксикоричных кислот, аскорбиновой кислоты, аминокислот, полисахаридов, простых сахаров). Методом ВЭЖХ определен флавоноидный состав видов. Показано присутствие более 45 различных

соединений флавоноидной природы. Флавоноидный профиль растений является маркером представителей рода горец. Выявлены маркерные компоненты, характерные для каждого конкретного вида. На примере травы горца почечуйного установлен маркерный компонент с величиной $R_f 0,71 \pm 0,02$, присутствующий у растений, независимо от места произрастания.

5. Выявлены отличия в составе и содержании отдельных групп БАВ для изучаемых видов горцев в сравнении с фармакопейными видами. В траве горцев щавелелистного и войлочного содержится 31,37 мг/г и 25,61 мг/г (соответственно) флавоноидов, что почти в 3 раза выше, чем в горце почечуйном (12,05 мг/г) и почти в 2 раза больше, чем в горце перечном (16,37 мг/г). Содержание полисахаридов в растениях колеблется от 8,6% (трава горца малого) до 2,5% (трава горца Бриттингера). Больше всего органических кислот в пересчете на яблочную (7,18%) в траве горца узловатого, меньшее содержание (4,03%) – в траве горца войлочного. Аскорбиновой кислотой наиболее богаты горцы почечуйный и перечный (0,17% и 0,15% соответственно). Самое высокое содержание суммы свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую (2,29%) характерно для травы горца узловатого. Горец щавелелистный может быть перспективным источником холина (2915 мг/кг).

Полученные данные по составу и содержанию БАВ в растениях рода горец позволяют считать наиболее перспективным для внедрения в медицинскую практику видом горец щавелелистный.

6. Разработаны и валидированы спектрофотометрические методики определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного (высушенной и свежей) и траве горца щавелелистного. Относительная ошибка определения составила $\pm 4,12\%$, $5,1\%$ и $5,0\%$ соответственно.

7. Впервые изучен состав минерального комплекса видов рода горец, произрастающих в Воронежской обл., который представлен 56 элементами и установлены коэффициенты их биологического накопления. В сырье изучаемых горцев наибольшее накопление характерно для Mg, P, K, Ca, Zn, Sr, Ba, Mn.

Установлено, что содержание тяжелых металлов и мышьяка во всех изучаемых видах не превышает ПДК, установленных НД. Выявлена зависимость между количественным содержанием кальция в объектах исследования, частотой встречаемости и размером друз оксалата кальция. Разработанный способ определению содержания минеральных компонентов метаболома в траве горца почечуйного защищен патентом RUS 2605855.

8. Показано, что содержание экотоксикантов и микробиологическая чистота травы горцев, произрастающих в Воронежской обл., находятся на допустимом НД уровне. Показана целесообразность разработки методик оценки уровня микотоксинов, продуцируемых плесневыми грибами рода альтернария в ЛРС. Содержание афлотоксина В, охратоксина А, Т-2 токсина, зеараленона и ДОН не превышает нормативов, рекомендуемых СанПин.

9. В лабораторных условиях изготовлены жидкий экстракт горца почечуйного травы и жидкий экстракт горца щавелелистного травы, даны их характеристики и определены показатели качества. Установлено, что содержание сухого остатка в ЖЭ из травы горца щавелелистного (11,2%) и содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин (16 мг/мл), в два раза выше, чем в ЖЭ горца почечуйного травы (6,8 % и 9,8 мг/мл соответственно).

10. *In silico* спрогнозированы возможные виды фармакологической активности, токсических и побочных эффектов фенольных соединений, выявленных в составе видов рода горец. В экспериментах на животных для жидкого экстракта травы горца почечуйного показано наличие кровоостанавливающего эффекта слабой степени выраженности (снижает время остановки кровотечения на 17,4% по сравнению с контролем). Для жидких экстрактов горца почечуйного и горца щавелелистного при краткосрочном курсовом применении установлено наличие выраженной капилляропротекторной активности.

Практические рекомендации

Результаты диссертационного исследования использованы при разработке нормативной документации на горца почечуйного траву, вошедшую в ГФ РФ XIV изд. Проекты НД на другие виды сырья и лекарственные растительные препараты необходимы для регистрации неофицинальных видов растительного сырья и фитопрепаратов, а также организации процессов заготовки сырья.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты морфолого – анатомического исследования могут лечь в основу ключей-определителей, используемых для экспресс-идентификации растительного сырья, как при заготовке, чтобы максимально исключить ошибки при сборе, так и при разработке современной НД для стандартизации и оценки качества растительного сырья видов рода горец. Изученные в работе виды горцев перспективны к внедрению в качестве лекарственного растительного сырья и лекарственной растительной субстанции для получения фитопрепаратов наряду с горца почечуйного и горца перечного травой.

Список используемых сокращений

- АК – аминокислоты;
- АсК – аскорбиновая кислота;
- БАВ – биологически активные вещества;
- ВФ – водная форма горца земноводного;
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;
- ВЭЖХ-ДМД-МС - ВЭЖХ с диодноматричным и масс-селективным детекторами;
- ГФ – Государственная Фармакопея;
- ГХЦГ – гексахлорциклогексан;
- ДДТ – дихлордифенилтрихлорметилметан;
- ЖЭ – жидкий экстракт;
- ЖЭГП – жидкий экстракт горца почечуйного;
- ЖЭГПер - жидкий экстракт горца перечного;
- ЖЭГЩ - жидкий экстракт горца щавелелистного;
- КМАиФАМ - количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов;
- КОЕ/г – колонии образующие единицы на 1 грамм;
- ЛРС – лекарственное растительное сырье;
- НД – нормативная документация;
- НФ – наземная форма горца земноводного;
- ОК – органические кислоты;
- ОФС – общая фармакопейная статья;
- РФ – Российская Федерация;
- РЭМ – растровая электронная микроскопия;
- СФМ – спектрофотометрия;
- ТСХ – тонкослойная хроматография;
- ФС – фармакопейная статья;
- ХМС – хромато-масс-спектрометрия;
- ЭВ – экстрактивные вещества

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдыкаликова К. А. Фитохимическая оценка различных видов *Polygonum* (Горца) / К. А. Абдыкаликова, А. Т. Ислямбекова // Биологическое разнообразие азиатских степей : материалы 2-й международной конференции, 5-6 июня 2012 г. – Костанай, 2012. – С. 174-177.
2. Агапов Б.Л. Растровая электронная микроскопия. Электронная методическое пособие для ВУЗов / Б. Л. Агапов, Т.В. Куликова // Воронеж. – 2018. – 28 с.
3. Алявдина К. П. Определитель растений / К. П. Алявдина, В. П. Виноградова. – Ярославль: Верхне-Волжское книжное издательство, 1972. – 399 с.
4. Амінокислотний склад трави *Polygonum hydropiper* L. та *Polygonum persicaria* L. флори України / І. А. Лукіна [и др.]. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2015. – № 1 (17). – С. 56-59.
5. Антиоксидантное и прооксидантное действие аскорбиновой кислоты / Р. Л. Варданян [и др.] // Химия растительного сырья. – 2015. – № 1. – С. 113-119. – URL: <http://ysu.am/files/antioxdantnye.pdf> (дата обращения: 14.01.2018).
6. Арзамасцев А. П. Валидация аналитических методов / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, Ю. Я. Харитонов // Фармация. – 2006. – № 4. – С. 8-12.
7. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / [гл. ред. П. С. Чиков]. – Москва : ПКО "Картография", 1983. – 340 с.
8. Атлас лекарственных растений СССР / [гл. ред. Н. В. Цицин]. – Москва : Государственное издательство медицинской литературы, 1962. – 703 с.
9. Балицкий К. П. Лекарственные растения и рак / К. П. Балицкий, А. Л. Воронцова. – Киев : Наукова думка, 1982. – 375 с.
10. Безобразов Ю. Н. Гексахлоран, его свойства, получение и применение / Ю. Н. Безобразов, А. В. Молчанов, К. А. Гар. – Москва : Госхимиздат, 1958. – 316 с.

11. Беликова А. П. О слабительном действии растений семейства гречишных (Polygonaceae) / А. П. Беликова // Фармакология и токсикология. – 1944. – Т. 7. – С. 59-64.
12. Блинова О. Л. Сравнительный морфолого-анатомический анализ травы горца почечуйного и шероховатого / О. Л. Блинова, Л. Г. Печерская // Состояние и перспективы оптимизации и эффективности в фармакогнозии, технологии, клинике. – Ярославль, 2014. – С. 56-61.
13. Блинова О. Л. Сравнительный морфолого-анатомический анализ травы горца перечного и горца малого / О. Л. Блинова, В. Д. Белоногова // Медицинский Альманах. – 2016. – № 2. – С. 150-153.
14. Бобкова Н.В. Фармакогностическое изучение комплексных лекарственных растительных средств : дис. ... докт. фарм. наук : 14.04.02 / Н.В. Бобкова. – Москва, 2017. – 275 с
15. Боков Д. О. Качественное и количественное определение углеводов в сырье и настойках матричных гомеопатических подснежника Воронова, белоснежного методами тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии / Д. О. Боков, И. А. Самылина, Д. М Попов // Бутлеровские сообщения. – 2015. – Т. 41, № 3. – URL: <https://butlerov.com/files/reports/2015/vol41/3/95/95-102.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).
16. Бурченко Т. В. Тяжелые металлы в лекарственных и пищевых растениях – гравилате городском и гравилате речном / Т. В. Бурченко // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 8. – С. 25-27.
17. Быков К. М. Кора головного мозга и внутренние органы / К. М. Быков. – Изд. 2-е. – Москва-Ленинград : Медгиз, 1947. – 284 с.
18. Быкова Н. В. Особенности метаболизма глицина в высших растениях : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / Н. В. Быкова. – Воронеж, 1996. – 26 с. – URL: <http://earthpapers.net/preview/543998/a/#?page=1> (дата обращения: 16.05.2019).

19. Валидация аналитических методик для производителей лекарств : типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / под ред. В. В. Береговых. – Москва : Литтерра, 2008. – 132 с.

20. Великанова Н. А. Экологическая оценка состояния лекарственного растительного сырья (на примере *Polygonum aviculare* L. и *Plantago major* L.) : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.08, 14.04.02 / Н. А. Великанова. – Воронеж, 2013. – 21 с.

21. Власова О. К. Особенности формирования аминокислотного и минерального комплексов в плодах абрикоса и яблони в условиях предгорья / О. К. Власова, Т. И. Даудова // Вестник Дагестанского Научного Центра. – 2011. – № 43. – С. 38-43. – URL: <http://vestnikdnc.ru/IssSources/43/6.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).

22. Влияние способа сушки на спектральные характеристики корня корневой петрушки / В.И. Филиппов, У.Ю. Нечипоренко, Р.Е. Кудинов, С.Ю. Кудинова // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2018. - № 2. – С. 44-54.

23. Влияние степени измельченности травы горца почечуйного на выход флавоноидов / А. С. Чистякова [и др.] // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ : материалы 5-й международной научно-методической конференции "Фармобразование-2013". – Воронеж, 2013. – С. 595-596.

24. Вопросы петиолярной анатомии листьев смородины черной (*Ribes nigrum* L.) / М. Д. Цулукидзе, В. М. Рыжов, В. А. Куркин, Е. Н. Зайцева, Л. В. Тарасенко // Молодой ученый. – 2016. – № 3. – С. 373-378.

25. Воронкова М. С. Вторичные метаболиты азиатских видов рода *Bistorta* (L) Scop. (Polygonaceae) в связи с хемотаксономией и практическим использованием : автореф. дис. ... канд. биол. наук / М. С. Воронкова. – Новосибирск, 2016. – 17 с. – URL: <http://www.csbg.nsc.ru/uploads/avtoref/2017/voronkova.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).

26. Ворошилов В. Н. О принципах классификации полезных растений / В. Н. Ворошилов // Бюллетень ГБС АН СССР. – 1953. – Т. 16. – С. 42-51.
27. Ву Вьет Зунг роль органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к действию тяжелых металлов : дис. ... канд. биол. наук / Ву Вьет Зунг. – Санкт-Петербург, 2018. – 178 с. – URL: <https://disser.spbu.ru/files/disser2/disser/vWhJtpyys.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).
28. Выделение, идентификация и характеристика фитотоксина, образуемого грибом *Althernaria cirsinoxia* / А. О. Берестецкий [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2010. – Т.46. – № 1. – С. 84-88.
29. Выделение комплекса полисахаридов каштана конского и изучение его химического состава / В. А. Соболева, В.Н. Чушенко, А.А. Коломиец, О.С. Данькевич // Провизор. – 2009. – № 16. – С. 21-24.
30. Высочина Г И Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишные (*Polygonaceae juss.*). Сообщ. III. Род горец – *Persicaria Mill.* / Г. И. Высочина // *Turczaninowia*. – 2008. – Т. 11. – С. 129-137.
31. Высочина Г. И. Флавоноиды сибирских видов рода *Polygonum L.* в связи с систематикой рода : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Г. И. Высочина. – Томск, 1969. – 23 с.
32. Высочина Г. Н. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишные : дис. ... д-ра биол. наук / Г. Н. Высочина. – Новосибирск, 2002. – 410 с.
33. Гавриленко И. Г. Анатомическое строение черешков листьев видов рода *Thalictrum (Ranunculaceae)* Дальнего Востока России / И. Г. Гавриленко, Е. В. Новожилова // *Turczaninowia*. – 2015. – Т. 18, № 4. – С. 67-73.
34. Гидроксикоричные кислоты травы горца почечуйного / И. Б. Перова, К. И. Эллер, А. А. Мальцева, А. С. Чистякова, А. И. Сливкин, А. А. Сорокина // Фармация. – 2017. – Т. 66, № 5. – С. 27-30.
35. ГН 1.2.1323-03. Гигиенические нормативы пестицидов в объектах окружающей среды от 25.05.2003 : (с изменениями и дополнениями №1-12). –

Введ. 2003-06-25. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/901862524> (дата обращения: 16.05.2019).

36. ГОСТ 10444.12-88. Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов. – Введ. 1990-01-01. – Москва : Стандартиформ, 2010. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200021096> (дата обращения: 16.05.2019).

37. ГОСТ 10444.15-94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. – Введ. 1996-01-01. – Москва : Стандартиформ, 2010. – 7 с.

38. ГОСТ 13496.21-87. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения лизина и триптофана. – Введ. 1988-07-01. – Москва : Стандартиформ, 2011. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200024343> (дата обращения: 25.10.2018).

39. ГОСТ 26428-85. Почвы. Методы определения кальция и магния в водной вытяжке. – Введ. 1985-02-08. – Москва : Государственный стандарт Союза ССР, 1986. – 7 с.

40. ГОСТ 26929-94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. – Введ. 1996-01-01. – Москва : Издательство стандартов, 2010. – 12 с.

41. ГОСТ 31480-2012. Комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания аминокислот (лизина, метионина, треонина, цистина и триптофана) методом капиллярного электрофореза. – Введ. 2013-07-01. – Москва : Стандартиформ, 2012. – 16 с.

42. ГОСТ 31483-2012. Премиксы. Определение содержания витаминов: В1 (тиаминхлорида), В2 (рибофлавина), В3 (пантотеновой кислоты), В5 (никотиновой кислоты и никотинамида), В6 (пиридоксина), ВС(фолиевой кислоты), С (аскорбиновой кислоты) методом капиллярного электрофореза. – Введ. 2013-07-01. – Москва : Стандартиформ, 2012. – 20 с.

43. ГОСТ 31653-2012. Корма. Метод иммуноферментного определения микотоксинов. – Введ. 2013-07-01. – Москва : Стандартиформ, 2012. – 16 с.

44. ГОСТ 31659-2012. Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. – Введ. 2012-07-20. – Москва : Стандартинформ, 2014. – 25 с.
45. ГОСТ 31746-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. – Введ. 2012-11-15. – Москва: Стандартинформ, 2013. – 22 с.
46. ГОСТ 31747-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – Введ. 2012-10-01. – Москва : Стандартинформ, 2013. – 16 с.
47. ГОСТ Р 50479-93. Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения содержания витамина РР – Введ. 1994-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2010. – 8 с.
48. ГОСТ Р 51116-97. Метод определения содержания дезоксиниваленола (вомитоксина) . – Введ. 1998-07-01. – Москва: Издательство стандартов, 1997.–8 с.
49. ГОСТ Р 51766-2001. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка. – Введ. 2002-07-01. – Москва : Издательство стандартов, 2001. – 12 с.
50. Государственная фармакопея Российской Федерации : [в 3 т.]. – 13 изд-е. – Москва : ФЭМБ, 2015. – Т. 3. – 1294 с.
51. Государственная фармакопея Российской Федерации : [в 3 т.]. – 13 изд-е. – Москва : ФЭМБ, 2015. – Т. 1. – 1470 с.
52. Государственная фармакопея Российской Федерации : [в 3 т.]. – 13 изд-е. – Москва : ФЭМБ, 2015. – Т. 2. – 1004 с.
53. Государственная фармакопея Российской Федерации : в 4 т. – 14-е изд. – Москва, 2018. – URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 14.05.2018).
54. Государственная фармакопея Российской Федерации. – 12-е изд. – Москва : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – Ч. 1. – 704 с.

55. Государственная фармакопея СССР : [в 2 вып.]. – 11-е изд. – Москва : Медицина, 1987. – Вып. 2 : Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё. – 1990. – 400 с.

56. Государственная фармакопея СССР : [в 2 вып.]. – 11-е изд. – Москва : Медицина, 1987. - Вып. 1 : Общие методы анализа. – 335 с.

57. Гудкова А.А. Идентификация представителей рода *Persicaria* Mill по морфологическим признакам /А.А. Гудкова [и др.]// Фармация. - 2019. - Т. 68. - № 1. - С. 10-19.

58. Гудкова А.А. Определение микробиологической чистоты, присутствия плесневых грибов и содержания микотоксинов в лекарственном растительном сырье (на примере травы горца почечуйного) / А.А. Гудкова // Биофармацевтический журнал. - 2018. - Т. 10. - № 6. - С. 28-32.

59. Дайронас Ж.В. Экспериментально – теоретическое исследование лекарственного растительного сырья, содержащего нафтохиноны, и его стандартизация : дис. ... докт. фарм. наук : 14.04.02 / Ж.В. Дайронас – Москва, 2017. – 389 с.

60. Егорова И. Н. Содержание тяжелых металлов в листьях подорожника большого (*Plantago major* L.), произрастающего в Кемеровской области // И. Н. Егорова, Р. А. Мухамадияров // Вестник Томского государственного университета. – 2009. – № 329. – С. 232-233.

61. Жогова А.А. Идентификация и количественное определение основных биологически активных веществ в траве пустырника с помощью ВЭЖХ-МАСС – СПЕКТРОМЕТРИИ /А.А. Жогова [и др.]// Химико – фармацевтический журнал. – 2014. – Т.48. - №7. – С.35 – 40.

62. Захаров Ю.А. Лечение сахарного диабета 1 типа / Ю.А. Захаров. - Москва: Феникс, 2013.- 188 с.

63. Зеер Г.М. Применение сканирующей электронной микроскопии в решении актуальных проблем материаловедения / Г.М. Зеер, О.Ю. Фоменко, О.Н. Ледяева // Journal of Siberian Federal University. Chemistry. – 2009. №4. – С. 287-293.

64. Зинченко Л. А. Изучение промышленных отходов фармацевтического производства как дополнительных источников биологически активных соединений (на примере шрота плодов боярышника и шрота листьев мяты) : автореф. дис. ... канд. фарм. / Л. А. Зинченко. – Пятигорск, 2007. – 24 с.
65. Зориков П. С. Основные лекарственные растения Приморского края / П. С. Зориков. – Владивосток : Дальнаука, 2004. – 128 с.
66. Иванов В. В. Количественное определение дубильных веществ в траве горца сахалинского, интродуцированного в условиях Кавказских Минеральных Вод, различными аналитическими методами / В. В. Иванов, О. Н. Денисенко // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16511> (дата обращения: 16.05.2019).
67. Игнатова А. О. Исследование травы горца почечуйного на содержание тяжелых металлов / А. О. Игнатова, А. С. Чистякова, А. А. Мальцева // SCIENCE4HEALTH 2015. Клинические и теоретические аспекты современной медицины : материалы 6-й Международной научной конференции. – Москва, 2015. – С. 71.
68. Изменчивость суммарного содержания флавоноидов и антиоксидантной активности надземных органов *Persicaria maculata* (Rafin) флоры Дагестана / Ф. А. Вагабова [и др.] // Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Сер. Естественные и точные науки. – 2011. – № 4. – С. 34-38.
69. Изучение аминокислот травы горца почечуйного методами тонкослойной и бумажной хроматографии / А. С. Чистякова, А. А. Мальцева, А. С. Ткачева, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин, Л. С. Шikuнова // Молодые ученые и фармация XXI века : сборник научных трудов второй научно-практической конференции. – Москва, 2014. – С. 123-127.
70. Изучение анатомо-диагностических признаков лекарственного растительного сырья "Трава горца почечуйного цельная" / А. С. Чистякова, А. А. Мальцева, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин, И. М. Коренская, Л. С. Шikuнова //

Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2015. – № 1. – С. 160-166.

71. Изучение профиля аминокислот горца почечуйного травы (*Polygoni persicariae herba*) / А. А. Гудкова, А. С. Чистякова, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин, И. М. Коренская // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2018. – № 4. – С. 195-200.

72. Изучение флавоноидного состава травы *Polygonum hydropiper* L. / И. А. Лукина [и др.] // Состояние и перспективы оптимизации и эффективности в фармакогнозии, технологии, клинике : сборник материалов научно-практической конференции с международным участием, посвященной 30-летию кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль, 2014. – С. 124-127.

73. Изучение флавоноидного состава травы *Polygonum hydropiper* L. / Лукина И. А. [и др.]. // Состояние и перспективы оптимизации и эффективности в фармакогнозии, технологии, клинике : сборник материалов научно-практической конференции с международным участием, посвященной 30-летию кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль : Индиго, 2014. – С. 124-127.

74. Иллюстрированный определитель растений Средней России : в 3 т. / И. А. Губанов [и др.]. – Москва : КМК, 2002. – Т. 2: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). – 2003. – 665 с.

75. Исмаилов И. З. Микробиологическая чистота как показатель качества сухого экстракта из надземных частей *Radus graynea* Maxim / И. З. Исмаилов, А. А. Кравцов // Наука и образование сегодня. – 2017. № 1 (12). – С. 94-98.

76. Исследование состава травы горца почечуйного методом газовой хромато-масс-спектрометрии / А. С. Чистякова, А. А. Гудкова, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин // Научный результат. Медицина и фармация. – 2017. – Т. 3, № 4. – С. 61-69.

77. Исследование элементного состава различных видов биоминеральных образований в организме человека / В.В. Поляков, А.И. Неймарк, Г.Г. Устинов,

Е.В. Петрухно // Известия Алтайского государственного университета. - 2010. - № 1-1 (65). - С. 151 – 157.

78. Исследования аминокислотного состава горца почечуйного травы методом капиллярного электрофореза / А. С. Чистякова, А. А. Мальцева, А. С. Ткачева, А. О. Игнатова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск, 2015. – Вып. 70. – С. 84-86.

79. Каталог-справочник мировой коллекции ВИР / под ред. П. М. Жуковского. – Ленинград, 1963. – Вып. 468 : Основные сорно-полевые растения сельскохозяйственных культур Ленинградской области. – 1988. – 11 с.

80. Климентова Е. Г. Физиология растений / Е. Г. Климентова, Е. В. Рассадина, Ж. А. Антонова. – Ульяновск : УлГУ, 2014. – 170 с. – URL: https://www.ulsu.ru/media/documents/mu_phiziologia_rastenii.PDF (дата обращения: 14.01.2018).

81. Количественное определение полисахаридов в траве горца почечуйного / А. С. Чистякова, С. А. Логунова, А. А. Мальцева, И. А. Тамилина, А. С. Ткачева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ : материалы 5-й международной научно-методической конференции "Фармообразование-2013". – Воронеж, 2013. – С. 588-590.

82. Количественное определение флавоноидов в траве горца почечуйного / А. А. Мальцева, А. С. Чистякова, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин, С. А. Логунова // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – Воронеж, 2013. – № 2. – С. 199-202.

83. Коломиец Н. Э. Элементный состав видов рода *Equisetum* L. / Н. Э. Коломиец, Л. Д. Агеева, Н. Ю. Абрамец // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 8-6. – С. 1418-1421. – URL: <https://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=34779> (дата обращения: 14.01.2018).

84. Колосова О. А. Определение свободных и связанных сахаров в подземных органах валерианы сомнительной / О. А. Колосова, Т. А. Горохова, Н.

С. Фурса // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск, 2013. – Вып. 68. – С. 58-59.

85. Комарницкий Н. А. Ботаника. Систематика растений / Н. А. Комарницкий, Л. В. Кудряшов, А. А. Уранов. – 7-е изд., перераб. – Москва : Просвещение, 1975. – 608 с.

86. Комарова Н. В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза Капель / Н. В. Комарова, Я. С. Каменцев. – Санкт-Петербург : Веда, 2006. – 213 с.

87. Копылов Н. В. Разработка и сравнительная оценка способов определения магния в фармацевтическом и биофармацевтическом анализе : автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Н. В. Копылов. – Курск, 2004. – 23 с.

88. Кочикян А. Т. Аминокислотный состав некоторых пищевых и лекарственных растений флоры Армении / А. Т. Кочикян, В. Т. Кочикян, А. В. Топчян // Медицинская наука Армении НАН РА. – 2011. – № 3. – URL: <http://medsci.asj-oa.am/503/1/119.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).

89. Круглов Д. С. Элементный состав растений семейства Boraginaceae / Д. С. Круглов, С. В. Овчинникова // Растительный мир Азиатской России. – 2012. – № 1. – С. 77-95. – URL: <http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2012-1/77.pdf> (дата обращения: 14.01.2018).

90. Куркин В. А. Петиолярная анатомия гречихи посевной *Fagoripum sagittatum* Gillib / В. А. Куркин, Д. М. Хисямова // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції. – Харьков, 2012. – С. 82.

91. Куркина А. В. Новые подходы к стандартизации сырья перца водяного (*Polygonum hydropiper* L.) / А. В. Куркина // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – С. 606-609.

92. Куркина А. В. Стандартизация сырья горца почечуйного (*Polygonum persicaria* L.) / А. В. Куркина // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – С. 1485-1489.

93. Лазарев А. В. Обзор рода *Polygonum* L. / А. В. Лазарев, С. В. Недопекина // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2009. – № 11. – С. 18-24.
94. Лекарственная флора Кавказа / А. И. Шретер [и др.]. – Москва : Медицина, 1979. – 368 с.
95. Лекарственные растения в фитопрепаратах и биологически активных добавках / В. Ф. Дзюба [и др.]. – Воронеж : Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета, 2012. – 135 с.
96. Лукина И. А. Компонентный состав эфирного масла горца почечуйного / И. А. Лукина, А. В. Мазулин // Український біофармацевтичний журнал. – 2016. – № 3. – С. 43-45.
97. Лукша Е.А. Оценка содержания фитоменадиона в надземной части растений семейства гречишные флоры Сибири /Е.А. Лукша, И.С. Погодин, Е.В. Иванова // Бутлеровские сообщения. - 2015. - Т.41. - №3. – С.103 – 108.
98. М 04-56-2009. Продукты пищевые и продовольственное сырье, БАД. Методика измерений массовой доли витаминов В1 и В2 флуориметрическим методом с использованием анализатора жидкости Флюорат-02 : рег. № KZ.07.00.01258-2011 от 02.02.2011. – Астана, 2011. - URL: <https://www.lumex.ru/metodics/14AR01.05.32-1.pdf> (дата обращения: 25.10.2018).
99. Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России / П. Ф. Маевский. – 11-е испр. и доп. изд. – Москва : КМК, 2014. – 635 с.
100. Маевский П. Ф. Флора средней полосы европейской части России / П. Ф. Маевский. – 10-е изд., испр. и доп. – Москва : КМК, 2006. – 600 с.
101. Марков М. В. Разнообразие жизненных форм и систем репродукции в роде *Polygonum* S.L. в аспекте вторичного перехода к водному образу жизни / М. В. Марков, Н. М. Ключникова, А. К. Федорин // Преподаватель XXI век. – 2010. – № 1, ч. 1. – С. 207-215.
102. Махлаюк В. П. Лекарственные растения в народной медицине / В. П. Махлаюк. – Саратов : Приволжское книжное издательство, 1993. – 544 с.

103. Медведев С.С. Физиология растений. Санкт-Петербург, СПбГУ, 2004, 335 с.
104. Медицинская микология с основами микотоксикологии / под ред. Д. В. Леонтьева, А. Г. Сербина. – Харьков : Национальный фармацевтический университет, 2010. – 142 с.
105. Мелик-Гусейнов В. В. Ресурсные исследования некоторых дикорастущих лекарственных растений республики Ингушетии / В. В. Мелик-Гусейнов, З. У. Добриева // Вестник Московского государственного областного университета. Сер. Естественные науки. – 2009. – № 3. – С. 66-69.
106. Мецлер Д. Биохимия : Химические реакции в живой клетке : [в 3 т.] / Д. Мецлер. – Москва : Мир, 1980. – Т. 3. – 488 с.
107. Минина С. А. Химия и технология фитопрепаратов / С. А. Минина, И. Е. Каухова .- Москва : ГЕОТАР-МЕД, 2004. – 558 с.
108. Миркин Б. М. Высшие растения: краткий курс систематики с основами науки о растительности / Б. М. Миркин, Л. Г. Наумова, А. А. Мулдашев – 2-е изд., перераб. – Москва : Логос, 2002. – 255 с.
109. Необходимость фармакопейной оценки содержания мышьяка в лекарственном растительном сырье / И. В. Гравель [и др.] // Фармация. – 2013. – № 8. – С. 20-23.
110. Непелов Г. А. Изучение микроэлементного состава отдельных видов лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов (технологические и аналитические аспекты) : автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Г. А. Непелов. – Москва, 1992. – 22 с.
111. Никитин В. В. Сорные растения флоры СССР / В. В. Никитин. – Ленинград : Наука, 1983. – 453 с.
112. Новое в диагностике краснокнижных видов растений рода *Hedysarum* / И. А. Попова, Т. И. Плаксина, В. М. Рыжов, Л. В. Тарасенко // *Modern Phytomorphology*. – 2013. – № 3. – С. 207-211.

113. Новрузов А. Р. Содержание и динамика накопления аскорбиновой кислоты в плодах *Rosa Canina L.* / А. Р. Новрузов // Химия растительного сырья. – 2014. – №3. – С. 221-226.

114. Новые подходы к диагностике лекарственного растительного сырья эхинацеи пурпурной / В. А. Куркин, Е. И. Вельмьякина, В. М. Рыжов, Л. В. Тарасенко // Традиционная медицина. – 2012. – № 1. – С. 42-46.

115. Определение некоторых макро- и микроэлементов в траве горца почечуйного / А. С. Чистякова [и др.] // Сеченовский вестник. – 2015. – № 1. – С. 134-135.

116. Определение простых сахаров в листьях лимонника китайского, заготовленных в Воронежской области / Ю. В. Добрина, А. А. Гудкова, А. И. Сливкин, А. А. Сорокина // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : материалы 7-й Международной научно-методической конференции "Фармообразование-2018", г. Воронеж, 28-30 марта 2018 г. – Воронеж, 2018. – С. 258-260.

117. Определение суммы свободных аминокислот в траве горца почечуйного / А. С. Чистякова, А. С. Ткачева, С. А. Логунова, А. А. Мальцева, А. А. Сорокина // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ : материалы 5-й международной научно-методической конференции "Фармообразование-2013". – Воронеж, 2013. – С. 599-601.

118. Основы биохимии вторичного обмена растений / [под общ. ред. Г. Г. Борисовой]. – Екатеринбург : Издательство Уральского университета, 2014. – 128 с. – URL: http://elar.urfu.ru/bitstream/10995/29020/1/978-5-7996-1296-2_2014.pdf (дата обращения: 16.05.2019).

119. Основы микротехнических исследований в ботанике. Справочное руководство / Р. П. Барыкина [и др.]. – Москва : Издательство кафедры высших растений биологического факультета Московского государственного университета, 2000. – 127 с.

120. Оценка безопасности лекарственного растительного сырья в бадах и фитопрепаратах / С. А. Хотимченко [и др.] // Фармация. – 2009. – № 1. – С. 3-5. – URL: <http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=196745> (дата обращения: 14.01.2018).

121. Перельман А. И. Геохимия ландшафта / А. И. Перельман. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Москва : Высшая школа, 1975. – 341 с.

122. Петиолярная анатомия в рамках анатомо-морфологического исследования перспективного лекарственного сырья – травы женьшеня / В. А. Куркин, А. С. Акушская, В. М. Рыжов, Л. В. Тарасенко, П. Д. Топоркова // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 5-6. – С. 1274-1278.

123. Петров Н. В. Определение микроэлементов в лекарственном растительном сырье, заготовленном в Московской области / Н. В. Петров // Фармация. – 1993. – Т. 42, № 3. – С. 44-48.

124. Плешков Б. П. Биохимия сельскохозяйственных растений / Б. П. Плешков ; под ред. В. М. Клечковского. – Москва : Колос, 1965. – 447 с.

125. Плешков Б. П. Биохимия сельскохозяйственных растений / Б. П. Плешков. – 4-е изд., доп., перераб. – Москва : Колос, 1980. – 495 с.

126. Получение жидкого экстракта (1:1) травы горца почечуйного / А. С. Чистякова [и др.] // Состояние и перспективы оптимизации и эффективности в фармакогнозии, технологии, клинике : сборник материалов научно-практической конференции с международным участием, посвященной 30-летию кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль, 2014. – С. 250-252.

127. Получение и стандартизация жидкого экстракта душицы турецкой (*Origanum onites* L.) / Д. О. Бобков [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2014. – № 1. – С. 46-52.

128. Полякова В. А. Влияние антропогенного загрязнения почв г. Самары на содержание фитосинтетических пигментов высшего наземного растения подорожника большого (*Plantago major*) / В. А. Полякова, О. Н. Макурина // В мире научных открытий. – 2010. – № 4. – С. 17-19.

129. Полякова В. А. Изменение основных морфометрических и некоторых биохимических показателей высшего наземного растения подорожника большого (*Plantago major*) в зависимости от степени загрязнения почв города Самары тяжелыми металлами / В. А. Полякова, О. Н. Макурина // В мире научных открытий. – 2010. – № 5. – С. 53-57.

130. Попов И.В. Определение танина в сырье и препаратах кровохлебки лекарственной методом ВЭЖХ / И.В. Попов, И.Н. Андреева, М.В. Гаврилин // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. - Т. 37. - №7. - С. 24-26.

131. Попова Н. В. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В.Попова, В. И. Литвиненко. – Харьков : СПДФЛ Мосякин В. Н., 2008. – 510 с.

132. Применение стереомикроскопии для экспресс-идентификации плодов облепихи крушиновидной / М. А. Рудая, О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, А. А. Гудкова, В. А. Шевченко // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : материалы 7-й Международной научно-методической конференции "Фармообразование-2018", г. Воронеж, 28-30 марта 2018 г. – Воронеж, 2018. – С. 303-307.

133. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин [и др.]. – Новосибирск : Тео, 2007. – 232 с.

134. Прозина М. Н. Ботаническая микротехника / М. Н. Прозина. – Москва : Высшая школа, 1960. – 208 с.

135. Пяк А. И. Материалы к флоре Алтая / А. И. Пяк, А. Л. Эбель // Turczaninowia. – 2001. – № 4 (1-2). – С. 86-94.

136. Разаренова К.В., Жохова Е.В. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода *Geranium* L. флоры Северо-Запада // Химия растительного сырья. № 4. 2011. С. 187–192.

137. Разработка унифицированной методики количественного определения суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах / Г. И. Олешко [и др.] // Фармация. – 2011. – № 3. – С. 14-17.

138. Растения Крыма: коварные друзья / под общ. ред. В. Н. Ежова. – Ялта : Национальный научный центр НААН, 2010. – 225 с.
139. Растровая электронная микроскопия для нанотехнологий. Методы и применение [Электронный ресурс] / под.ред. У.Жу, Ж.Л. Уанга – 3-е изд. –М.: Лаборатория знаний, 2013. – 582 с.
140. Реввель П. Среда нашего обитания : в 4 кн. / П. Реввель, Ч. Реввель. – Москва : Мир, 1995. – Кн. 4 : Здоровье и среда, в которой мы живем. – 192 с.
141. Регистр лекарственных средств России : справочник лекарственных препаратов. – URL: <https://www.rlsnet.ru> (дата обращения: 25.10.2018).
142. Редкокашин Д. Е. Разработка способа определения фазы цветения сырья горца почечуйного / Д. Е. Редкокашин // Евразийский союз ученых. – 2016. – № 28(1). – С. 119-120.
143. Редкокашин Д. Е. Фитохимическое исследование сырья фармакопейных растений рода *Polygonum* / Д. Е. Редкокашин // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск, 2010. – Вып. 65. – С.102-104.
144. Розенцвейг П. Э. Технология лекарств и галеновых препаратов / П. Э. Розенцвейг, Ю. К. Сандер. – Ленинград : Медицина, 1967. – 772 с.
145. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А. Н. Миронова. - М. : Гриф и К, 2012. - 944 с.
146. Сайт «Гисметео». – URL: <https://www.gismeteo.ru> (дата обращения: 16.05.2019).
147. Самарина Г. И. К фармакологии препаратов почечуйной травы (*Polygonum persicaria*) / Г. И. Самарина // Известия Академии наук Казахской ССР. Серия физиологическая. – 1950. – Т. 92, вып. 3. – С. 61.
148. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие. / И.А. Самылина, В.А. Ермакова, Н.В. Бобкова, О.Г. Аносова. – Т.3. – М.: ГЭОТАР-Медиа. - 2009. – 488 с.

149. СанПин 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. – Введ. 2002-09-01. – URL: <https://docplan.ru/Data2/1/4293855/4293855259.htm> (дата обращения: 14.01.2018).

150. Саньков А. Н. Сравнительное морфолого-анатомический анализ горца птичьего и горца почечуйного (*Polygonum aviculare* L., *Polygonum persicaria* L.) / А. Н. Саньков, А.А. Шмыгарева, А. М. Телекулова // Альманах молодой науки. – 2016. – № 1. – С. 38-41.

151. Свежая трава горца почечуйного: разработка проекта фармакопейной статьи / А. А. Гудкова, А. С. Чистякова, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин // Фармация. – 2017. – Т. 66, № 8. – С. 3-8.

152. Сдобнина Л. И. Диагностические признаки лекарственных растений в петиолярной анатомии / Л. И. Сдобнина // Биоразнообразии: проблемы и перспективы сохранения: тезисы докладов международной научной конференции. – Пенза, 2008. – С. 75-77.

153. Селезнев Н. Г. Идентификация и количественное определение углеводов в лекарственном растительном сборе «Лорполифит» / Н. Г. Селезнев, У. Н. Буханова, Д. М. Попов // Актуальные вопросы медицины в современных условиях : сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. – Санкт-Петербург, 2015. – Вып. 2. – URL: <http://izron.ru/articles/aktualnye-voprosy-meditsiny-v-sovremennykh-usloviyakh-sbornik-nauchnykh-trudov-po-itogam-mezhdunarod/sektsiya-50-tehnologiya-polucheniya-lekarstv-spetsialnost-14-04-01/identifikatsiya-i-kolichestvennoe-opredelenie-uglevodov-v-lekarstvennom-rastitelnom-sbore-lorpolifit/> (дата обращения: 16.05.2019).

154. Сиверцов И. И. Препараты почечуйной травы как ценное средство для лечения больных с хроническими запорами и геморроями / И. И. Сиверцов // Здравоохранение Казахстана. – 1951. – № 5. – С. 13.

155. Скалозубова Т. А. Изучение метаболома сырья и лекарственных форм крапивы двудомной : автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Т. А. Скалозубова. – Москва, 2013. – 23 с.

156. Сорные растения СССР. Руководство к определению сорных растений СССР : [в 4 т.] / под ред. Б. А. Келлера [и др.]. – Ленинград : Издательство АН СССР, 1934. – Т. 2 / [отв. ред. Б. К. Шишкин]. – 244 с.

157. Сорокина А. А. Количественное определение кальция и магния в листьях и настоях крапивы двудомной / А. А. Сорокина Т. А. Скалозубова, А. И. Марахова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск, 2011. – № 66. – С. 179-181.

158. СП 2.6.1.2612-10. Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ 99/2010). – Москва, 2010. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/902214068> (дата обращения: 14.01.2018).

159. Спектрофотометрическое определение суммарного содержания флавоноидов в лекарственных препаратах растительного происхождения / О.Н. Сорокина, Е.Г. Сумина, А.В. Петракова, С.В. Барышева Известия Саратовского ун-та. Новая серия. Сер. Химия. Биология. Экология. - 2013. - Т. 13, - вып. 3. – С. 8-11.

160. Способ количественного определения кальция и магния в лекарственном растительном сырье : пат. 2466387 Российская Федерация : МПК G 01 N 31/16 / Т. А. Скалозубова, А. И. Марахова, Н. Н. Федоровский; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития России. – № 2011142057/15; заявл. 18.10.2011; опубл. 10.11.2012, Бюл. № 31. – 4 с.

161. Способ количественного определения кальция и магния в растительном сырье : пат. 2605855 Рос. Федерация : МПК G 01 N 33/15, G 01 N 31/16 / А. А. Мальцева, О. В. Тринеева, А. С. Чистякова, А. И. Сливкин, А. О. Игнатова ; заявитель и патентообладатель Воронежский государственный университет. – № 2015102880/15 ; заявл. 28.01.2015 ; опубл. 27.12.2016.

162. Способ количественного определения содержания кальция в жидких экстрактах из лекарственного растительного сырья : пат. 2488818 Российская Федерация : МПК G 01 N 33/15 / А. И. Марахова [и др.] ; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Минздравсоцразвития России. – № 2012117691/15; заявл. 28.04.2012; опубл. 27.07.2013, Бюл. № 21. – 4 с.

163. Сравнительное анатомо-морфологическое исследование некоторых вегетативных органов эвкалипта прутовидного и эвкалипта серого / В. А. Куркин, Е. В. Авдеева, Л. В. Тарасенко, В. М. Рыжов, Н. Р. Шагалиева, А. В. Азнагулова, Л. В. Марлынова // Медицинский альманах. – 2013. – № 5. – С. 191-196.

164. Сравнительное изучение микродиагностических особенностей некоторых видов горцев / А. С. Чистякова, А. А. Сорокина, А. А. Мальцева, С. А. Логунова, Л. С. Шикунова // Сеченовский вестник. – 2015. – № 1 (19). – С. 88-89.

165. Сравнительное изучение минерального комплекса травы горца почечуйного (*Polygonum persicaria* L.) и горца войлочного (*Persicaria tomentosa* (Schrank) E.P. Vicknell) / А. А. Гудкова, А. С. Чистякова, А. И. Сливкин, А. А. Сорокина // Микроэлементы в медицине. – 2019. – Т. 20, № 1. – С. 35-42.

166. Стеценко А. И. Комплексометрическое титрование : методические указания / А. И. Стеценко. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, 1992. – 39 с.

167. Тахтаджян А. Л. Система магнолиофитов / А. Л. Тахтаджян. – Ленинград : Наука, 1987. – 439 с.

168. Теоретический подход к идентификации представителей рода *Persicaria* Mill. по морфологическим признакам / Е. Г. Хромых, А. А. Гудкова, А. С. Чистякова, О. Н. Щепилова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : материалы 7-й Международной научно-методической конференции "Фармообразование-2018", г. Воронеж, 28-30 марта 2018 г. – Воронеж, 2018. – С. 346-350.

169. Терешкина О. И. Оценка радионуклидного загрязнения лекарственного растительного сырья / О. И. Терешкина, И. П. Рудакова, И. А. Самылина // Фармация. – 2011. – № 7. – С. 3-6.

170. Тимирханова Г. А. Витамин С: классическое представление и новые факты о механизмах биологического действия / Г. А. Тимирханова, Г. М.

Абдуллина, И. Г. Кулагина // Вятский медицинский вестник. – 2007. – № 4. – С. 158-161.

171. Тинели И. Поведение химических загрязнителей в окружающей среде / И. Тинели. – Москва : Мир, 1992. – 218 с.

172. Тихонов В. Н. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты / В. Н. Тихонов, Г. И. Калинкина, Е. Н. Сальникова. – Томск : СибГМУ, 2004. – Ч. 1. – 136 с.

173. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов / А. А. Мальцева, О. В. Тринеева, А. С. Чистякова, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин, А. А. Сорокина // Фармация. – 2013. – № 1. – С. 13-16.

174. Требования к безопасности и эффективности растительных лекарственных препаратов: сравнение отечественного и европейского подходов / А. Н. Васильев [и др.]. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/v/trebovaniya-k-bezopasnosti-i-effektivnosti-rastitelnyh-lekarstvennyh-preparatov-sravnenie-otchestvennogo-i-evropeyskogo-podhodov> (дата обращения: 14.01.2018).

175. Тринеева О. В. Определение аминокислот в фармацевтических субстанциях растительного происхождения физико-химическими методами (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) / О. В. Тринеева // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине : 5-я научно-практическая конференция (15 марта 2017 года, г. Москва). – Москва, 2017. – С. 222-225.

176. Тринеева О. В. Определение в лекарственном растительном сырье витаминов группы В (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной) / О. В. Тринеева, М. А. Рудая, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2017. – № 3. – С. 131-134.

177. Тринеева О. В. Определение кальция и магния в лекарственном растительном сырье методом комплексонометрии (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной) / О. В. Тринеева, А. А. Гудкова, А. И. Сливкин // Пути и формы совершенствования фармацевтического

образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : материалы 7-й Международной научно-методической конференции "Фармообразование-2018", г. Воронеж, 28-30 марта 2018 г. – Воронеж, 2018. – С. 337-342.

178. Тринеева О. В. Определение микробиологической чистоты и микотоксинов в лекарственном растительном сырье и масляных препаратах на его основе (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, Б. Дортгулыев // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2015. – № 3. – С. 124-128.

179. Тринеева О. В. Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, С. С. Воропаева // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2013. – № 2. – С. 215-219. – URL: <http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2013/02/2013-02-44.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).

180. Тринеева О. В. Определение суммы полисахаридов и простых сахаров в листьях крапивы двудомной / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2017. – № 1. – С. 164-169.

181. Тринеева О. В. Определение экотоксикантов в лекарственном растительном сырье и масляных препаратах на его основе / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, Б. Дортгулыев // Фармация. – 2015. – №6. – С. 3-6.

182. Тринеева О. В. Теоретические и методологические подходы к стандартизации и оценке качества лекарственного растительного сырья и масляных экстрактов на его основе : дис. ... д-ра фарм. наук / О. В. Тринеева. Москва, 2017. – 441 с.

183. Трубочева Л. В. Определение содержания ионов кальция (II) в водах различного типа с помощью металлоиндикаторов / Л. В. Трубочева, С. Ю. Лоханина // Вестник Удмуртского университета. – 2005. – № 8. – С. 211-222.

184. Трубачева Л. В. Металлохромные индикаторы при определении содержания ионов кальция (II) в водных растворах / Л. В. Трубачева, С. Ю. Лоханина, С. П. Чернова // Вестник Удмуртского университета. – 2005. – № 8. – С. 127-136.
185. Тупицына Н. Н. Ревизия семейства Polygonaceae Juss. во флоре южной части Красноярского края / Н. Н. Тупицына // Turczaninowia. – 2012. – Т. 15, № 2. – URL: http://old.ssbg.asu.ru/turcz/turcz_15_2_44-48.pdf (дата обращения: 7.02.2019).
186. Турова А. Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А. Д. Турова, Э. Н. Сапожникова. – 4-е изд., стереотип. – Москва : Медицина, 1984. – 304 с.
187. Тяжелые металлы и микроэлементы в растениях. – URL: <http://ru-ecology.info/static/pngbig/591125206.png> (дата обращения: 14.01.2018).
188. Федосов П.А. Доклинические исследования эффективности и безопасности ранозаживляющего геля содержащего хитозан, таурин и аллантоин: автореф. дис. ... канд. фарм. наук : 14.03.06 / П.А. Федосов.- Воронеж, 2017. – 22 с.
189. Федосов П.А. Изучение противовоспалительной и капилляропротекторной активности геля хитозана с таурином и аллантоином /П.А. Федосов, В.А. Николаевский, А.И. Сливкин, А.В. Бузлама // Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2016. - №4. – С. 147 – 151.
190. Федотова В. В. Изучение органических кислот золотарника кавказского (*Solidagosaucasicakem.-Nath.*) и черноголовника многобрачного (*Poteriumpolygamumwaldst. &Kit.*) / В. В. Федотова, А. В. Охремчук, В. А. Челомбитько // Научные ведомости. Сер. Медицина. Фармация. – 2012. – № 16 (135), вып. 19. – URL: <https://core.ac.uk/download/pdf/151229573.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).
191. Физиология растений : конспект лекций / В. М. Гольд [и др.]. – Красноярск : ИПК СФУ, 2008. – URL: http://files.lib.sfu-kras.ru/ebibl/umkd/165/u_lectures.pdf (дата обращения: 14.01.2018).

192. Фитохимический анализ травы горца почечуйного / А. С. Чистякова, А. А. Сорокина, А. А. Мальцева, А. С. Ткачева, А. О. Игнатова // Сеченовский вестник. – 2014. – № 1 (15). – С. 112-113.

193. Флавоноиды травы горца почечуйного / И. Б. Перова, К. И. Эллер, А. А. Мальцева, А. С. Чистякова, А. И. Сливкин, А. А. Сорокина // Фармация. – 2017. – Т. 66, № 2. – С. 15-19.

194. Флора СССР : [В 30 т.] / гл. ред. акад. В. Л. Комаров. – Москва-Ленинград : Издательство АН СССР, 1934. – [Т.] 5 / ред. пятого тома В. Л. Комаров. – 1936.- 762 с.

195. Химический анализ лекарственных растений / под ред. Н. И. Гринкевич, Л. Н. Сафронич. – Москва : Высшая школа, 1983. – 176 с.

196. Храмова Е. П. Флавоноиды в адаптации растений к условиям среды (на примере *Potentilla fruticosa*) (Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск) / Е.П. Храмова // Материалы УП международного симпозиума по фенольным соединениям, 19-23 октября 2009 г. - Москва, 2009. - С. 276-277.

197. Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России : Ленинградская, Псковская и Новгородская области / Н. Н. Цвелев. – Санкт-Петербург : Издательство Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии, 2000. – 782 с.

198. Чистота лекарственного растительного сырья – показатель безопасности применения / О. И. Попова [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 5(3). – URL: http://www.ssc.smr.ru/media/journals/izvestia/2012/2012_5_748_750.pdf (дата обращения: 14.01.2018).

199. Чистякова А. С. Безопасность применения травы горца почечуйного, произрастающего на территории Воронежской области / А. С. Чистякова, А. А. Мальцева, А. А. Сорокина // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине : тезисы докладов 4-й научно-практической конференции : Сеченовский вестник : электронное

приложение. – Москва, 2016 .- № 1 (23). – С. 24. – URL: https://www.sechenov.ru/upload/iblock/e07/sechenovski-y-vestnik_-2016.pdf (дата обращения: 25.10.2018).

200. Чистякова А. С. Изучение состава полисахаридов травы горца почечуйного методом ТСХ / А. С. Чистякова, А. А. Мальцева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ : материалы 6 Международной научно-методической конференции "Фармообразование-2016", г. Воронеж, 21-23 апреля 2016 г. – Воронеж, 2016. – С. 589-592.

201. Чистякова А. С. Фармакогностическое исследование травы горца почечуйного : дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.02 / А. С. Чистякова. – Москва, 2017. – 200 с.

202. Шлякова Е. В. Определитель сорно-полевых растений Нечерноземной зоны / Е. В. Шлякова. – Ленинград : Колос, 1982. – 208 с.

203. Экологическая оценка кормовых угодий по растительному покрову / Л. Г. Раменский [и др.]. – Москва : Сельхозгиз, 1956. – 472 с.

204. Экспериментальное исследование противовоспалительной активности композиций глюкозамина сульфата и пектина с органическими кислотами / Д. В. Компанцев [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2007. – № S1. – С. 13-15.

205. Элементный состав горцев почечуйного и перечного / А. А. Мальцева, А. С. Чистякова, А. А. Сорокина, А. И. Сливкин // Фармация. – 2016. – № 2. – С. 14-18.

206. Юнусходжаева Н. А. Фенольные соединения травы горца перечного / Н. А. Юнусходжаева, В. Н. Абдуллабекова // Наука и технологии в современном обществе. – 2015. – № 1. – С. 123-125.

207. Acheroyd J. R. New nomenclatural combinations in *Persicaria* Miller and a new hybrid name in *Rumex* L. (Polygonaceae) / J. R. Acheroyd // *Contribuții Botanice*. – 2013. – Vol. 48. – P. 15-21.

208. An illustrated key to the Polygonaceae of Alberta / Compiled and written by Lorna Allen and Linda Kershaw. – URL: <https://anpc.ab.ca/wp-content/uploads/2019/04/Polygonaceae-2019-04.pdf> (дата обращения: 07.01.2019).

209. Analysis of organic acids of tricarboxylic acid cycle in plants using GC-MS, and system modeling / Vinod Kumar [et al.] // Journal of Analytical Science and Technology. – 2017. – Vol. 8, № 20. – URL: <https://jast-journal.springeropen.com/track/pdf/10.1186/s40543-017-0129-6> (дата обращения: 16.05.2019).

210. Analysis of the Chemical Composition of the Essential Oil of *Polygonum minus* Huds. Using Two-Dimensional Gas Chromatography-Time-of-Flight Mass Spectrometry (GC-TOF MS) / S. Baharum [et. al.] // *Molecules*. – 2010. – Vol. 15, № 10. – P. 7006-7015.

211. Anthelmintic and antiproliferative activity of aerial parts of *Persicaria hydropiper* / M. O. Raihan [et al.] // *Der Pharmacia Sinica*. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 104-110.

212. Antibacterial properties of *Persicaria minor* (Huds.) ethanolic and aqueous-ethanolic leaf extracts / A. A Musa [et al.] // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. – 2015. – № 5 (2). – P. 50-56.

213. Antibacterial, antifungal and insecticidal activities of some selected medicinal plants of Polygonaceae / F. Hussain [et al.] // *African Journal of Biotechnology*. – 2010. – Vol. 9, № 31. – P. 5032-5036.

214. Antifungal activity in plants from Chinese traditional and folk medicine / Q. Liu [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2012. – Vol. 143, № 3. – P. 772-778.

215. Anti-Inflammatory Activity and Effect on Locomotion of *Polygonum persicaria* L. (Polygonaceae) Extract in Rats / M. Helena [et al.] // *Latin American Journal of Pharmacy*. – 2011. – № 30 (8). – P. 1635-1638.

216. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin / J. R. Borchardt [et al.] // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2008. – Vol. 2, № 5. – P. 98-110.

217. Antimicrobial Chalcones from the Seeds of *Persicaria lapathifolia* /A. Hailemariam [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. – 2018. – № 7.1 – URL: <https://www.omicsonline.org/open-access/antimicrobial-chalcones-from-the-seeds-of-persicaria-lapathifolia-2167-0501-1000237.pdf> (дата обращения: 25.10.2018).

218. Anti-neoplastic activities of *Polygonum hydropiper* Linn. against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice / S. Munira [et al.] // *Advances in Biological Research*. – 2013. – Vol. 7, № 1. – P. 9-14.

219. Antioxidative activities of water extracts of some Malaysian herbs / N. Faujan [et al.] // *Asean Food Journal*. – 2007. – Vol. 14. – P. 61-68.

220. Antiproliferative activity of Polygonaceae species from the Carpathian Basin against human cancer cell lines / I. Lajter [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2013. – Vol. 27, № 1. – P. 77-85.

221. Ayodele A. E. The family Polygonaceae in West Africa: Taxonomic significance of leaf epidermal characters / A. E. Ayodele, J. D. Olowokudejo // *South African Journal of Botany*. – 2006. – Vol. 72, № 3. – P. 442-459. -- URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629906000342> (дата обращения: 14.05.2018).

222. Biological activities of polyphenols from *Polygonum lapathifolium* / R. Kubínová [et al.] // *Latin American and Caribbean Bulletin of Medicinal and Aromatic Plants*. – 2014. – Vol. 13, № 6. – P. 506-516.

223. Bomble F. W. *Persicaria*-Arten der Waldwege im Aachener Raum / F. W. Bomble // *Jahrbuch des Bochumer Botanischen Vereins*. – 2016. – URL: http://www.botanik-bochum.de/jahrbuch/Pflanzenportraet_Persicaria_Waldwege.pdf (дата обращения: 14.05.2018).

224. Bunawan H. Foliar anatomy and micromorphology of *Polygonum minus* Huds. and their taxonomic implications/ H. Bunawan, N. Talip, N. M. Noor // *Australian journal of crop Science*. – 2011. -- № 5 (2). – P. 123-127. – URL: http://www.cropj.com/noor_5_2_2011_123_127.pdf (дата обращения: 14.05.2018).

225. Chomenka J. Flavonoidų ir fenolinių junginių kiekio bei antioksidantinio aktyvumo įvairavimo *Polygonum persicaria* L. žolėje tyrimas : Magistro baigiamasis darbas / J. Chomenka. – Kaunas, 2015. – 46 p.

226. Choudhary R. K. Phylogeny and systematics of Indian *Polygonum sensu lato* in the subfamily Polygonoideae based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA / R. K. Choudhary, S.-H. Park, J. Lee // *Genetics and Molecular Research*. – 2012. – URL:

<https://pdfs.semanticscholar.org/7f03/d8716c0303916bfb3656fd482e2083974600.pdf>
(дата обращения: 7.02.2019).

227. Comparison of the chemical composition of three species of smartweed (genus *Persicaria*) with a focus on drimane sesquiterpenoids / N. Prota, R. Mumm, H. J. Bouwmeester, M. A. Jongsma // *Phytochemistry*. – 2014. – № 108. – P. 129-136.

228. Cytoprotective activities of *Polygonum minus* aqueous leaf extract on ethanol-induced gastric ulcer in rats / S. Q. Wasman [et al.] // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2010. – Vol. 4, № 24. – P. 2658-2665.

229. Decraene L. P. R. Systematic significance of fruit morphology and anatomy in tribes Persicarieae and Polygoneae (Polygonaceae) / L. P. R. Decraene, S. Hong, E. F. Smets // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 2000. – Vol. 134, № 1-2. – P. 301-337.

230. Derina M. Validation of the ethnopharmacological use of *Polygonum persicaria* for its antifungal properties / M. Derina, S. Zacchino // *Chemistry of Natural Compounds*. – 1968. – Vol. 4, № 2. – P. 112.

231. Determination of vitamin K derivatives in fermented milk products by high-performance liquid chromatography and post-column zinc reduction / C. Lamiche [et. al.]. – URL: https://www.aquanal.fr/cms/images/stories/pdf/poster_k2.pdf (дата обращения: 25.10.2018).

232. Garg S. K. Screening of Indian plants for antifertility activity / S. K. Garg, V. S. Mathur, R. R. Chaudhury // *Indian Journal of Experimental Biology*. – 1978. – № 16 (10). – P. 1077-1079.

233. Hasan M. F. Screening of antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of *Polygonum hydropiper* L. stem extracts / M. F. Hasan, M. M. Rahman // *International Journal of Biosciences*. – 2011. – Vol. 1, № 6. – P. 47-53.

234. Hasmik P. Ter-Voskanyan Revision of Genus *Polygonum* L. s.l. in Flora of Armenia / P. Ter-Voskanyan Hasmik // *International Journal of Bioengineering and Life Sciences*. – 2013. – Vol.7. – №10. – P. 970 – 973.

235. Hassannejad S. A Taxonomic Revision of Genus *Polygonum* L. sensu lato (*Polygonaceae*) for Flora of Iran / S. Hassannejad, S. P. Ghafarbi. – URL: http://www.journalrepository.org/media/journals/ARRB_32/2017/Jul/Hassannejad1442016ARRB27339_P.pdf (дата обращения: 28.06.2019).

236. Inhibition of GIRK channels by extract of *Polygonum persicaria* and isolation of new flavonoids / I. Lajter [et al.]. – URL: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0033-1352225> (дата обращения: 25.10.2018).

237. In-vitro and ex-vivo cellular antioxidant protection and cognitive enhancing effects of an extract of *Polygonum minus* Huds. (*Lineminus*TM) demonstrated in a Barnes Maze animal model for memory and learning / A. George [et al.] // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. – 2014. – Vol. 14, № 1. – P. 161.

238. In-vitro antibacterial activity and cytotoxicity of selected medicinal plant extracts from Penang Island Malaysia on metronidazole-resistant-*Helicobacter pylori* and some pathogenic bacteria / M. U. I. Abdul [et al.] // *Ethnobotany Research and Applications*. – 2010. – № 8. – P. 95-106.

239. Ishfad H. Nutritional and elemental analyses of some selected medicinal plant of the family *Polygonaceae* / H. Ishfad, D. Ghulam, H. Farrukh // *Pakistan Journal of Botany*. – 2008. – Vol. 40(6). – P. 2493-2502.

240. Kantachot Ch. A synopsis of the genus *Persicaria* (*Polygonaceae*) in Thailand / Ch. Kantachot, Pr. Chantaranothai, D. A. Simpson // *Thai Forest Bulletin (Botany)*. – 2010. – Vol. 38. – P. 128-149. – URL: <https://www.tci-thaijo.org/index.php/ThaiForestBulletin/article/view/24398/20764> (дата обращения: 7.02.2019).

241. Keshavarzi M. Leaf anatomical studies of the annual species of *Polygonum* s.l. (Polygonaceae) in Iran / M. Keshavarzi, S. Mosaferi, M. Shojaii / *Phytologia balcanica*. – 2012. -- № 18(2). – P. 127-133. – URL: http://www.bio.bas.bg/~phytolbalcan/PDF/18_2/18_2_05_Keshavarzi_&_al.pdf (дата обращения: 14.05.2018).

242. LadysThumb and pale smartweed // *Weed Control in Natural Areas in the Western United States* / J. M. DiTomaso [et al.]. – 2013. – URL: https://wric.ucdavis.edu/information/natural%20areas/wr_P/Polygonum_lapathifolium-persicaria.pdf (дата обращения: 14.05.2018).

243. LC-DAD-ESIMS/MS characterization of antioxidant and anticholinesterase constituents present in the active fraction from *Persicaria hydropiper* / N. H. N. Hashim [et al.] // *LWT-Food Science and Technology*. – 2012. – Vol. 46, № 2. – P. 468-476.

244. Mabry T. Y. The systematic identification of flavonoids / T. Y. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas. – Berlin : Springer J, 1970. – 707 p.

245. Magdy Hussein Abd El-Twab Karyomorphological and molecular studies on seven species in Poligonoidae (Poligonaceae) in Egypt / Magdy Hussein Abd El-Twab, Ahmed M. Abdel-Hamid, Hagar Ata A. Mohamed // *Chromosome Botany*. – Vol. 7, № 1. – P. 17-22. – URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/iscb/7/1/7_1_17/_pdf (дата обращения: 7.02.2019).

246. Molecular phylogeny of *Polygonum* L. s.l. (Polygonaceae), focusing on European taxa: preliminary results and systematic considerations based on rbcL plastidial sequence data / G. Galasso [et al.] // *Atti della Società italiana di scienze naturali e del Museo civico di storia naturale in Milano*. – 2009. – Vol. 150, № 1. – P. 113-148.

247. Moyeenul Huq A. K. M. Ethnobotanical, Phytochemical, Pharmacological, and Toxicological Aspects of *Persicaria hydropiper* (L.) Delarbre / A. K. M. Moyeenul Huq, J. A. Jamal, J. Stanslas // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/782830> (дата обращения: 25.10.2018).

248. МР 2.3.1.2432-08. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. – Введ. 2008-12-18. – URL: <https://base.garant.ru/2168105/> (дата обращения: 16.05.2019).

249. Ozbay H. Antimicrobial activity of some water plants from the Northeastern Anatolian of Turkey / H. Ozbay, A. Alim // *Molecule*. – 2009. – Vol. 14, № 1. – P. 321-328.

250. Partridge J. W. *Persicaria amphibia* (L.) Gray (*Polygonum amphibium* L.) / J. W. Partridge // *Journal of Ecology*. – 2001. – №. 89. – P. 487-501. – URL: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-2745.2001.00571.x> (дата обращения: 25.10.2018).

251. *Persicaria amphibia* (L.) Delarbre. – URL: <http://www.plantarium.ru/page/view/item/27361.html> (дата обращения: 14.05.2018).

252. *Persicaria hydropiper* (L.) Spach, comb. superfl. – URL: <http://www.plantarium.ru/page/taxonomy/taxon/65191.html> (дата обращения: 14.05.2018).

253. *Persicaria lapathifolia* (L.) Gray. – URL: <http://www.plantarium.ru/page/taxonomy/taxon/65193.html> (дата обращения: 14.05.2018).

254. *Persicaria maculata* (Raf.) Á. Löve & D. Löve. – URL: <http://www.plantarium.ru/page/taxonomy/taxon/27399.html> (дата обращения: 14.05.2018).

255. *Persicaria maculosa* (L.) Gray. – URL: <http://luirig.altervista.org/flora/taxa/index1.php?scientific-name=persicaria+maculosa> (дата обращения: 14.05.2018).

256. *Persicaria maculosa* Gray [family Polygonaceae] : Herbarium : Flora of North America (FNA). – URL: <https://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.flora.fna005001208> (дата обращения: 14.05.2018).

257. *Persicaria maculosa* S.F.Gray 1821 – Comparative analysis of herb and root extracts: Chemical composition and antioxidant activity / E. Svircev [et. al.] // *Planta Medica*. – 2014. – № 80 (16). – P. 2-33. – URL: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0034-1394868> (дата обращения: 25.10.2018).

258. *Persicaria minor* (Huds.) Opiz. – URL: <http://www.plantarium.ru/page/image/id/25573.html> (дата обращения: 14.05.2018).

259. *Persicaria minor* (Huds.) Opiz. – URL: <https://species.nbnatlas.org/species/NHMSYS0000461606> (дата обращения: 25.10.2018).

260. *Persicaria nodosa* (Pers.) Opiz. – URL: <http://www.plantarium.ru/page/taxonomy/taxon/27403.html> (дата обращения: 14.05.2018).

261. *Persicaria scabra* (Moench) Moldenke. – URL: <http://www.plantarium.ru/page/taxonomy/taxon/27409.html> (дата обращения: 14.05.2018).

262. *Persicaria tomentosa* (Schrank) Bicknell – Горец войлочный. – URL: <https://www.binran.ru/en/resursy/informatsionnyye-resursy/tekuschie-proekty/botatlas/?ID=964> (дата обращения: 14.05.2018).

263. Persicarin from water dropwort (*Oenanthe javanica*) protects primary cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurotoxicity / C. J. Ma [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2010. – Vol. 24(6). – P. 913-918.

264. Pharmacological mechanisms underlying gastroprotective activities of the fractions obtained from *Polygonum minus* in sprague dawley rats / S. W. Qader [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2012. – Vol. 13, № 2. – P. 1481-1496.

265. Phytochemical and pharmacological evaluations of *Polygonum lapathifolium* stem extract for anthelmintic and antiemetic activity / L. Bulbul [et al.] // *International Current Pharmaceutical Journal*. – 2013. – Vol. 2, № 3. – P. 57-62.

266. Pollen morphological diversity in selected species of *Persicaria* Mill. (Family; Polygonaceae) / Ghazalah Yasmin [et al.] // *Journal of Medicinal Plants*

Research. – 2010. – Vol. 4, № 10. – P. 862-870. – URL: http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380702561_Yasmin%20et%20al.pdf (дата обращения: 14.05.2018).

267. *Polygonum lapathifolium* L. curlytop knotweed. – URL: <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=pola4> (дата обращения: 25.10.2018).

268. *Polygonum persicaria* L. spotted ladythumb. – URL: <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=popе3> (дата обращения: 25.10.2018).

269. Pooja Arora Pharmacological, phytochemical, biological evaluation and future prospects of *Polygonum hydropiper* / Pooja Arora, H. S. Lamba, Pankaj Sharma // *World Journal of Pharmaceutical Research*. – 2018. – Vol. 7, № 5. – P. 539-551.

270. Review on *Polygonum minus*. Huds, a commonly used food additive in Southeast Asia / P. V. Christopher [et. al.] // *Pharmacognosy Research*. – 2015. – Vol. 7, № 1. – P. 1-6.

271. Sahney M. Stem anatomy of *Persicaria* Mill. / M. Sahney, V. Shukla // *Indian Journal of Plant Sciences*. – 2013. -- № 2 (4). – P. 155-161. – URL: http://www.cibtech.org/J-Plant-Sciences/PUBLICATIONS/2013/Vol_2_No_4/JPS-017-MANJU-%20STEM-%20MILL.pdf (дата обращения: 14.05.2018).

272. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food // *European Food Safety Authority Journal*. – 2011. – № 9(10). – 97 p. – URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2011.2407/epdf> (дата обращения: 14.01.2018).

273. Shiraliyeva G. *Persicaria* Species in Flora of Azerbaijan and Etnobiology of their Use/ G. Shiraliyeva // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. – 2017. – Vol. 6. – № 6. – P. 527-531. – URL: <https://www.ijcmas.com/6-1-2017/Gulnara%20Shiraliyeva.pdf> (дата обращения: 25.10.2018).

274. Smolarz H. D. Chromatographical analysis of phenolic acids in some species of *Polygonum* L. genus. Quantitative determination of the major components by high performance liquid chromatography (HPLC) / H. D. Smolarz // *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. – 2000. – Vol. 69, № 1. – P. 21-23.

275. Smolarz H. D. Comparative study on the free flavonoid aglycones in herbs of different species of *Polygonum* L. / H. D. Smolarz // *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. – 2002. – Vol. 59. – P. 145-148.

276. Smolarz H. D. Flavonoids from *Polygonum lapathifolium* ssp. *tomentosum* / H. D. Smolarz // *Pharmaceutical Biology*. – 2002. – Vol. 40, № 5. – P. 390-394.

277. Smolarz H. D. Chromatographical analysis of phenolic acids in some species of *Polygonum* L. Genus part 1 qualitative analysis by Two-Dimensional Thin Layer Chromatography (TLC) / H. D. Smolarz // *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. – 1999. – Vol. 68, № 4. – P. 287-290.

278. Spotted ladythumb *Persicaria maculosa* Gray or *Polygonum persicaria* L. curlytop knotweed *Persicaria lapathifolia* (L.) Gray or *Polygonum lapathifolium* L. – URL: https://accs.uaa.alaska.edu/wp-content/uploads/Persicaria_maculosa_BIO_PEMA24.pdf (дата обращения: 14.05.2018).

279. Steinmetz E. F. *Materia medica vegetabilis* / E. F. Steinmetz. – Amsterdam : Holland, 1954. – Part II. – 229 p. – URL: https://www.herbalstudies.net/_media/resources/library/MMV-II.pdf (дата обращения: 25.10.2018).

280. Taxonomic significance of leaf epidermal anatomy of selected *Persicaria* Mill. species of family *Polygonaceae* from Pakistan / Ghazalah Yasmin, Mir Ajab Khan, Nighat Shaheen, Muhammad Qasim Hayat // *African Journal of Biotechnology*. – 2010. – Vol. 9 (25). – P. 3759-3768.

281. The determination of antibacterial and antifungal activities of *Polygonum hydropiper* (L.) root extract / M. F. Hasan [et al.] // *Advances in Biological Research*. – 2009. – Vol. 3, № 1-2. – P. 53-56.

282. The Plant List. – URL: <http://www.theplantlist.org> (дата обращения: 14.06.2018).

283. Timson J. Fruit variation in *Polygonum persicaria* L. / J. Timson. – URL: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.670.2373&rep=rep1&type=pdf> (дата обращения: 25.10.2018).

284. Timson J. The taxonomy of *Polygonum lapathifolium* L., *P. nodosum* Pers., and *P. tomentosum* Schrank / J. Timson. – URL: <http://archive.bsbi.org.uk/Wats5p386.pdf> (дата обращения: 25.10.2018).

285. Ulmann E. Lindan : Monographie e. insektiziden Wirkstoffs / E. Ulmann. – Freiburg (im Breisgau) : Schillinger, 1973. – 397 S.

286. Vitamin K2 in different bovine muscles and breeds / R. Rødbotten, T. Gundersen, C. Vermeer, B. Kirkhus // *Meat Science*. – 2014. – Vol. 97, № 1. – P. 49-53.

287. Volatile Profiling of Aromatic Traditional Medical Plant, *Polygonum minus* in Different Tissues and Its Biological Activities / Rafidah Ahmad [et. al.] // *Molecules*. – 2014. – Vol. 19, № 11. – P. 19220-19242.

288. Yano H. M. Caracterização Farmacognóstica de *Polygonum persicaria* L / Pharmacognostic characterization of *Polygonum persicaria* L / H. M. Yano, E. T. M. Kato, E. M. Bacchi // *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. – 2004. – Vol. 63, № 2. – P. 143-148.

Результаты определения морфологических особенностей видов рода горец
Persicaria Mill. (стереомикроскопия)

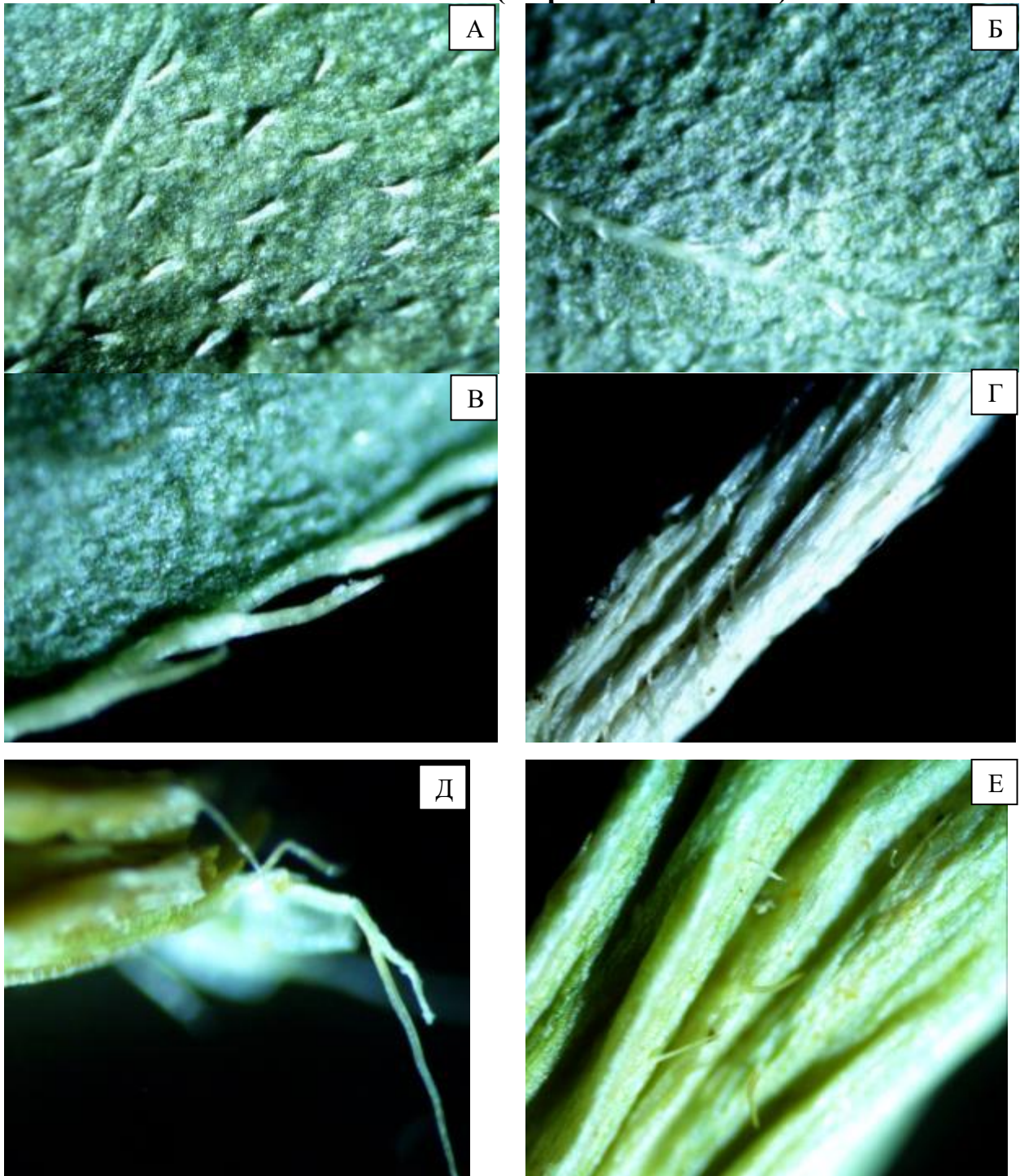


Рисунок 1 - Морфологическое строение наземной формы горца земноводного: А – верхняя сторона, Б – нижняя сторона, В – край листа, Г – черешок, Д – реснитчатые волоски раструба, ув. x40, Е – волоски на поверхности раструба, ув. x100

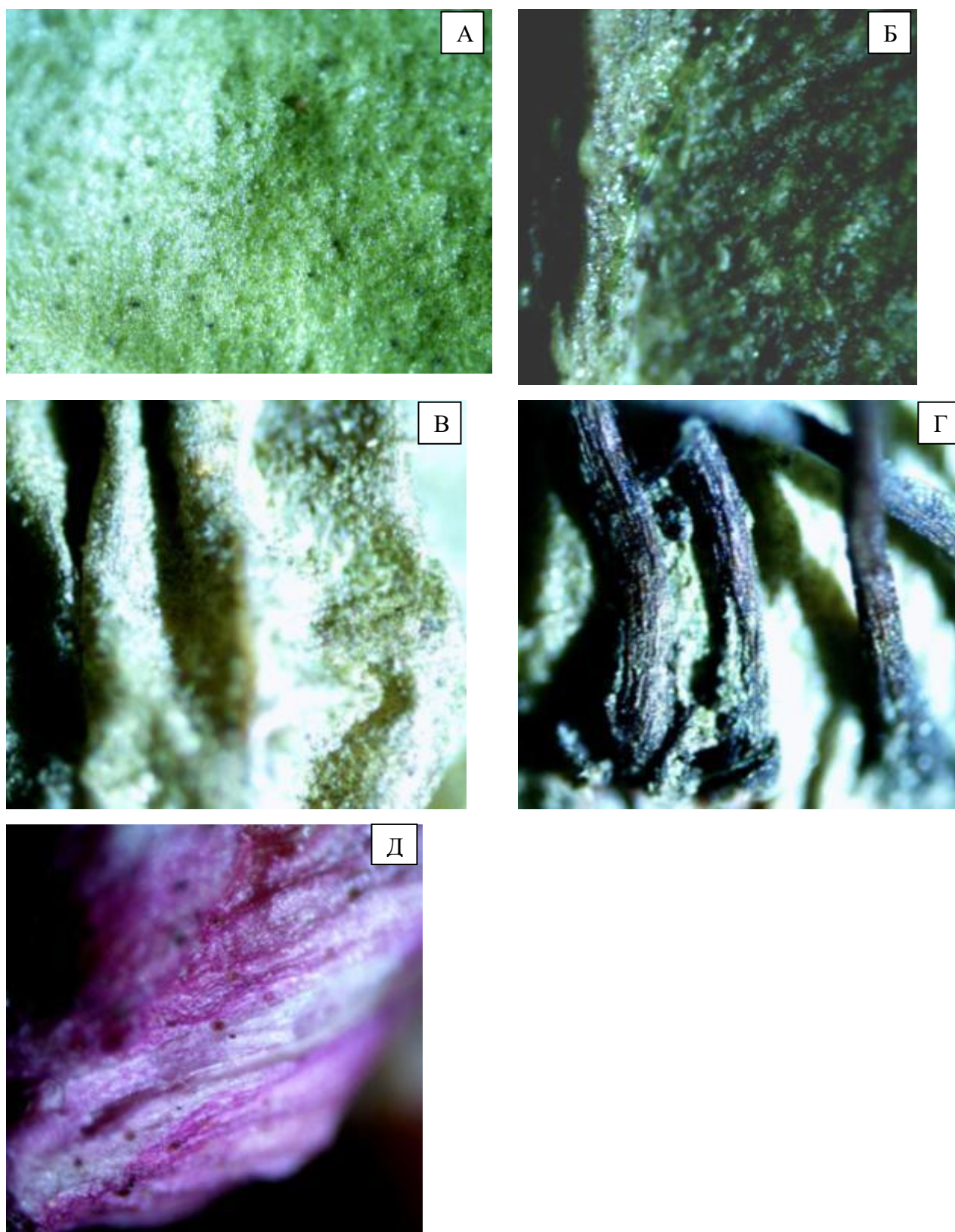


Рисунок 2 -Морфологическое строение водной формы горца земноводного:
 А – верхняя сторона листа, Б – край листа, В – раструб, ув. x40, Г – волоски в
 верхней части раструба ув. x100, Д - фрагмент цветка, ув. x40

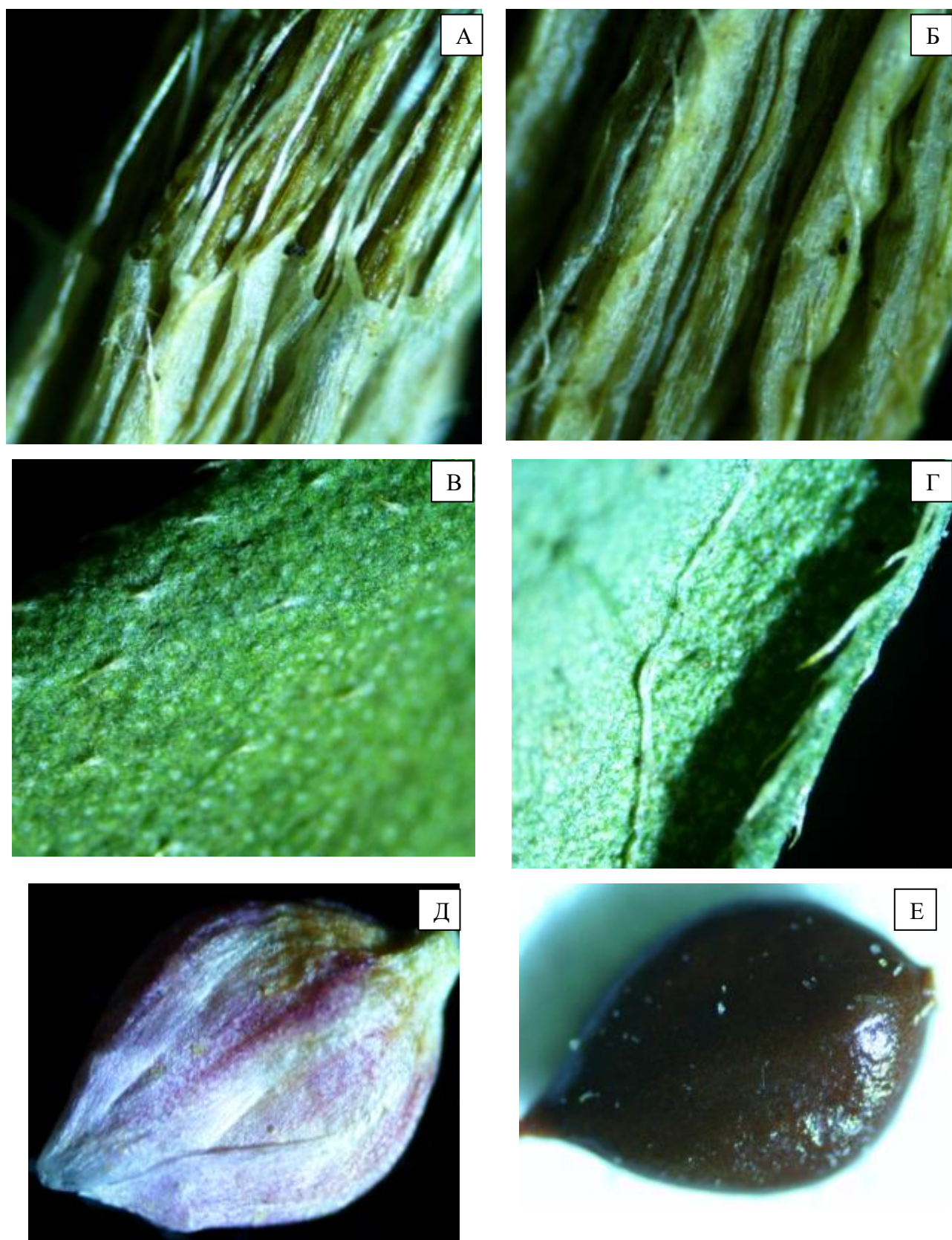
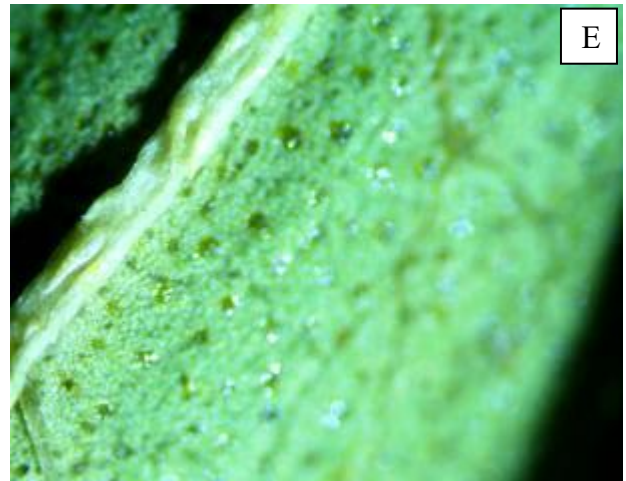
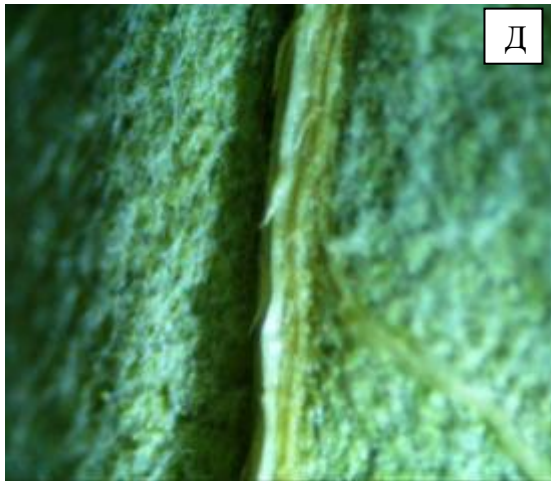
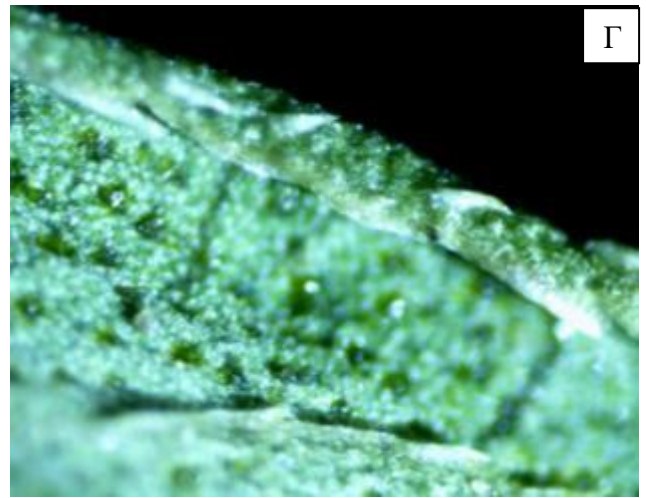
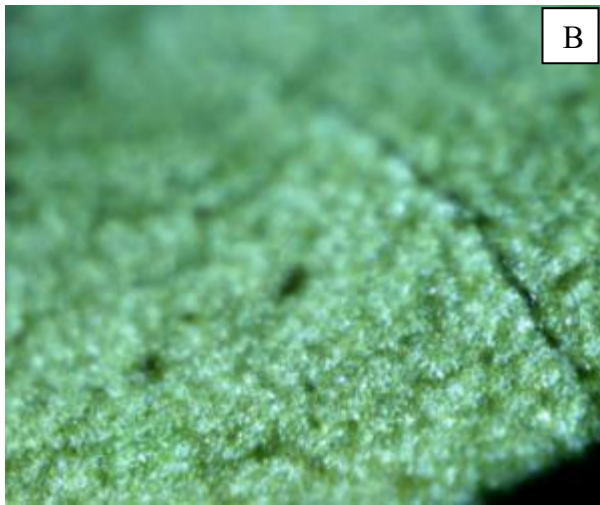
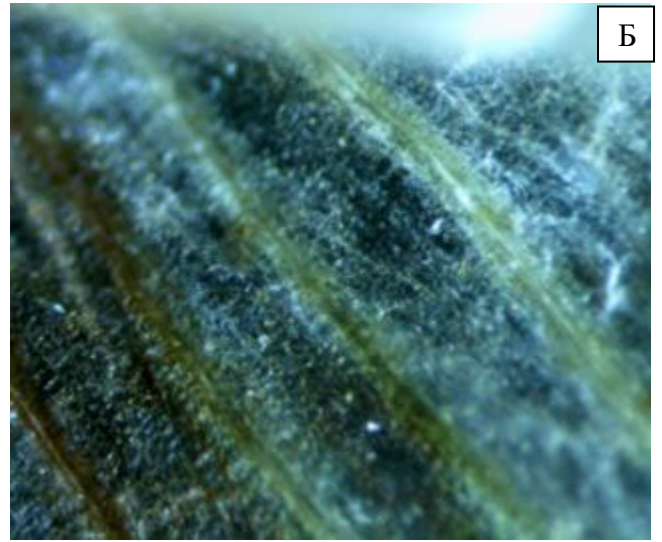
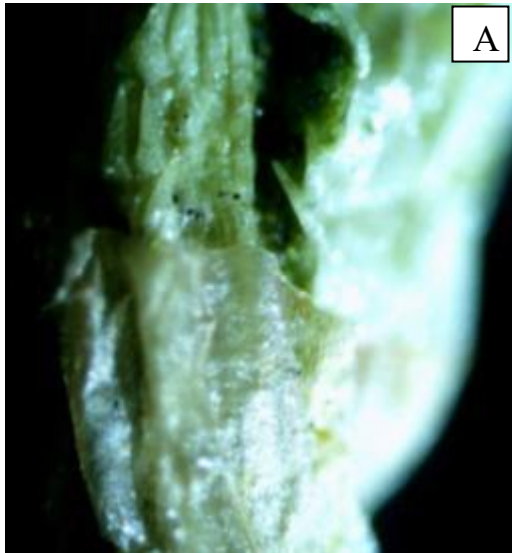


Рисунок 3 - Морфологическое строение горца почечуйного: А – реснитчатые волоски на раструбе, ув. x40, Б – пучковые волоски на раструбе, ув. x100, В - верхняя сторона листа, Г – нижняя сторона и край листа, ув. x100, Д - фрагмент цветка, Е – плод, ув. x40



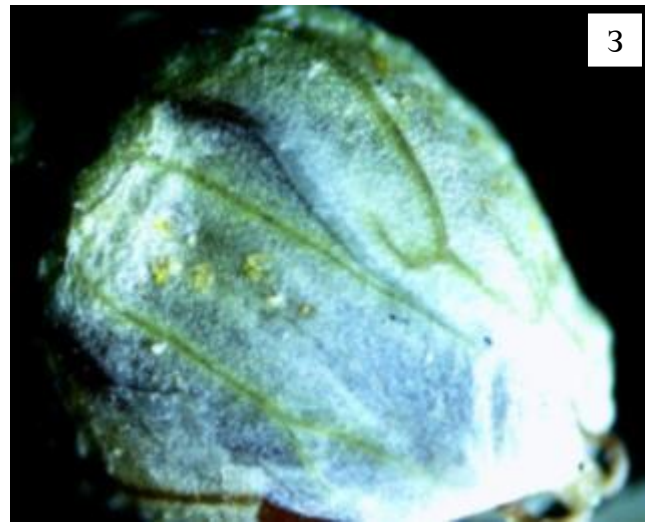


Рисунок 4 - Морфологическое строение горца шероховатого: А – общий вид раструба, ув. x40, Б – поверхность раструба, ув. x100, В – верхняя сторона листа, Г – нижняя сторона и край листа, Д - молодой лист с нижней стороны, пучковые волоски по главной жилке, Е – пучковые волоски по жилке снизу листа, Ж – фрагмент цветоноса, З – цветок, И – плод в околоплоднике, К – зрелый плод, ув. x40

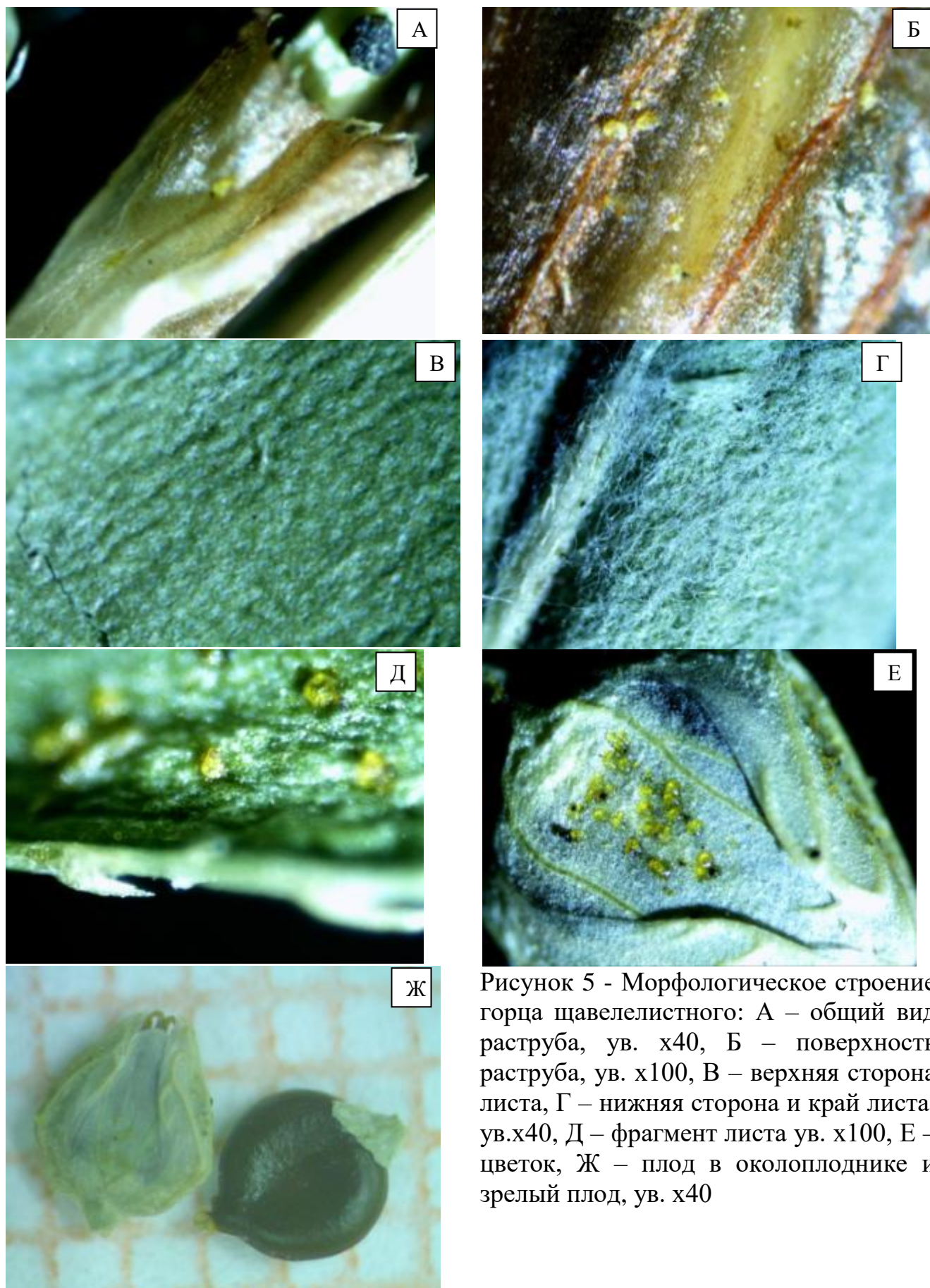
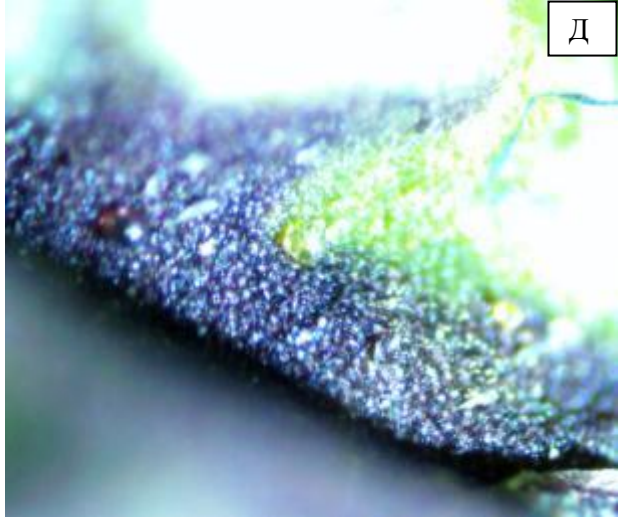
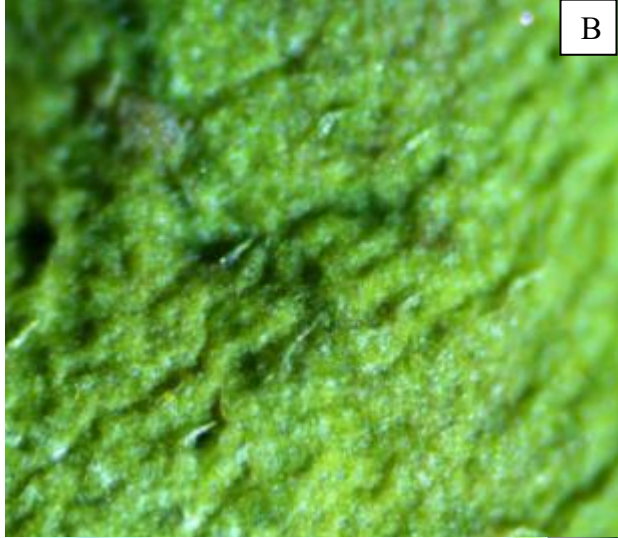
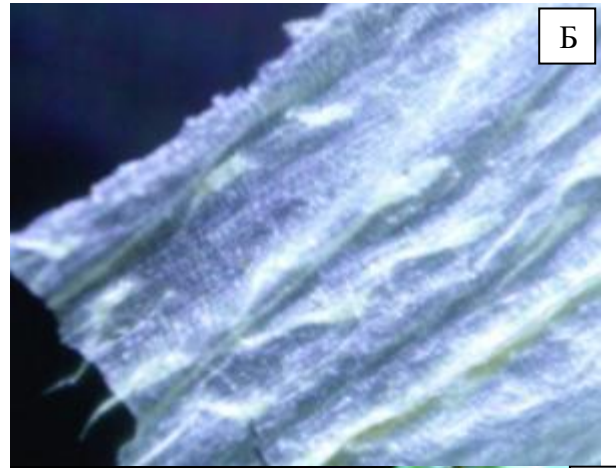


Рисунок 5 - Морфологическое строение горца щавелелистного: А – общий вид раструба, ув. x40, Б – поверхность раструба, ув. x100, В – верхняя сторона листа, Г – нижняя сторона и край листа, ув. x40, Д – фрагмент листа ув. x100, Е – цветок, Ж – плод в околоплоднике и зрелый плод, ув. x40



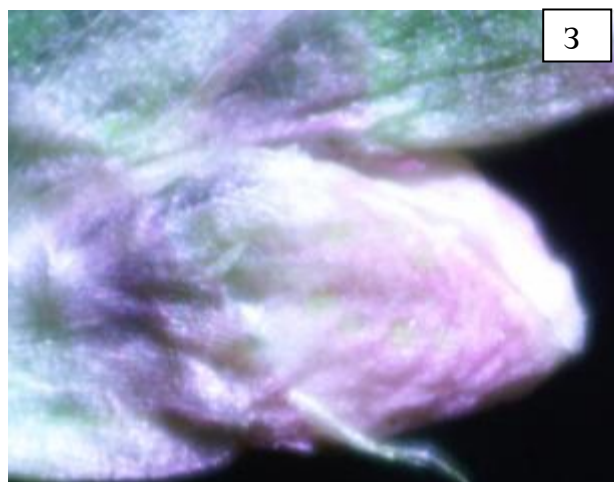
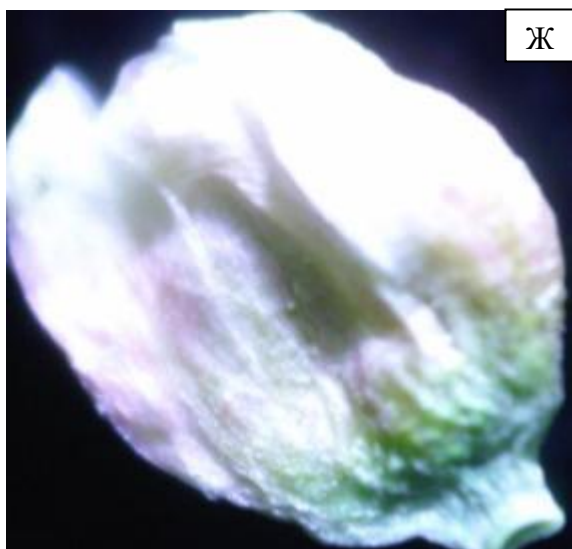
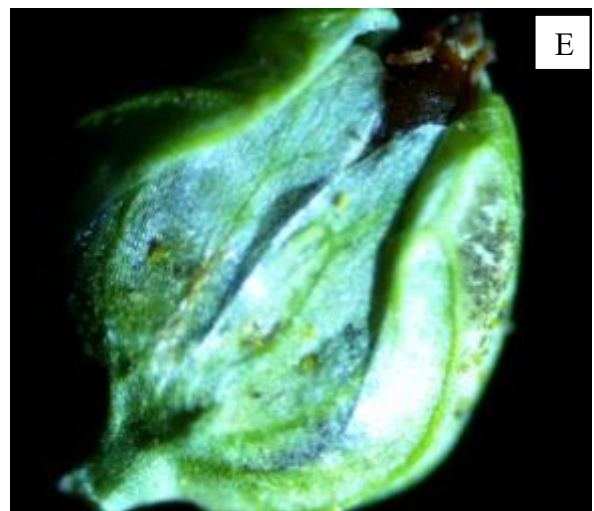
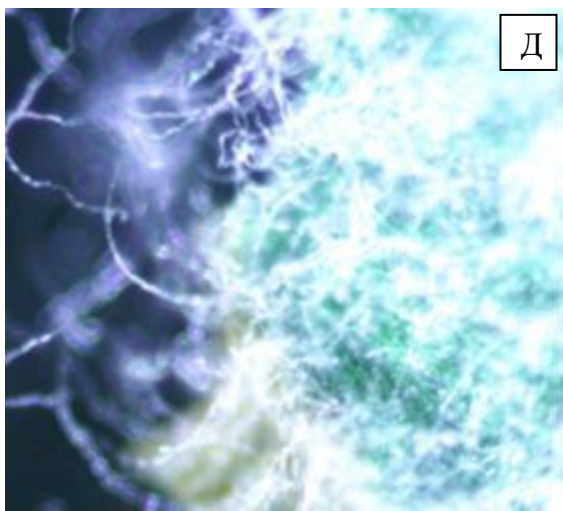
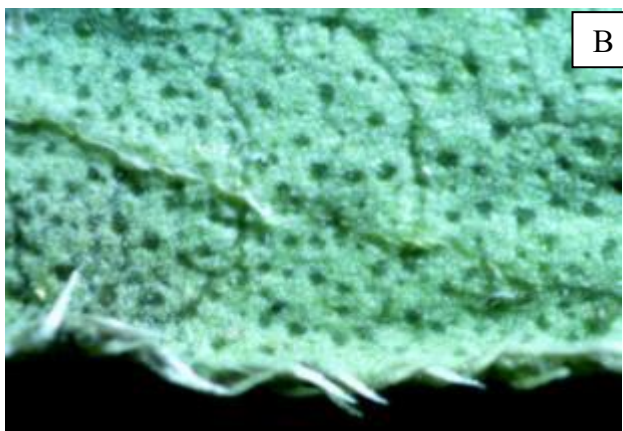
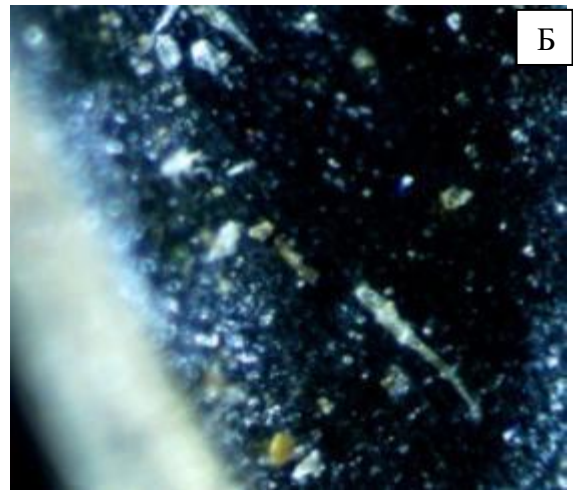


Рисунок 6 - Морфологическое строение горца узловатого: А – общий вид раструба, ув. x40, Б – поверхность раструба, ув. x100, В – верхняя сторона и край листа, ув. x40, Г – нижняя сторона, Д – «темное пятно» с железками на поверхности листа, ув. x100, Е – волоски на черешке листа, ув. x100, Ж – цветок ув. x40, З – цветонос с нераспустившимся цветком, ув. x40



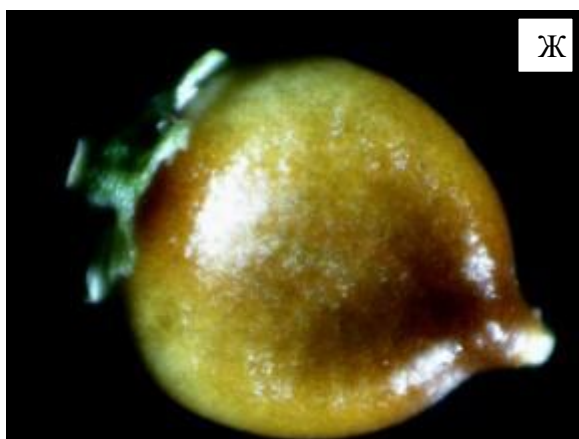
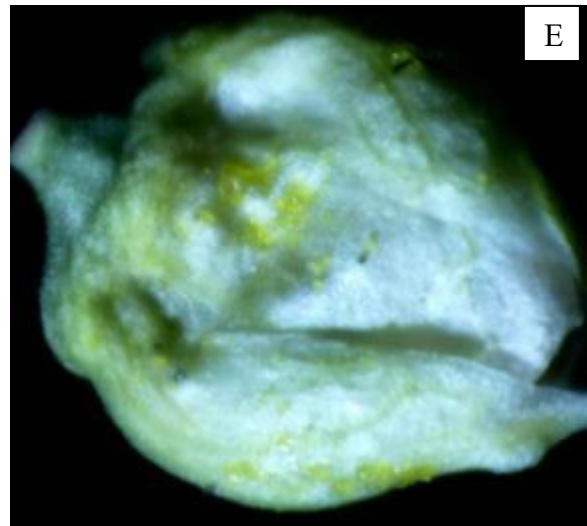
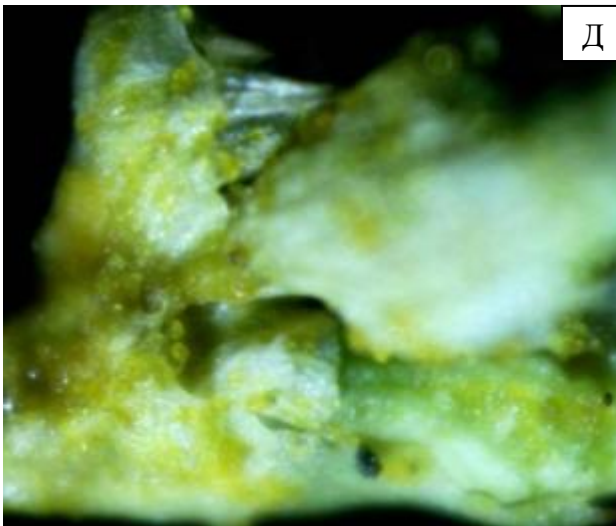
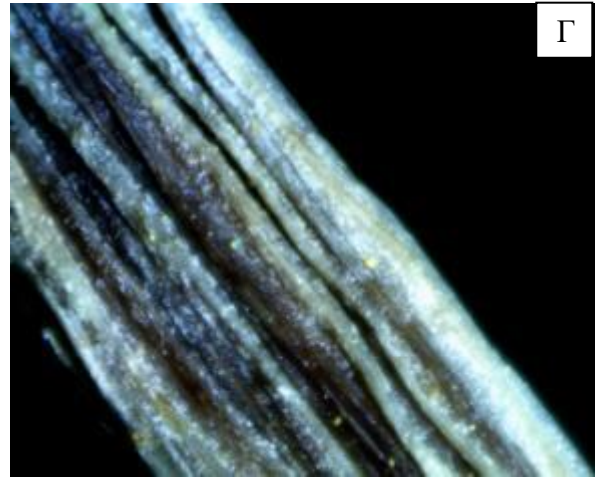
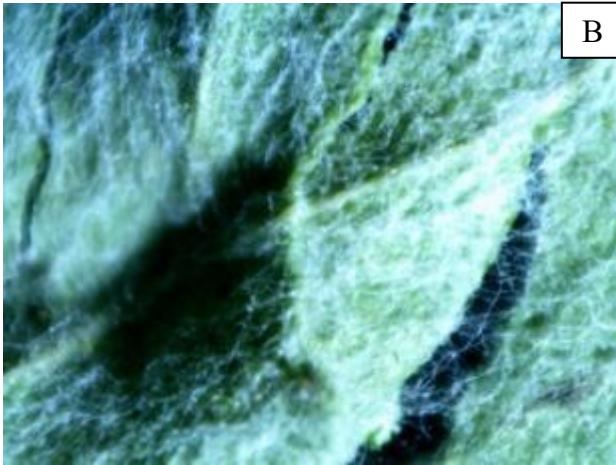
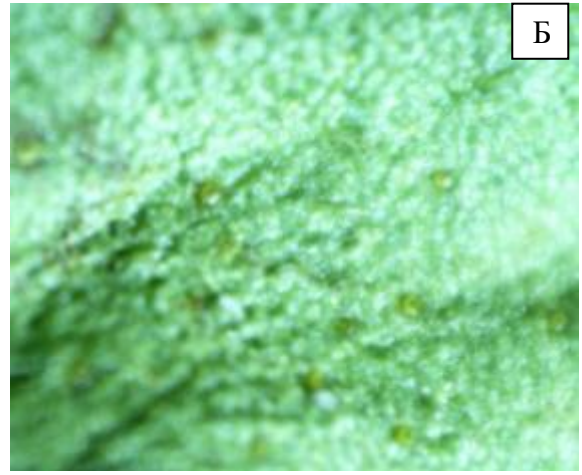


Рисунок 7 - Морфологическое строение горца Бриттингера: А – общий вид раструба, ув. х40, Б – поверхность раструба, ув. х100, В – верхняя сторона и край листа, Г – нижняя сторона, Д – нижняя сторона молодого листа, Е - цветок, Ж – незрелый плод, ув. х40



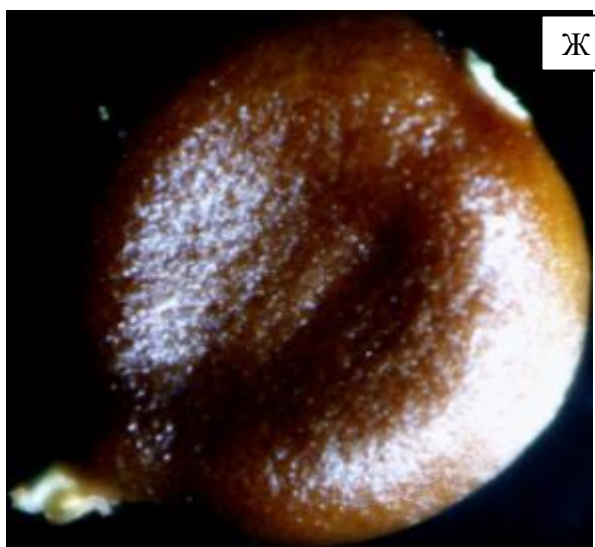


Рисунок 8 - Морфологическое строение горца войлочного: А – общий вид раструба, Б – верхняя сторона листа, В – нижняя сторона листа, ув. х40, Г – фрагмент стебля, Д – цветонос с железками ув. х100, Е – цветок, Ж – незрелый плод, ув. х40

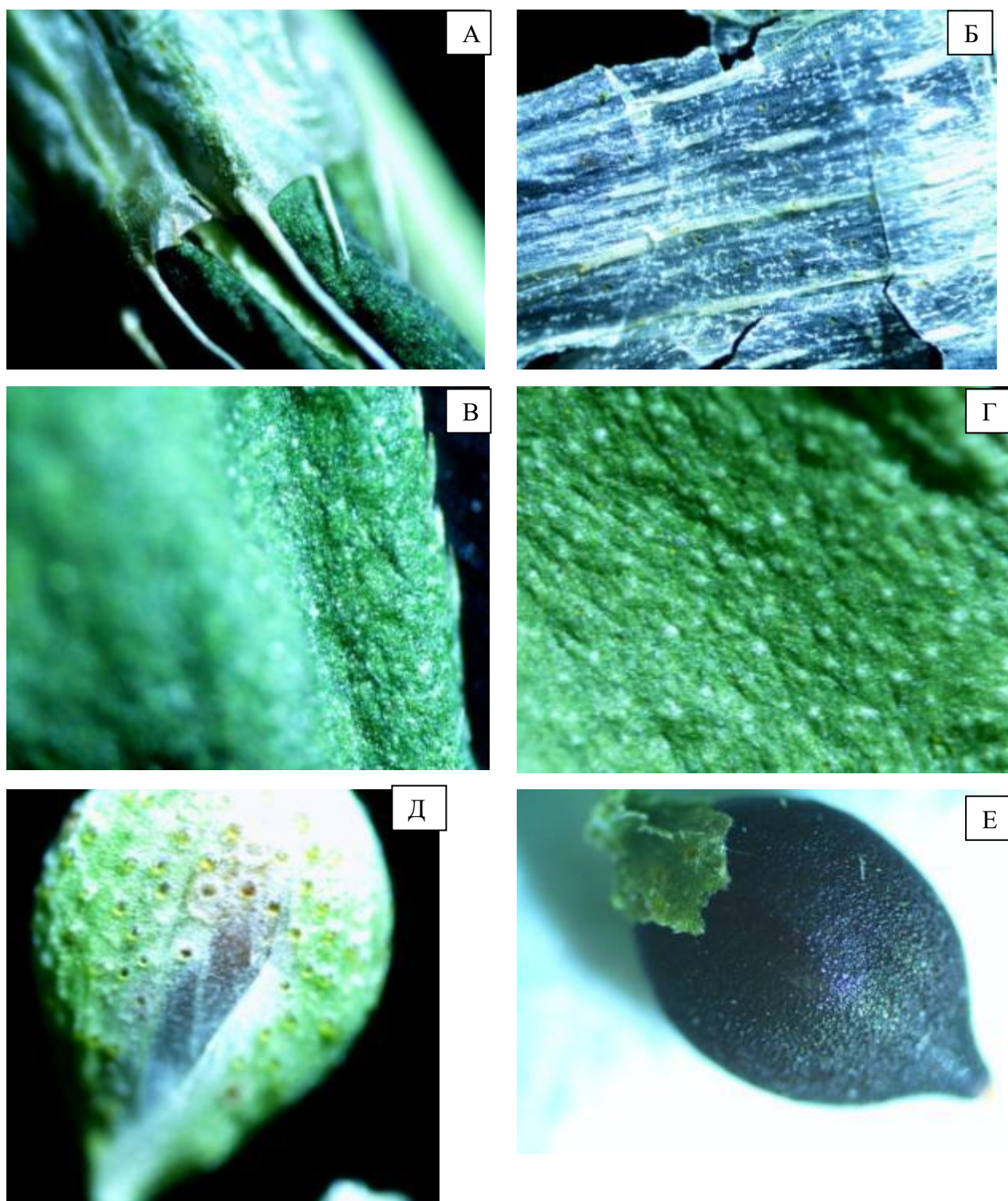


Рисунок 9 - Морфологическое строение горца перечного: А – общий вид раструба, ув. x40, Б – поверхность раструба, ув. x100, В – верхняя сторона и край листа, Г – нижняя сторона листа, Д – околоплодник, Е – плод, ув. x40

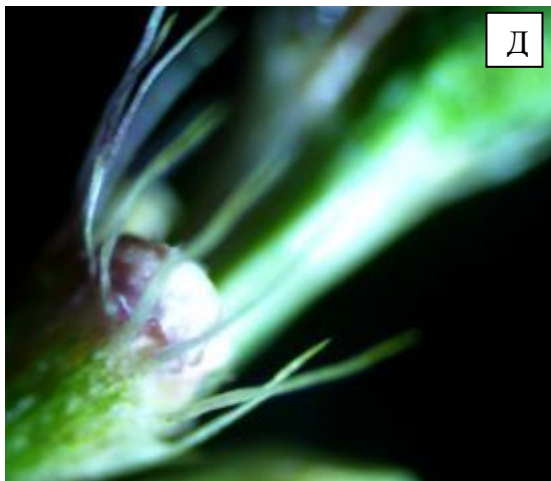
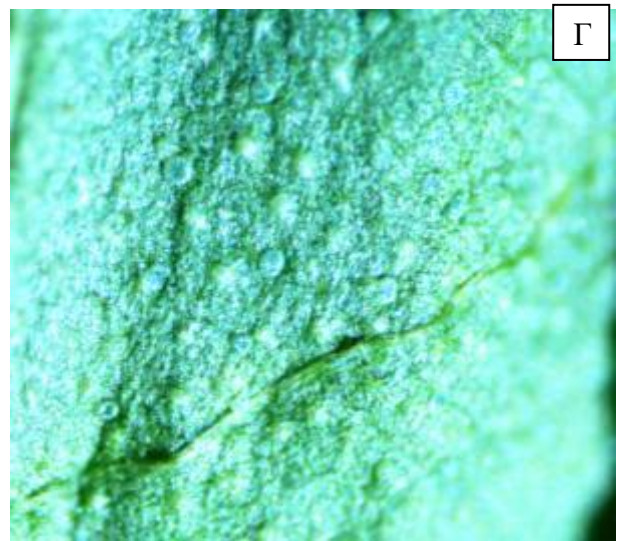
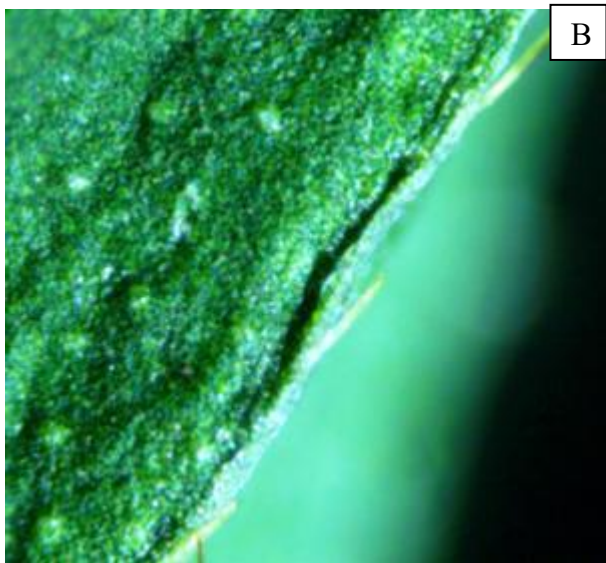




Рисунок 10 - Морфологическое строение горца малого: А – раструб, реснитчатые волоски, Б – раструб, пучковые волоски, В - верхняя сторона и край листа, Г – нижняя сторона листа, Д – волоски по краю раструба на цветоносе, Е - фрагмент цветка, Ж – плод, ув. x40

Результаты определения морфологических особенностей видов рода горец
Persicaria Mill. с помощью люминесцентной микроскопии

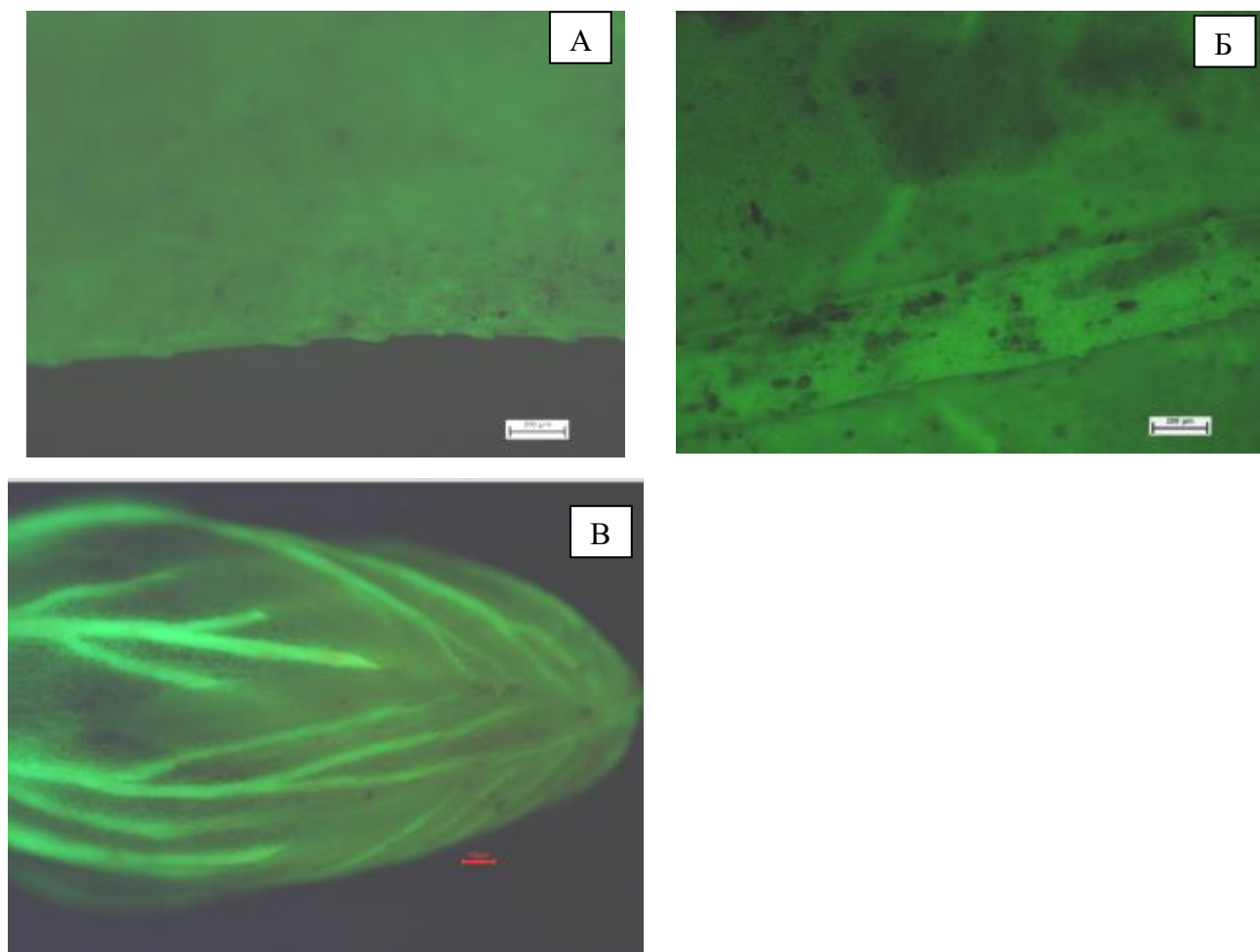


Рисунок 1 - Люминесценция водной формы горца земноводного: А – верхняя сторона листа, Б – нижняя сторона листа, В – цветок, ув. x40

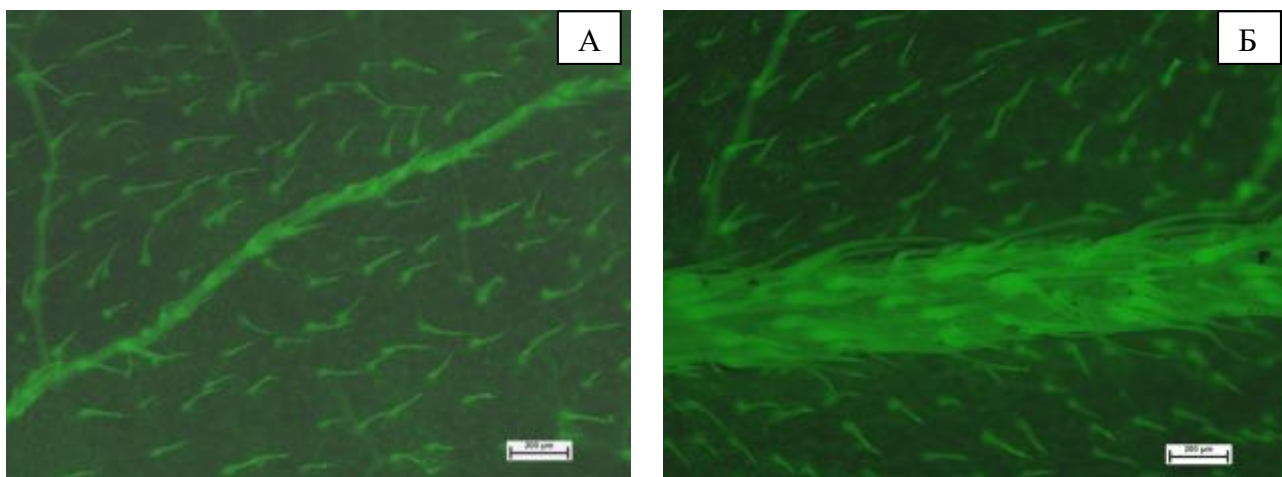


Рисунок 2 - Люминесценция фрагмента листа горца земноводного (наземная форма): А – верхняя сторона, Б – нижняя сторона, ув. x40

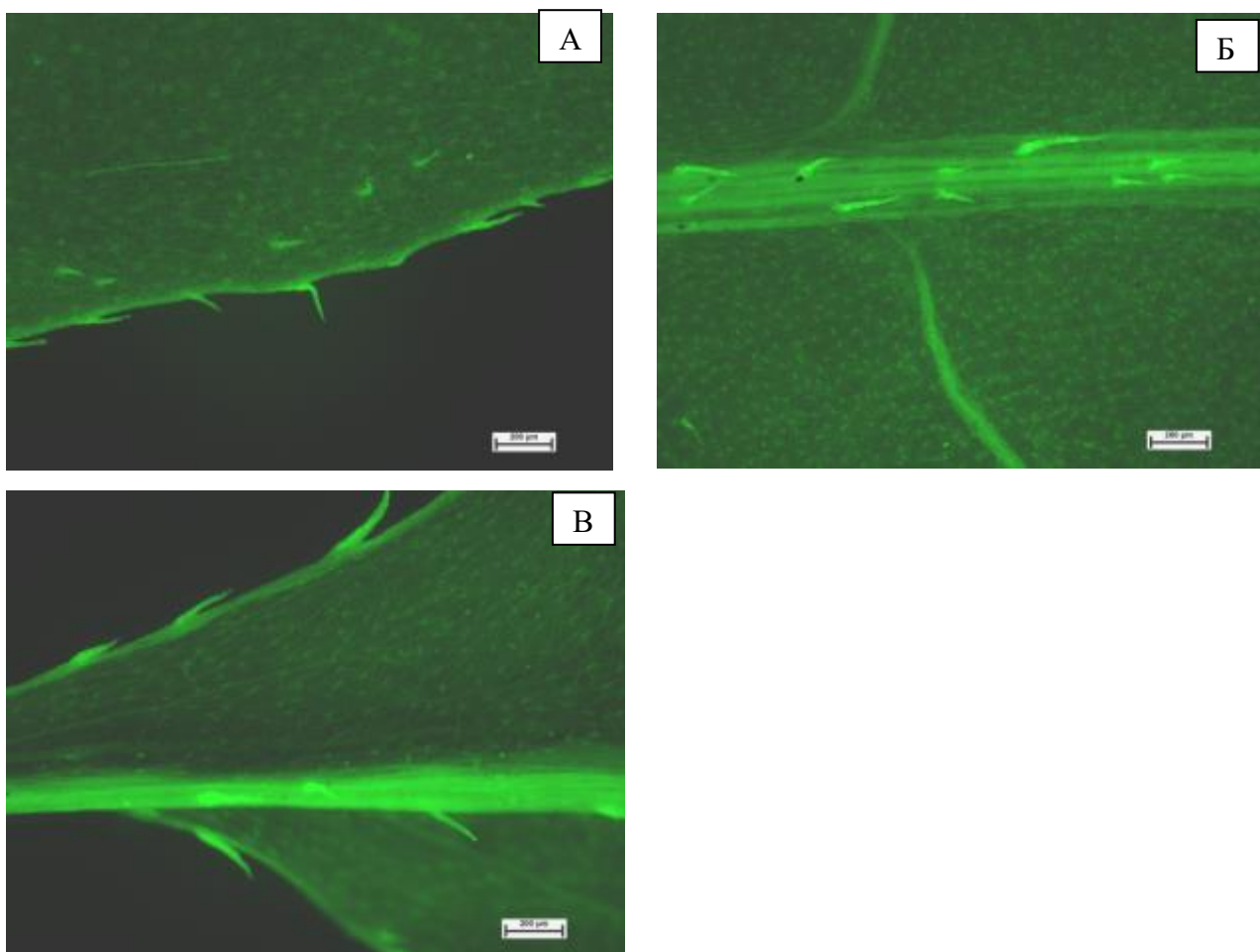


Рисунок 3 - Люминесценция фрагмента листа горца почечуйного: А – верхняя сторона, Б – нижняя сторона, В – основание листа, ув. x40

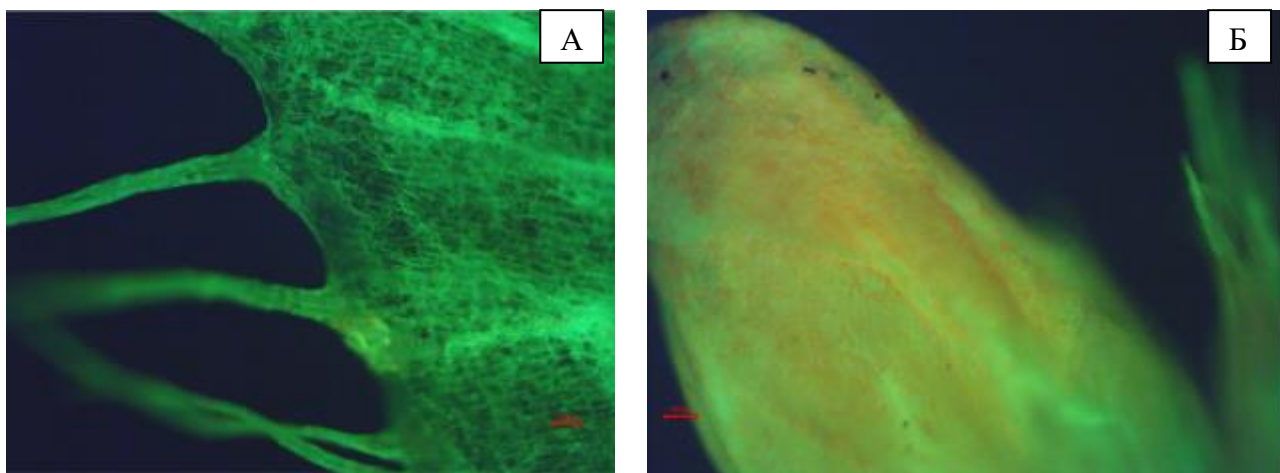


Рисунок 4 - Люминесценция фрагмента раструба и цветка горца почечуйного, ув. x40

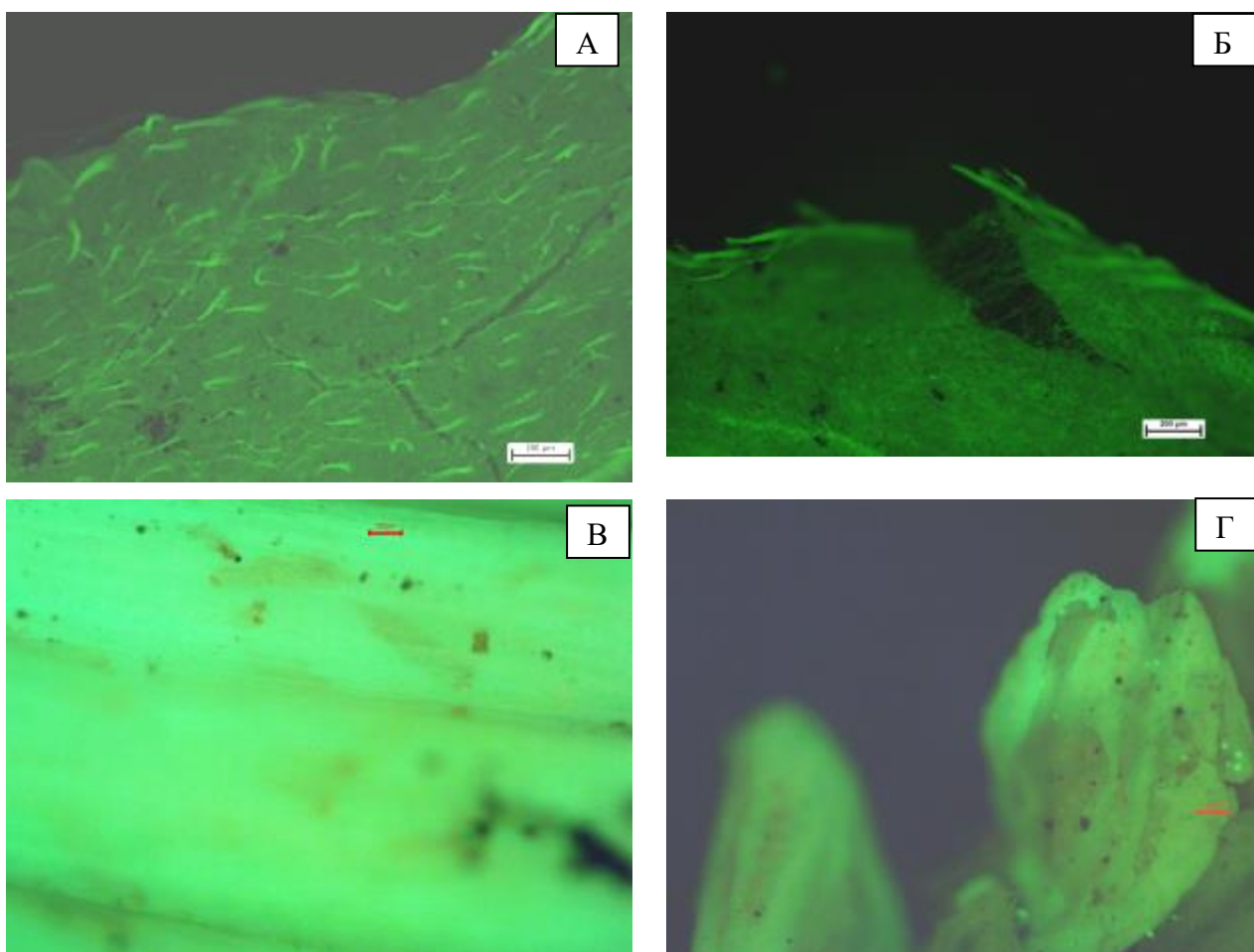


Рисунок 5 - Люминесценция фрагмента листа горца щавелелистного: А – верхняя сторона, Б – нижняя сторона, ув. x40, В – жилка на нижней стороне листа, ув. x100, Г- фрагмент цветка, ув. x40

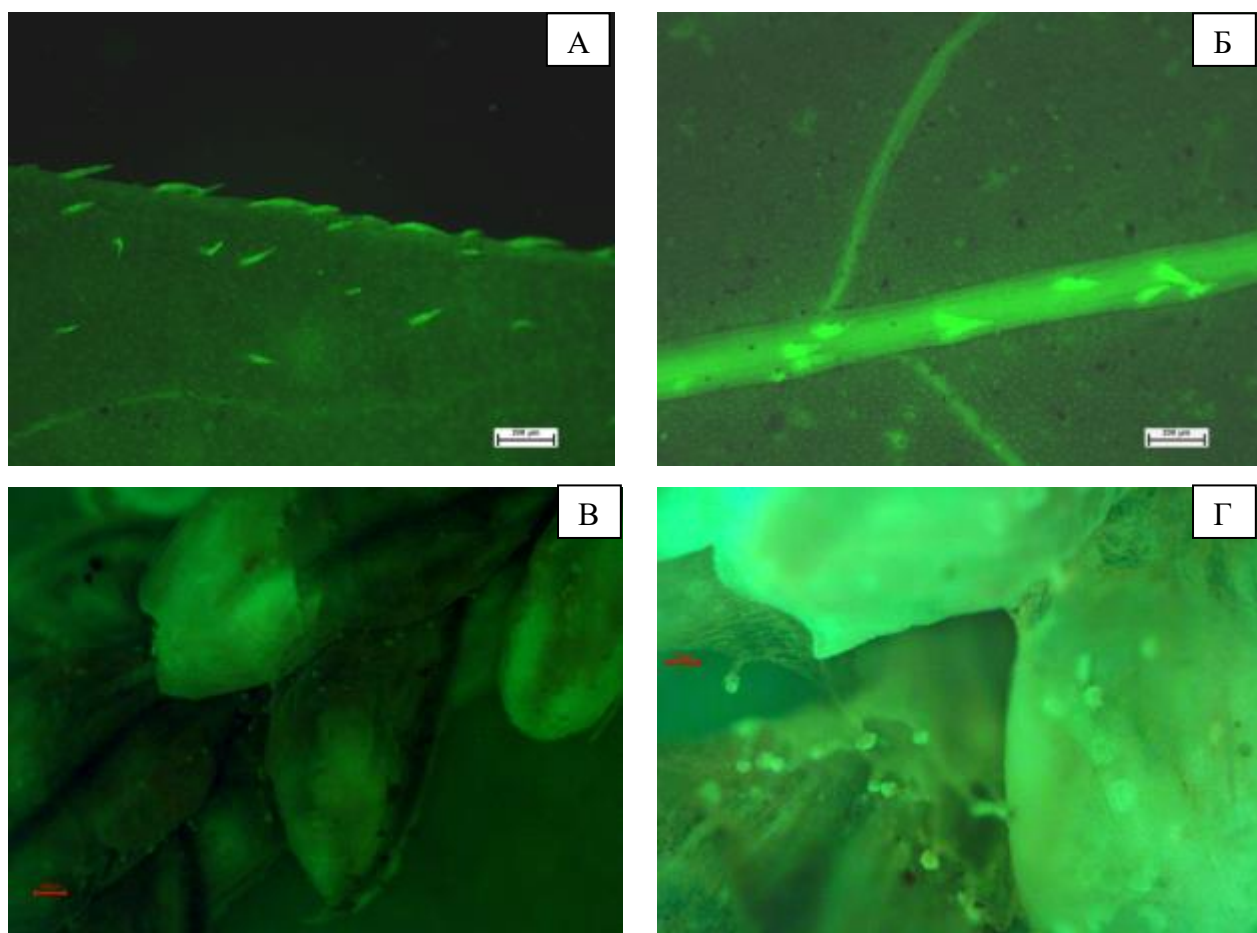


Рисунок 6 - Люминесценция фрагмента листа горца шероховатого: А – верхняя сторона, Б – нижняя сторона, ув. x40, фрагмента цветка: В - ув. x40, Г – ув. x100

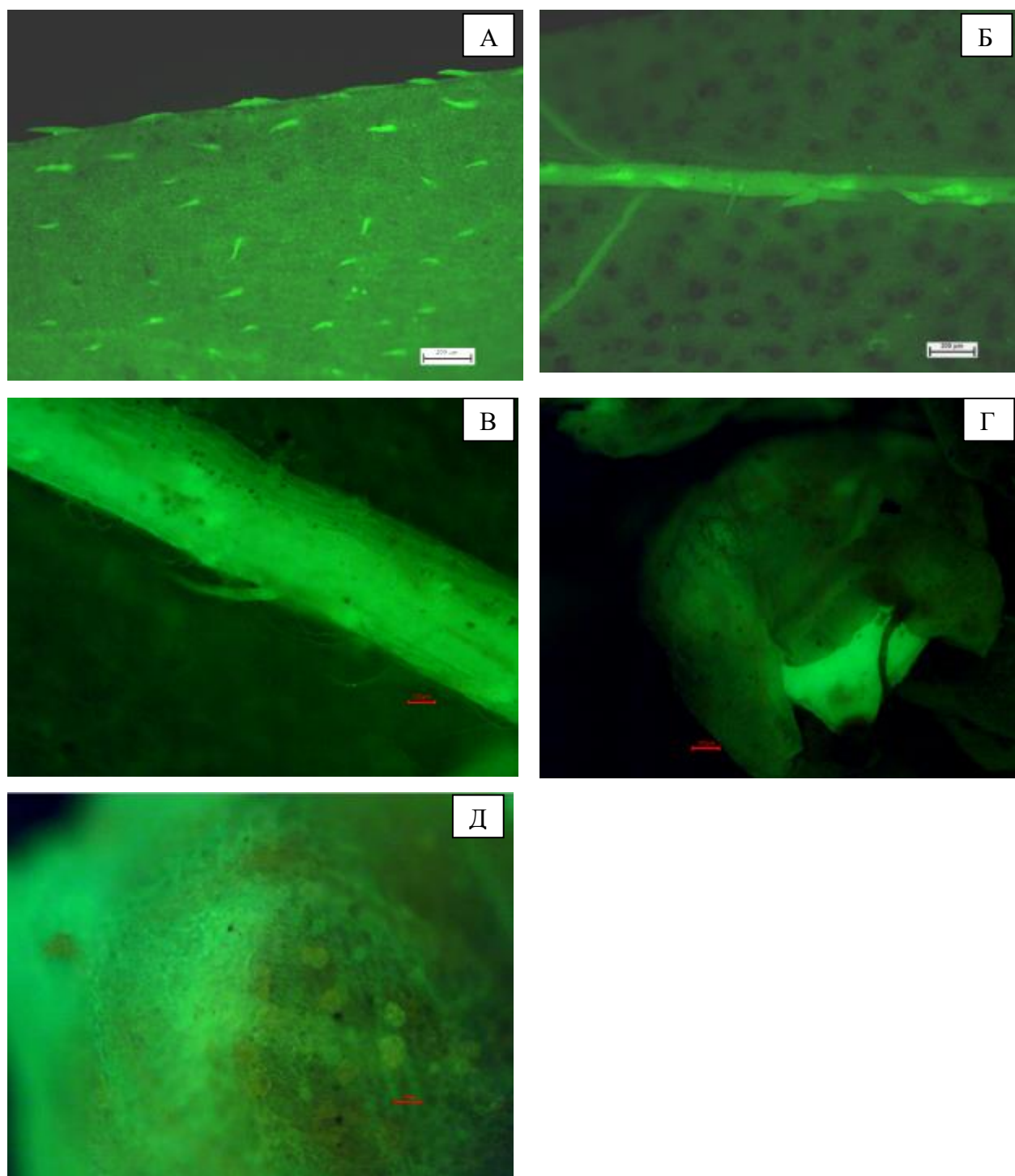


Рисунок 7 - Люминесценция фрагмента листа горца войлочного: А – верхняя сторона, Б – нижняя сторона, ув. x40, В - жилка снизу листа ув. x100, Г – фрагмент цветка Г – ув.40, Д – ув. x100

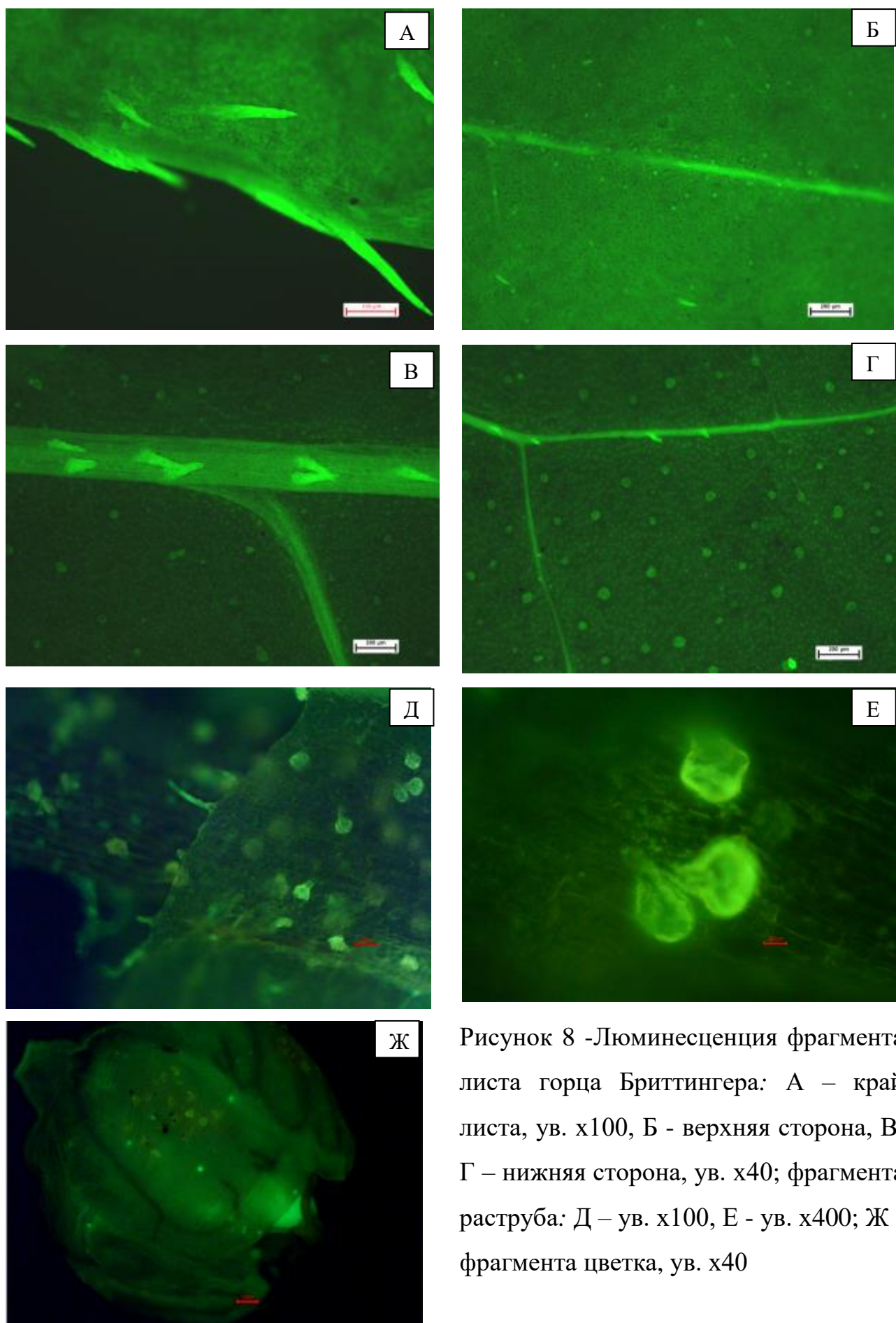


Рисунок 8 -Люминесценция фрагмента листа горца Бриттингера: А – край листа, ув. x100, Б - верхняя сторона, В, Г – нижняя сторона, ув. x40; фрагмента раструба: Д – ув. x100, Е - ув. x400; Ж - фрагмента цветка, ув. x40

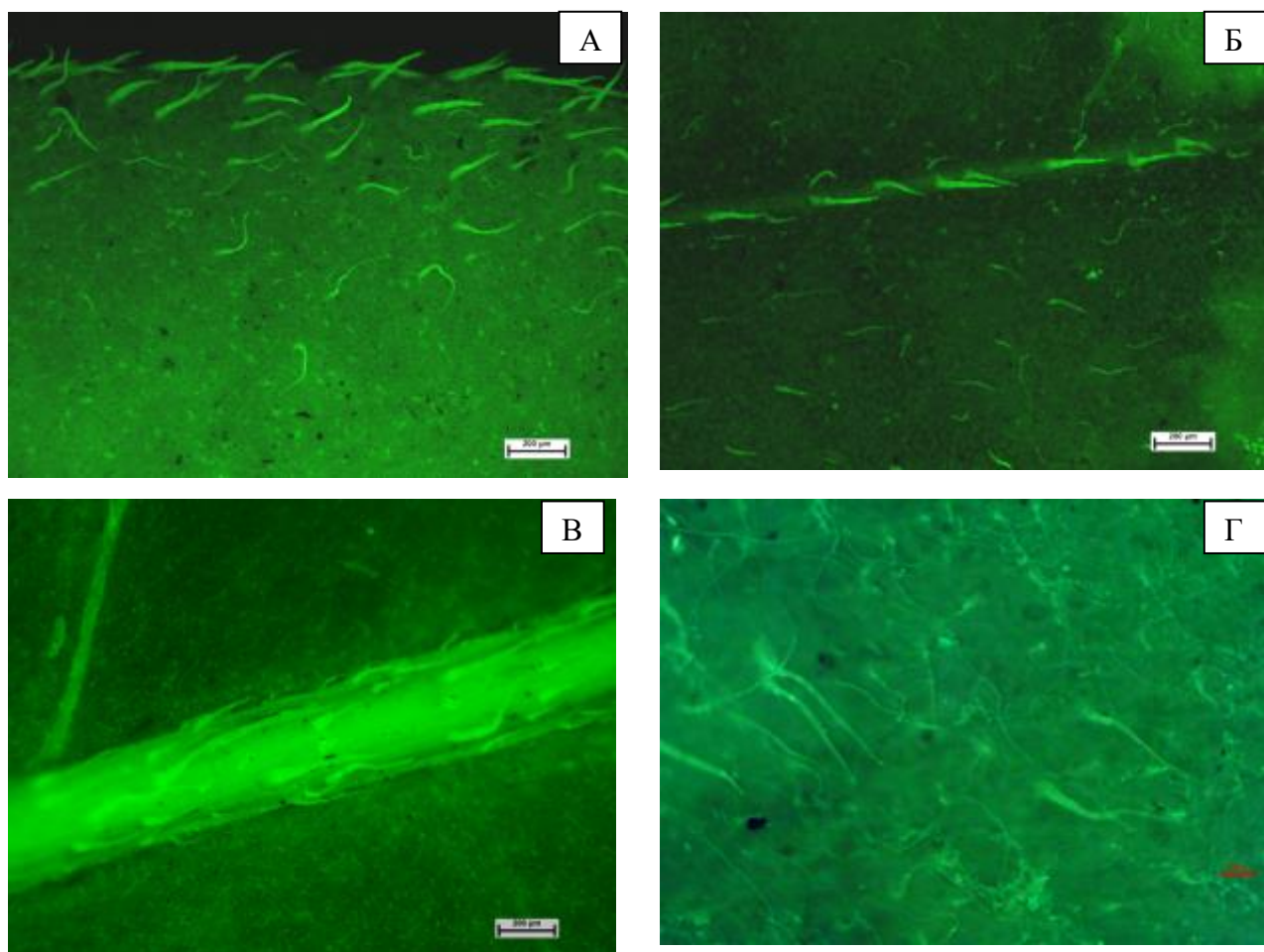


Рисунок 9 - Люминесценция фрагмента листа горца узловатого: А – край листа, верхняя сторона, Б - верхняя сторона, в пятне, ув. x40, В - нижняя сторона, главная жилка, ув. x40, Г – нижняя сторона, ув. x100

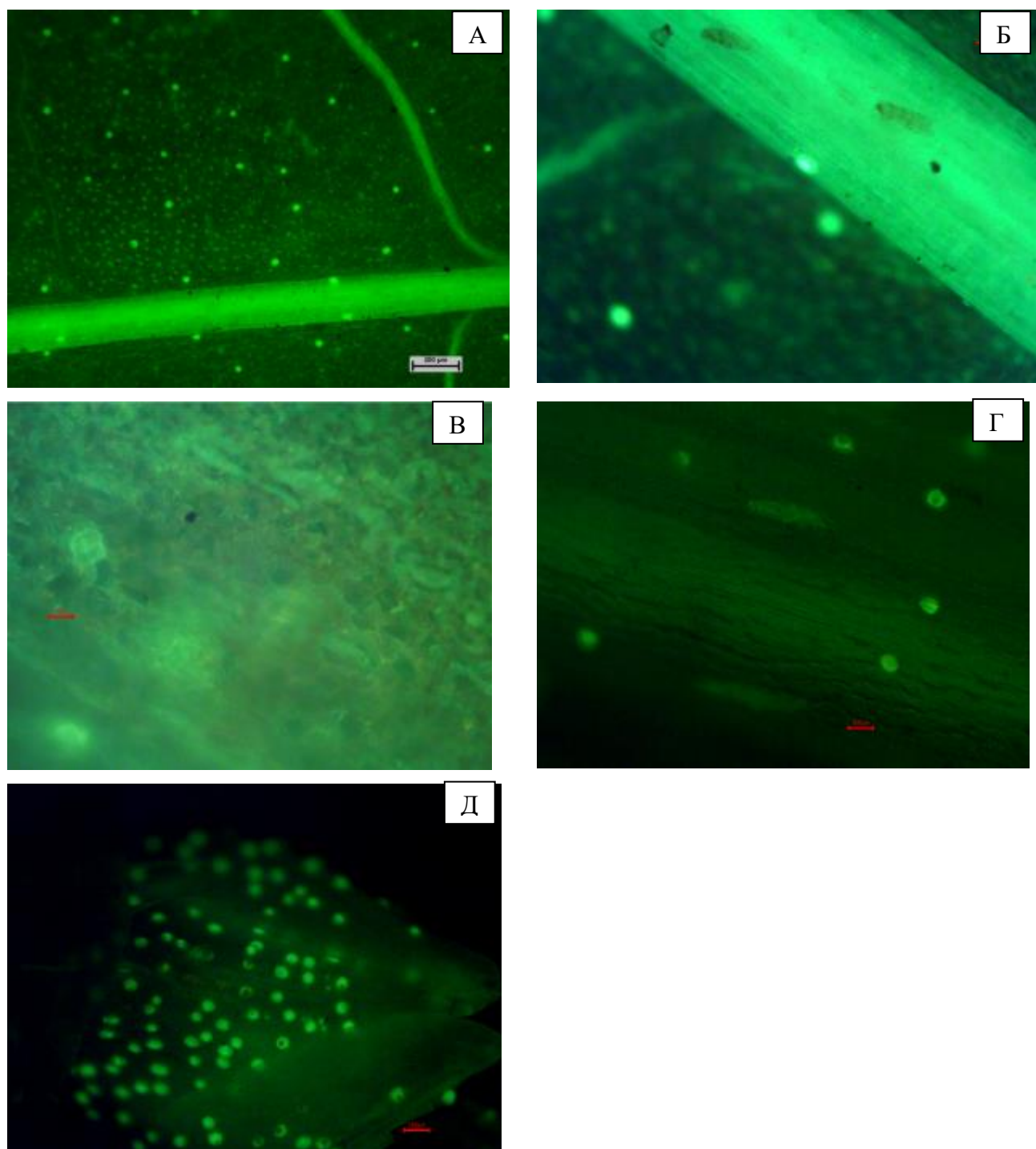


Рисунок 10 - Люминесценция фрагмента листа горца перечного: А - верхняя сторона, в пятне, ув. x40, Б - нижняя сторона, главная жилка, ув. x40, В – нижняя сторона, железка ув. x100; Г - раструба горца перечного, ув. x100; Д - цветка горца перечного, ув. x40

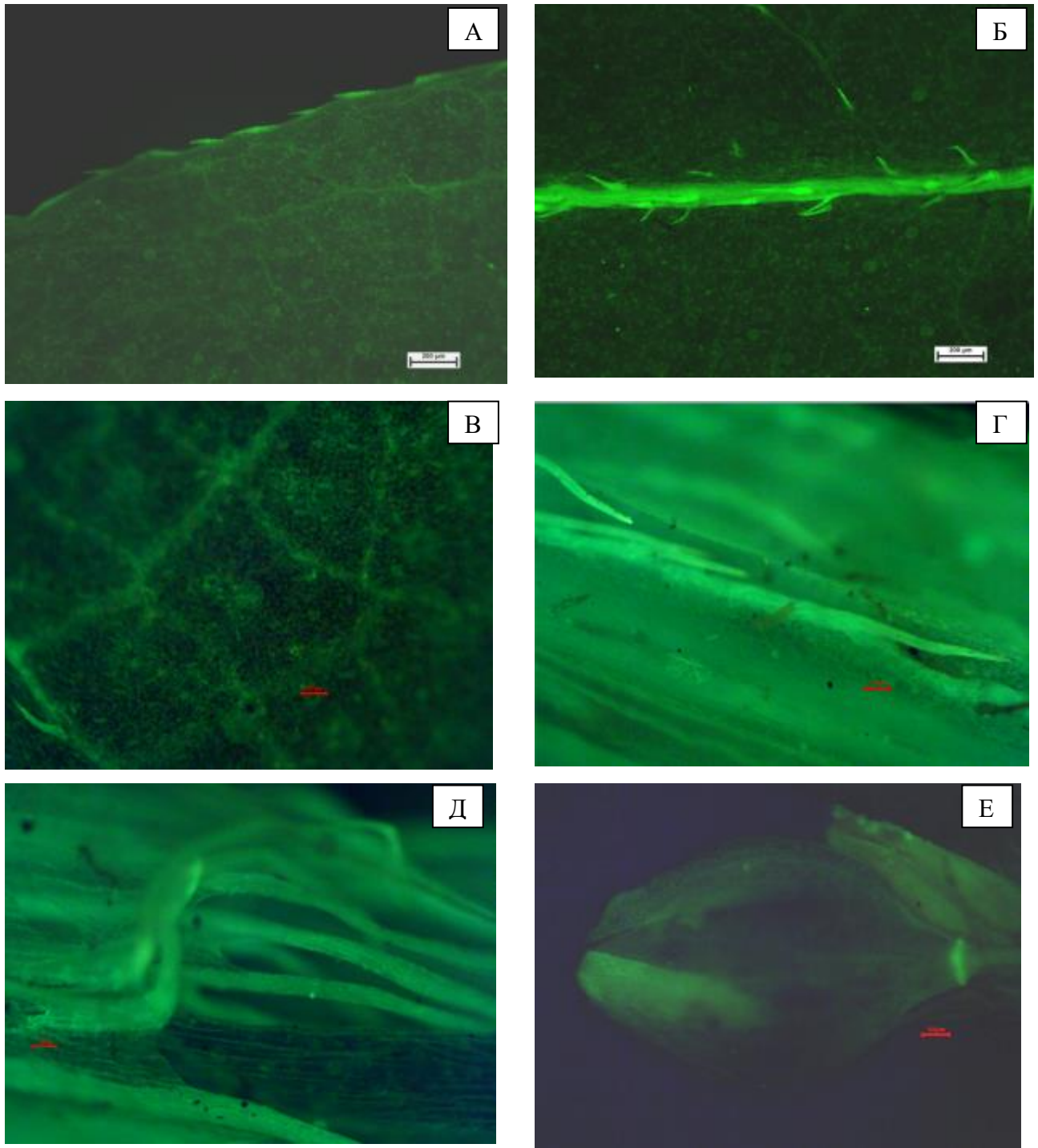


Рисунок 11 - Люминесценция фрагмента листа горца малого: А – край листа, верхняя сторона, Б - нижняя сторона, главная жилка, ув. x40, В – железка на нижней стороне листа, ув. x100; раструба: А – пленчатые и пучковые волоски, ув. x100, Б - реснитчатые волоски, ув. x100; цветка, ув. x40

**Микродиагностические особенности видов рода горец *Persicaria* Mill.,
визуализированные после кипячения в щелочи**

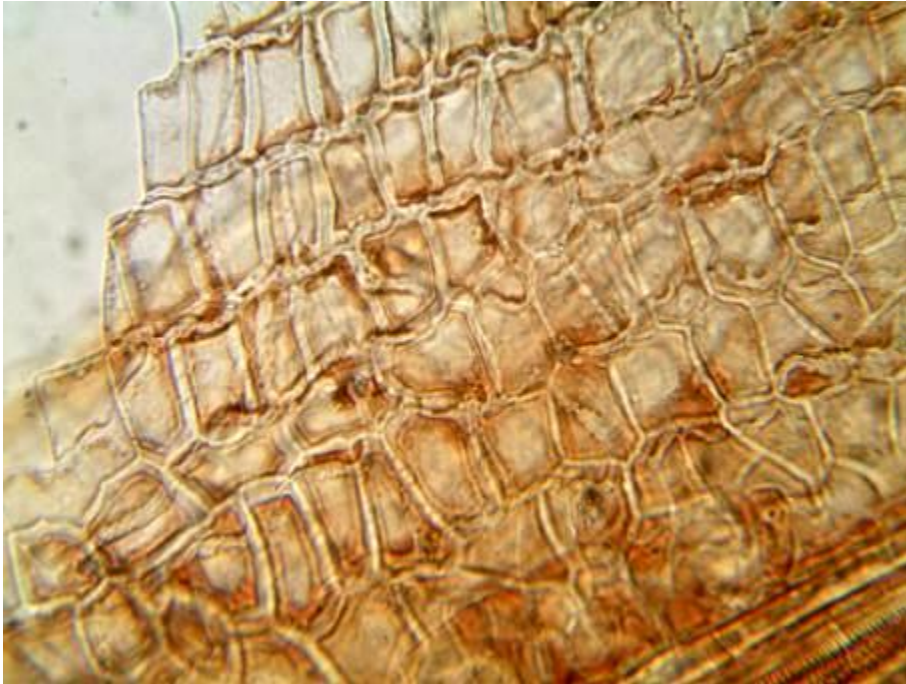


Рисунок 1 - Клетки эпидермиса раструба (на примере горца войлочного), ув. x400

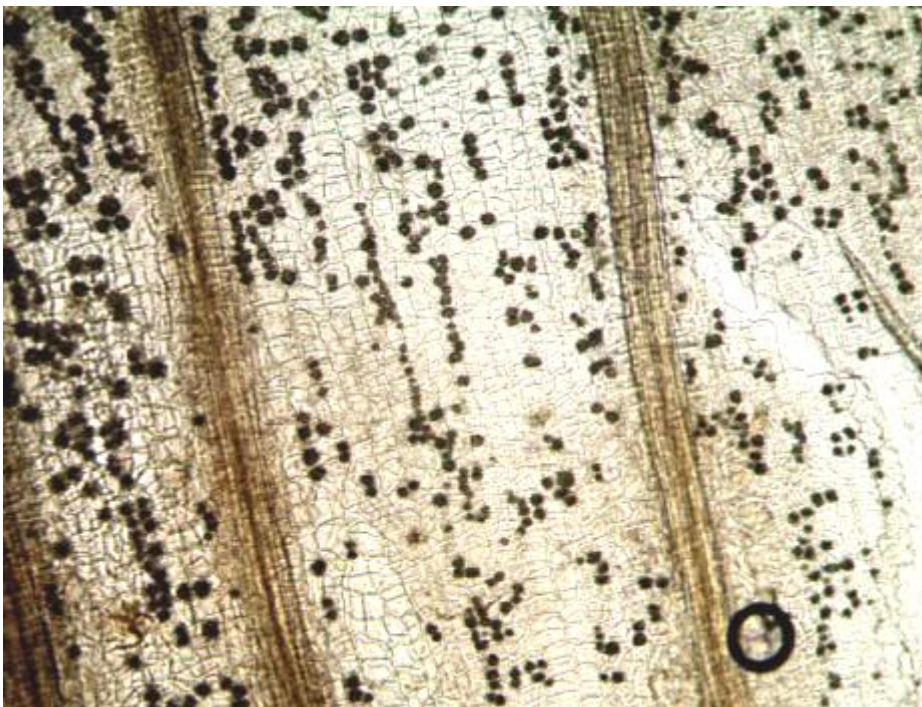


Рисунок 2 - Друзы оксалата кальция у основания раструба (на примере горца Бриттингера), ув. x100

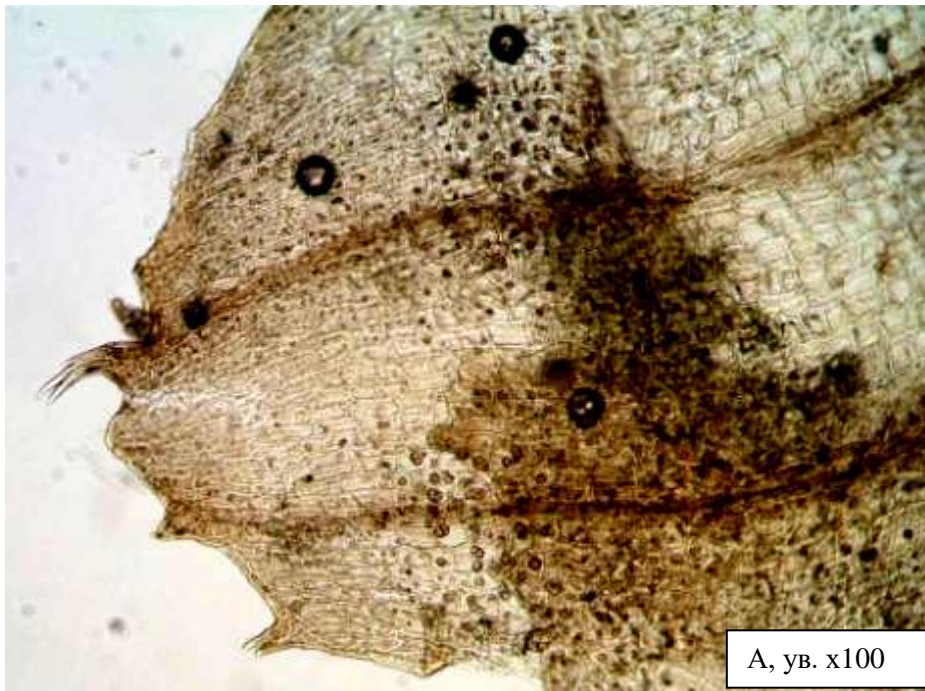
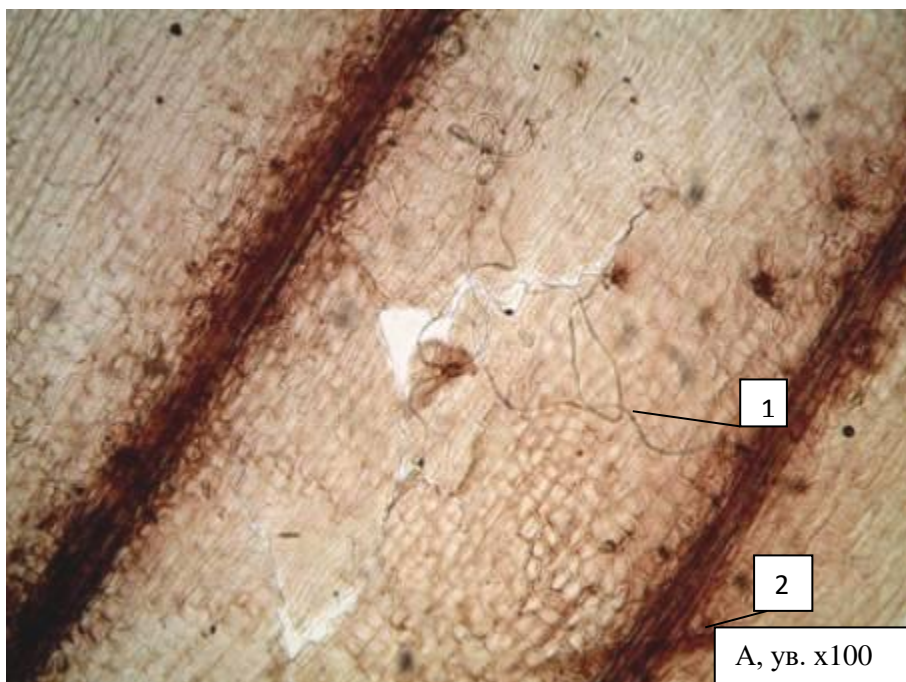




Рисунок 3 - Реснитчатые волоски на раструбе (на примере горца шероховатого (А), горца войлочного (Б), горца малого (В))



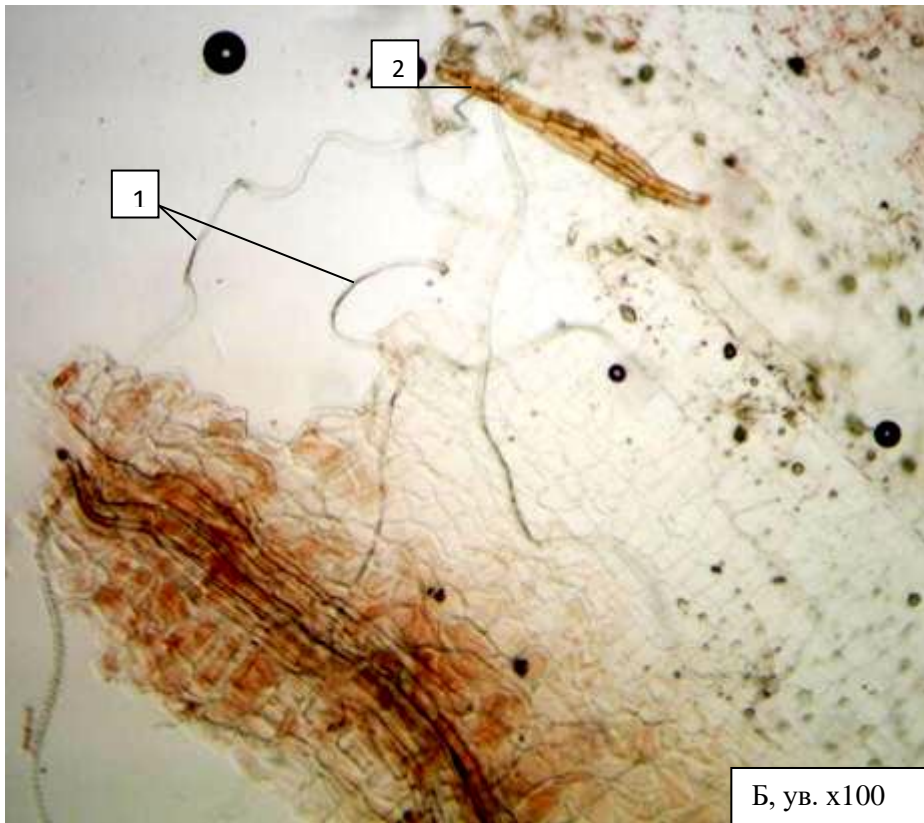
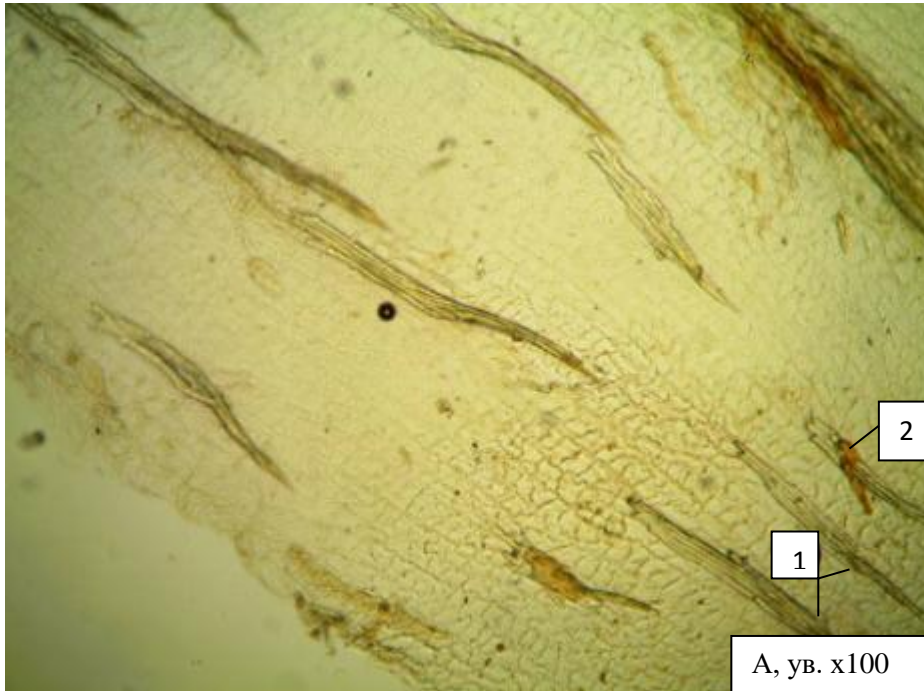


Рисунок 4 - Фрагмент раструба горца щавелелистного (А) и горца узловатого (Б): 1 – нитевидные волоски, 2- пленчатые волоски



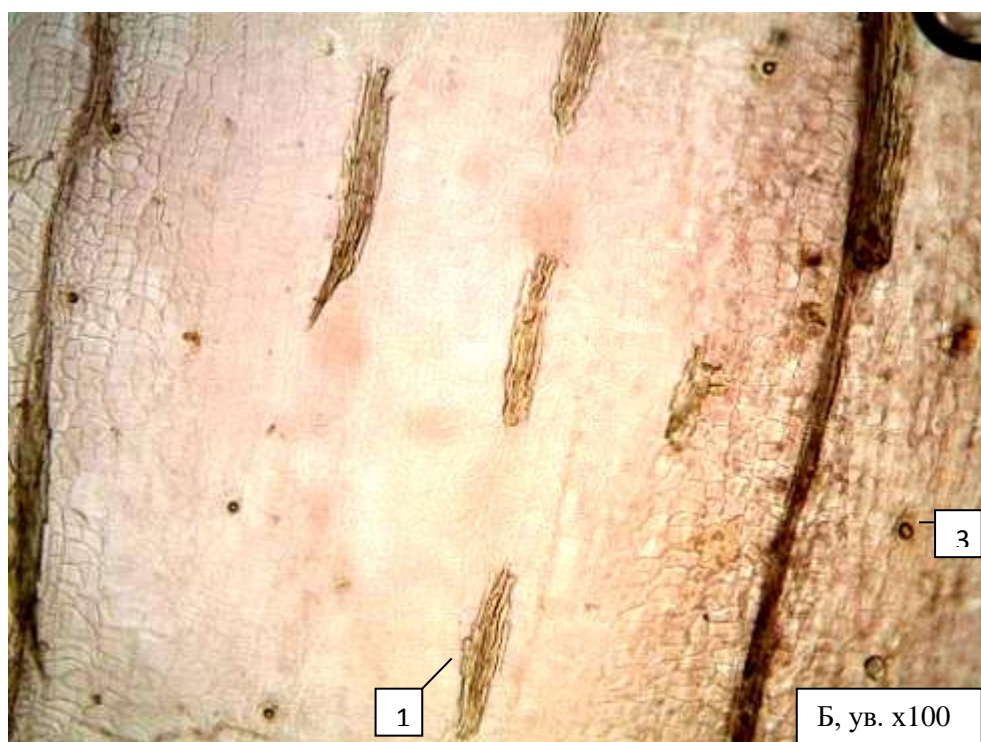


Рисунок 5 - Фрагмент раструба горца малого (А) и горца перечного (Б): 1 – пучковые волоски, 2 – пленчатые волоски, 3 - вместилища

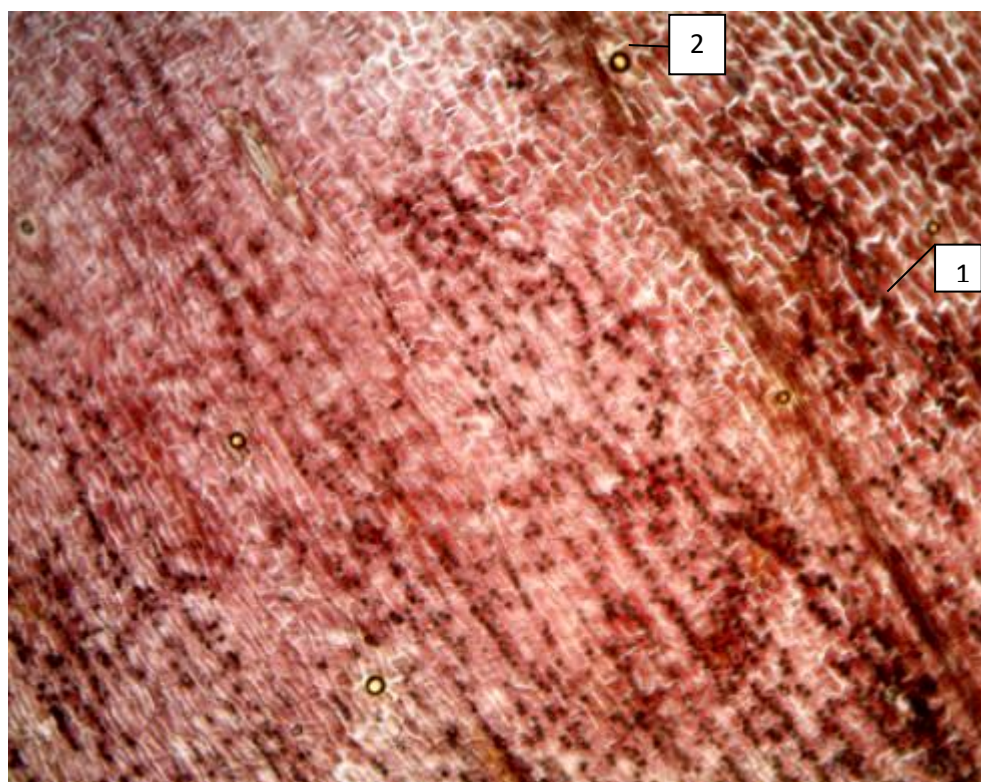


Рисунок 6 - Фрагмент раструба горца перечного, ув. x100: 1 – вместилища, 2 – друзы оксалата кальция

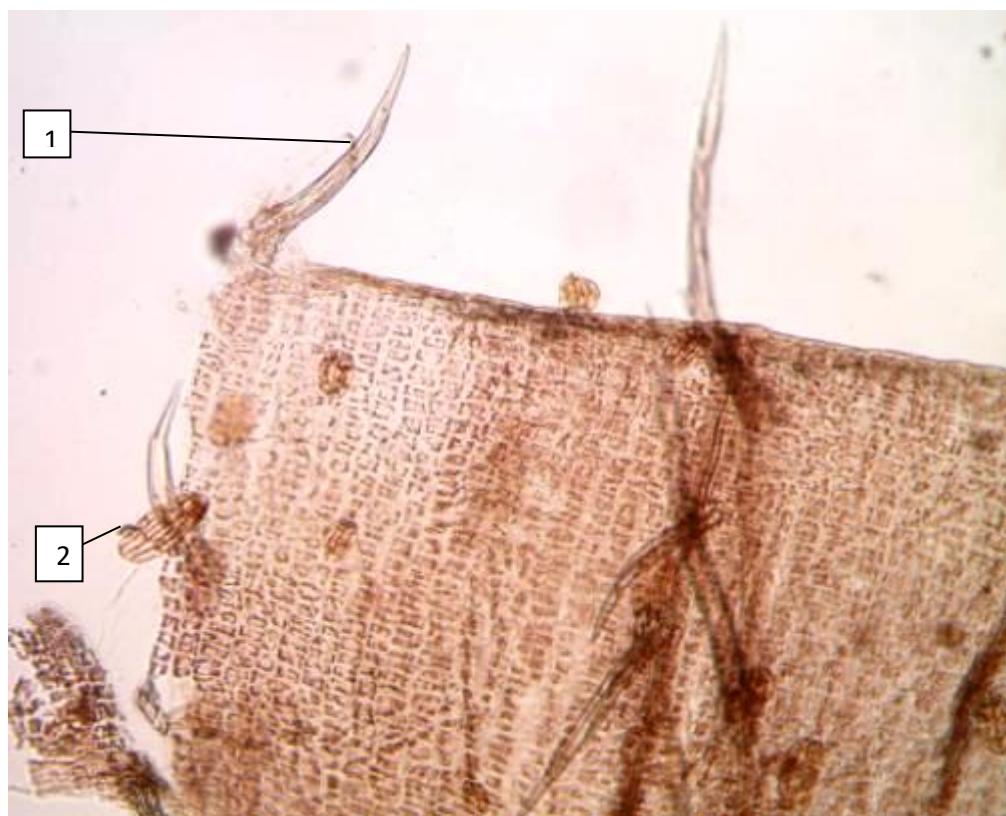


Рисунок 7 - Фрагмент раструба водной формы горца земноводного, ув. x100: 1 – пучковые волоски, 2 – пленчатые волоски

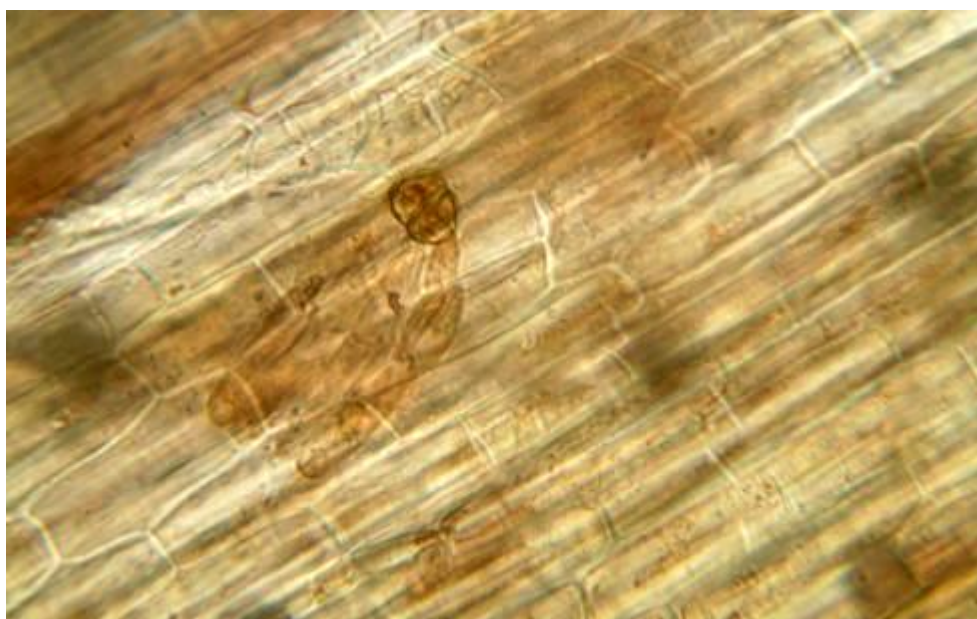


Рисунок 8 - Пленчатый волосок на стебле горца почечуйного, ув. x400 («давленный» препарат)



Рисунок 9 - Пленчатый волосок на стебле горца щавелелистного ув.х100 (А), ув.х400 (Б) («давленный» препарат)

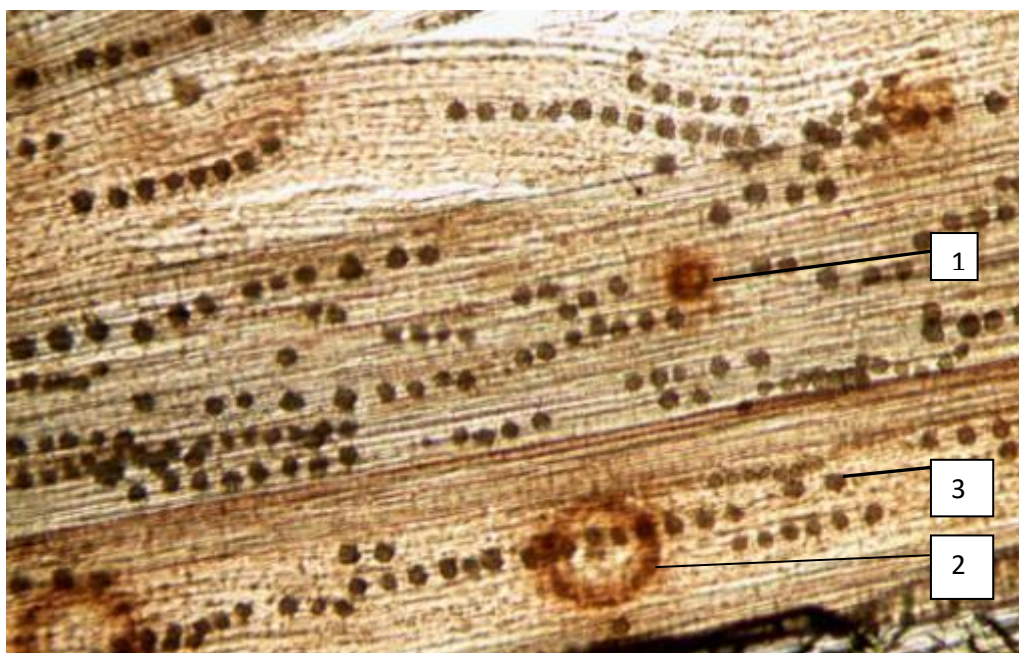
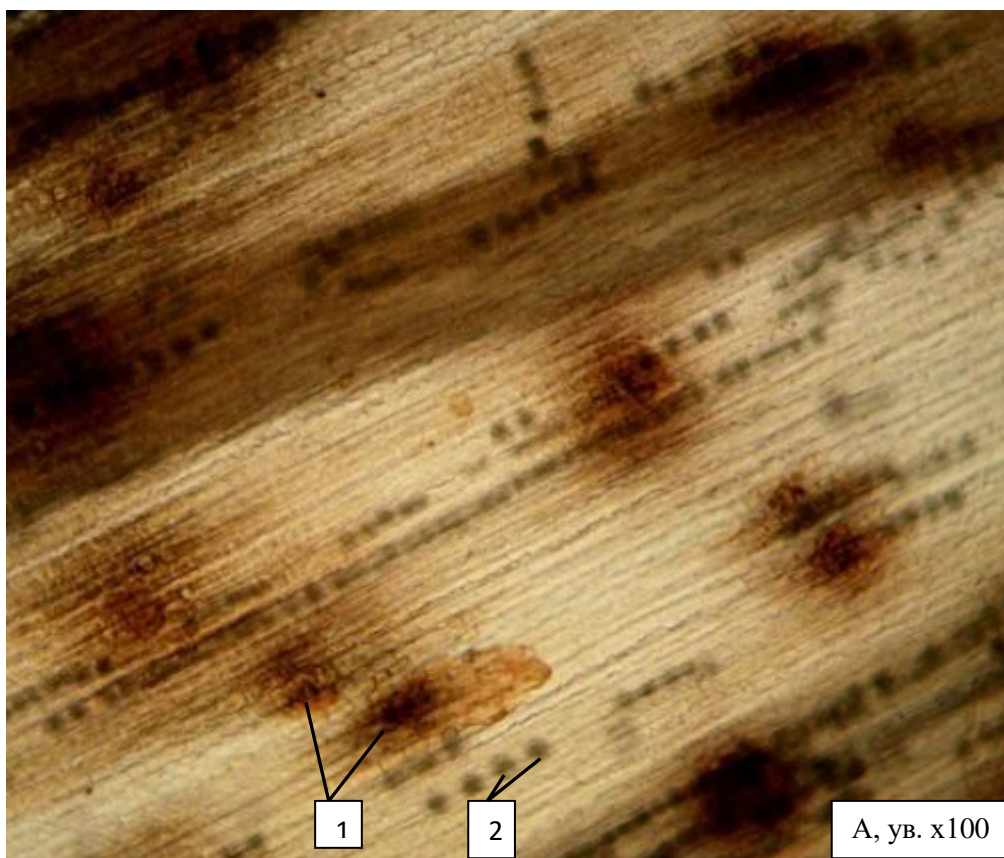


Рисунок 10 - Фрагмент стебля горца шерохоатого, ув. x100: 1 – пленчатые волоски, 2 - вместилища, 3 – друзы оксалата кальция («давленный» препарат)



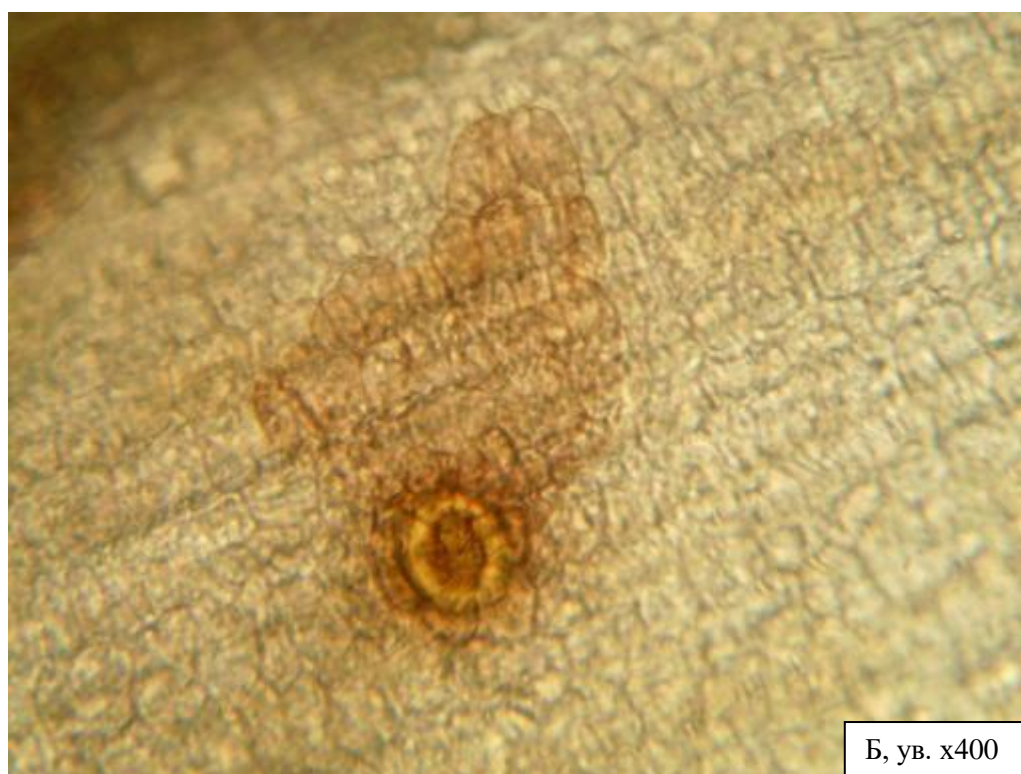


Рисунок 11 - Фрагмент стебля горца узлового, ув. x100 (А), ув. x400 (Б): 1 – пленчатые волоски, 2- друзы оксалата кальция («давленный» препарат)

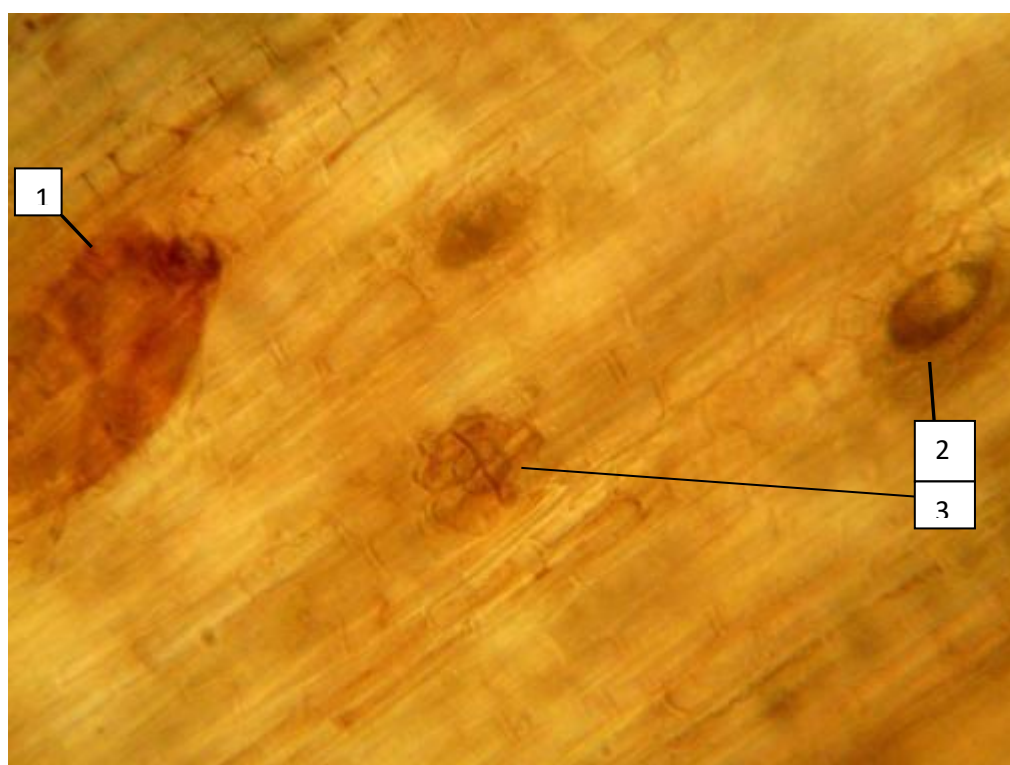


Рисунок 12 - Фрагмент стебля горца перечного, ув. x400: 1 – пленчатые волоски, 2- вместилища, 3- железки («давленный» препарат)

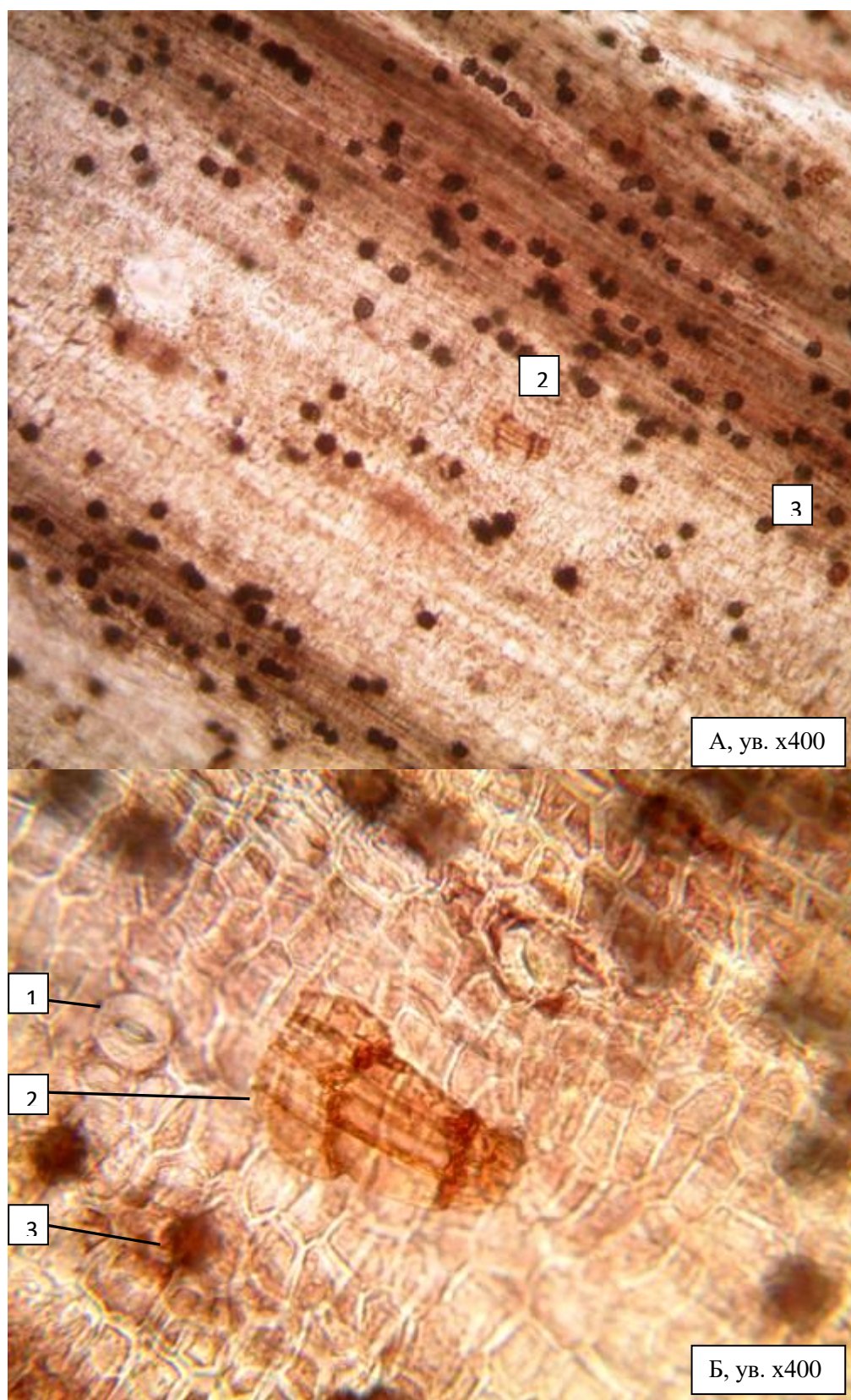


Рисунок 13 - Фрагмент стебля горца земноводного (водная форма), ув. х100 (А), ув. х400 (Б): 1 – устьица 2- пленчатые волоски, 3 - друзы оксалата кальция («давленный» препарат)

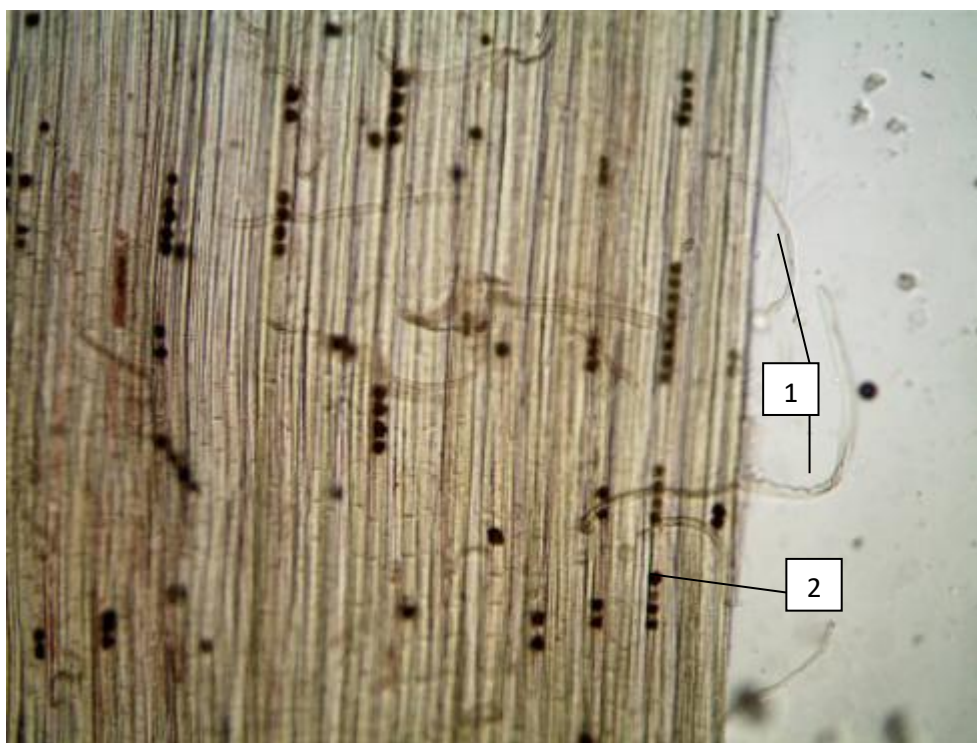


Рисунок 14 - Фрагмент стебля наземной формы горца земноводного, ув. x100: А – простые волоски, 2 – друзы оксалата кальция



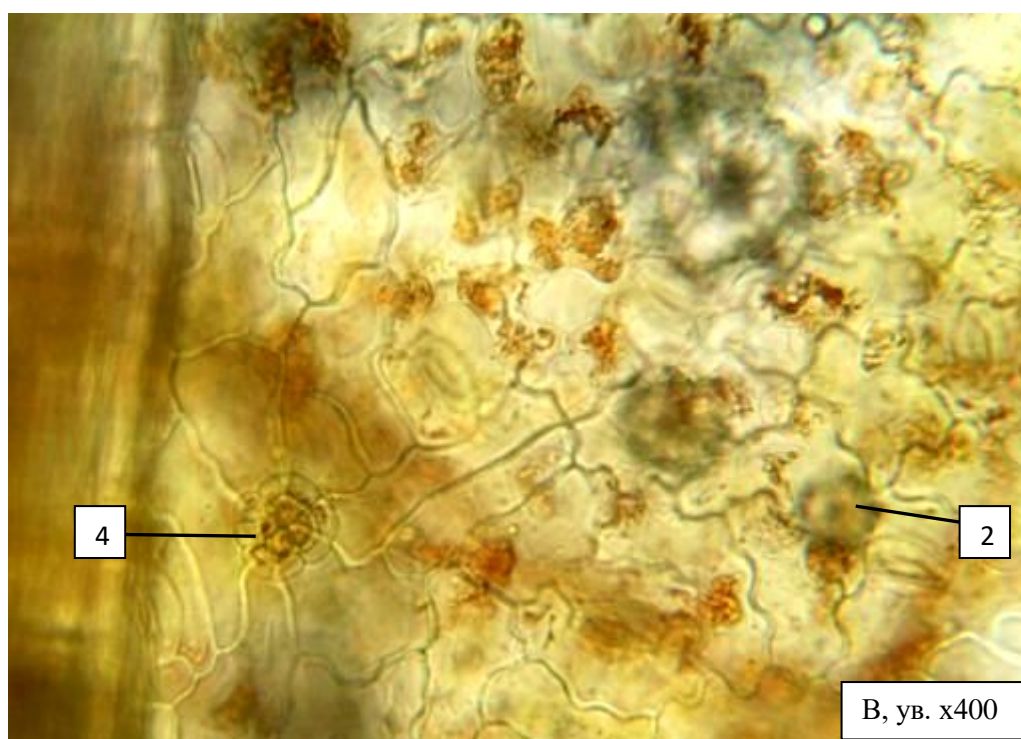
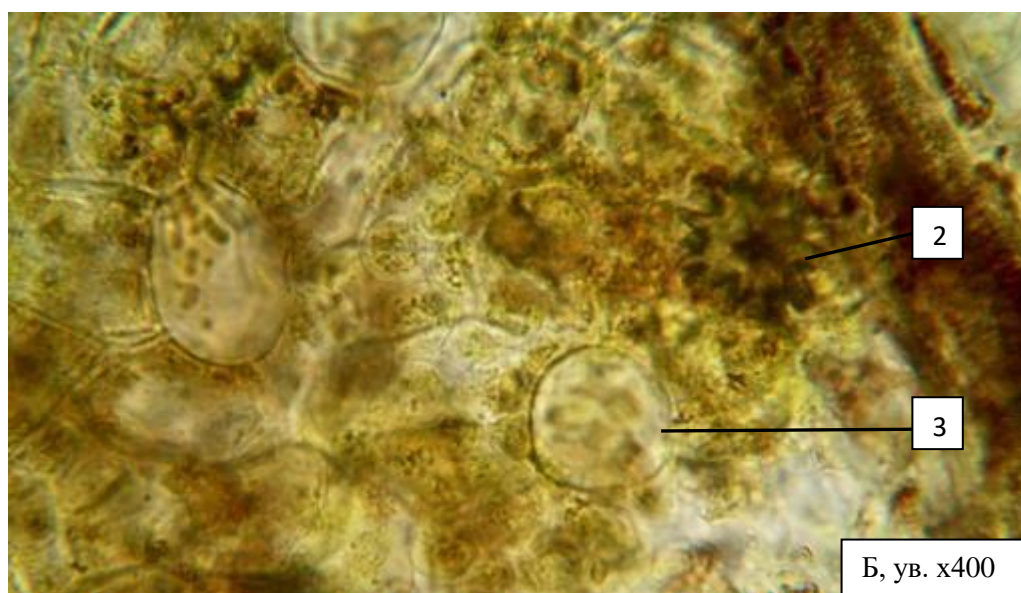


Рисунок 15 - Фрагмент листовой пластинки горца почечуйного: 1 – пучковые волоски по краю листа, 2 – друзы оксалата кальция, 3 – вместилища, 4 – железки

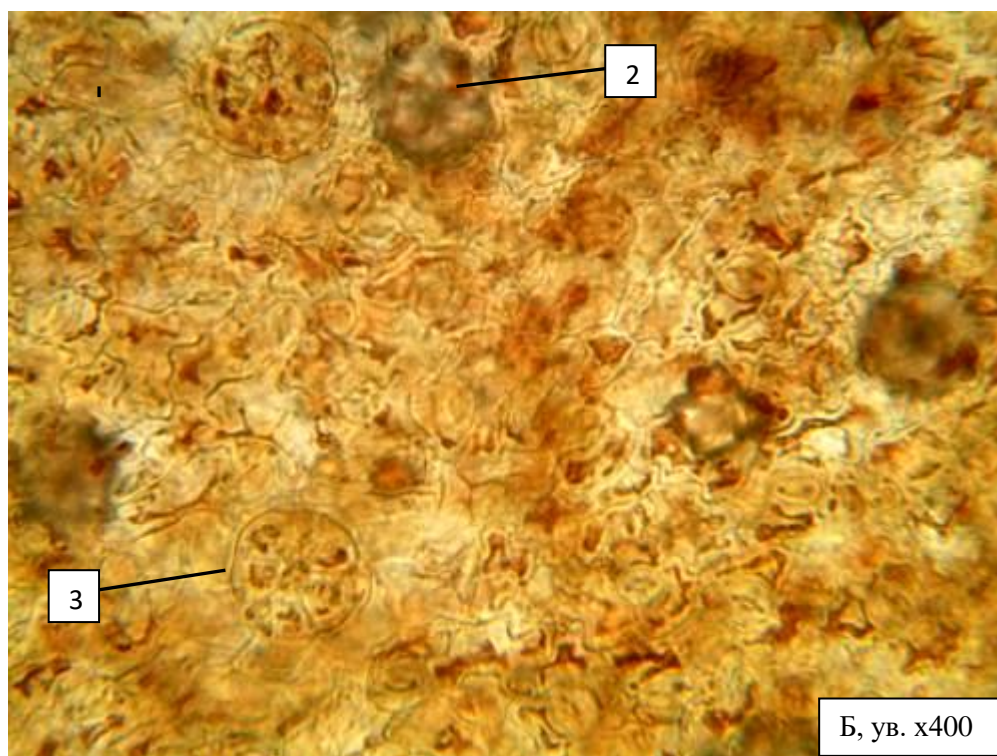
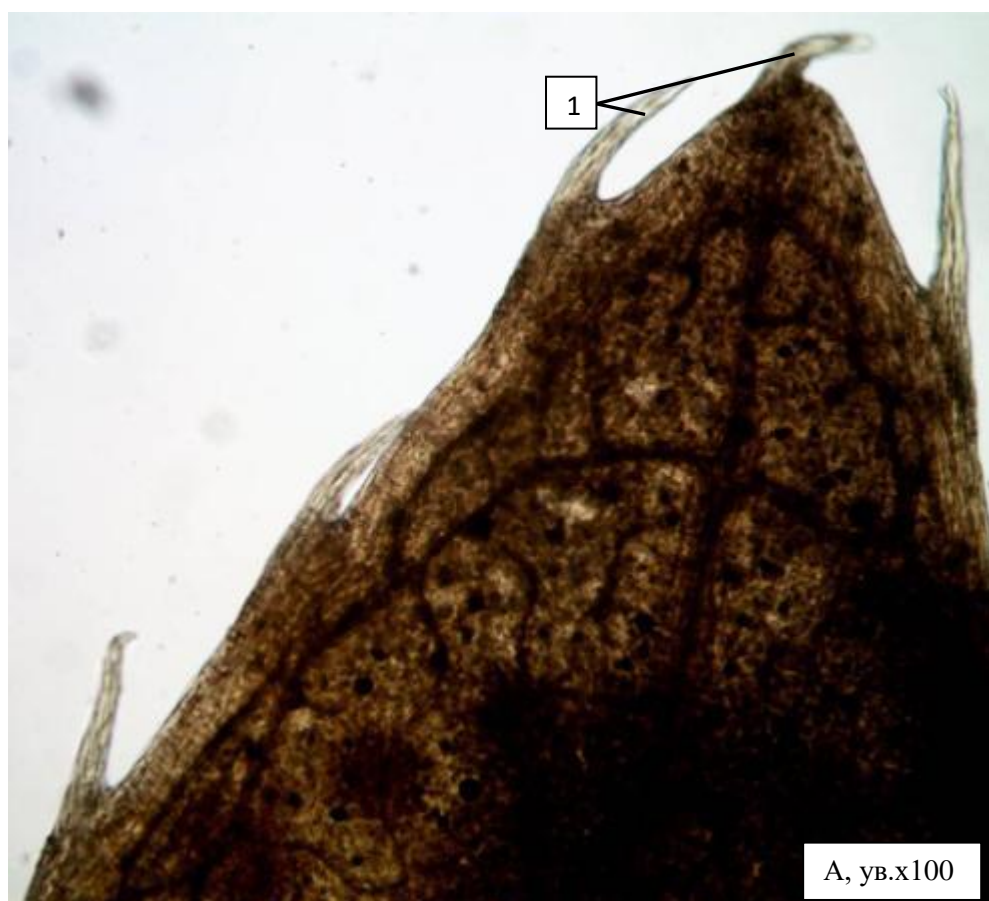


Рисунок 16 - Фрагмент листовой пластинки горца шероховатого: 1 – пучковые волоски по краю листа, 2 – друзы оксалата кальция, 3 – железки

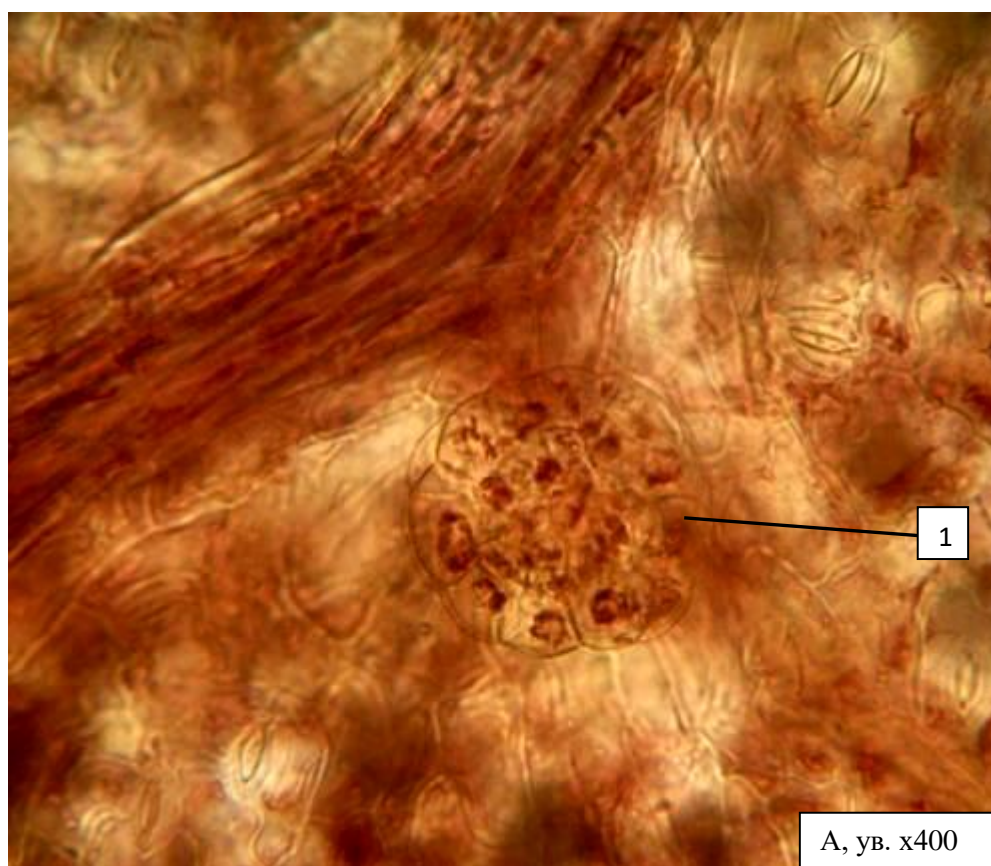
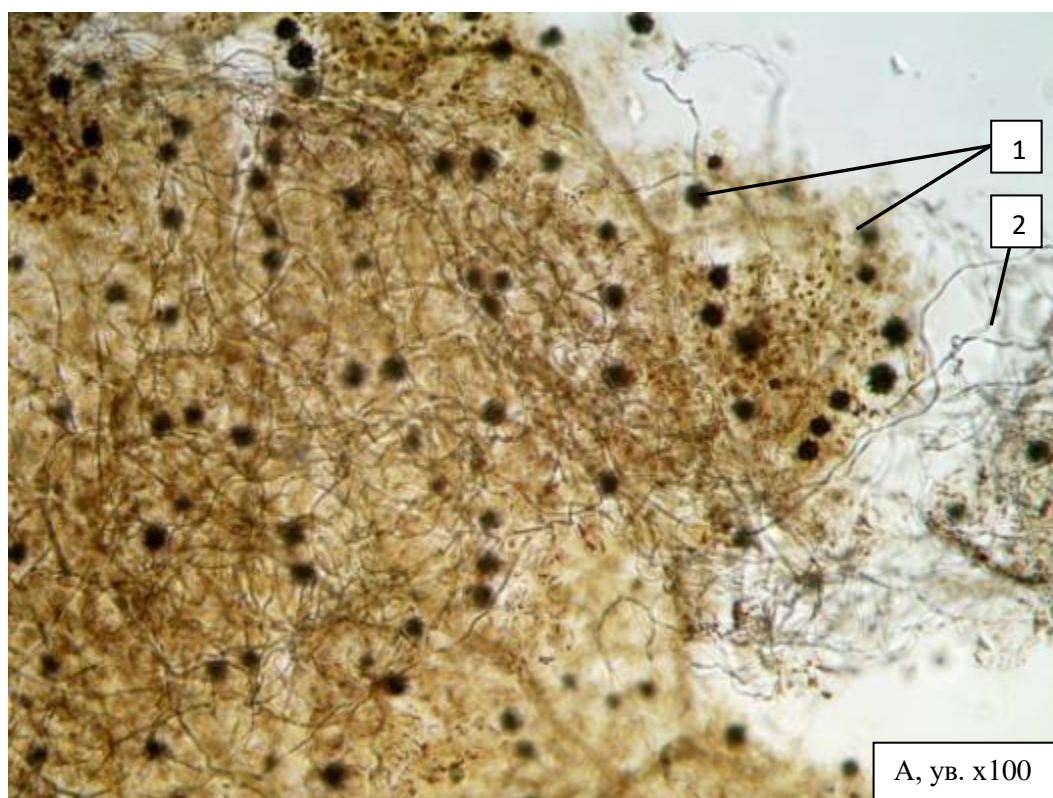


Рисунок 17 - Фрагмент листовой пластинки горца щавелелистного: 1 – железа, 2- одноклеточный волосок, 3 – место прикрепления волоска



Рисунок 18 - Фрагмент листовой пластинки горца Бриттингера: 1 – железка, 2 – друзы оксалата кальция



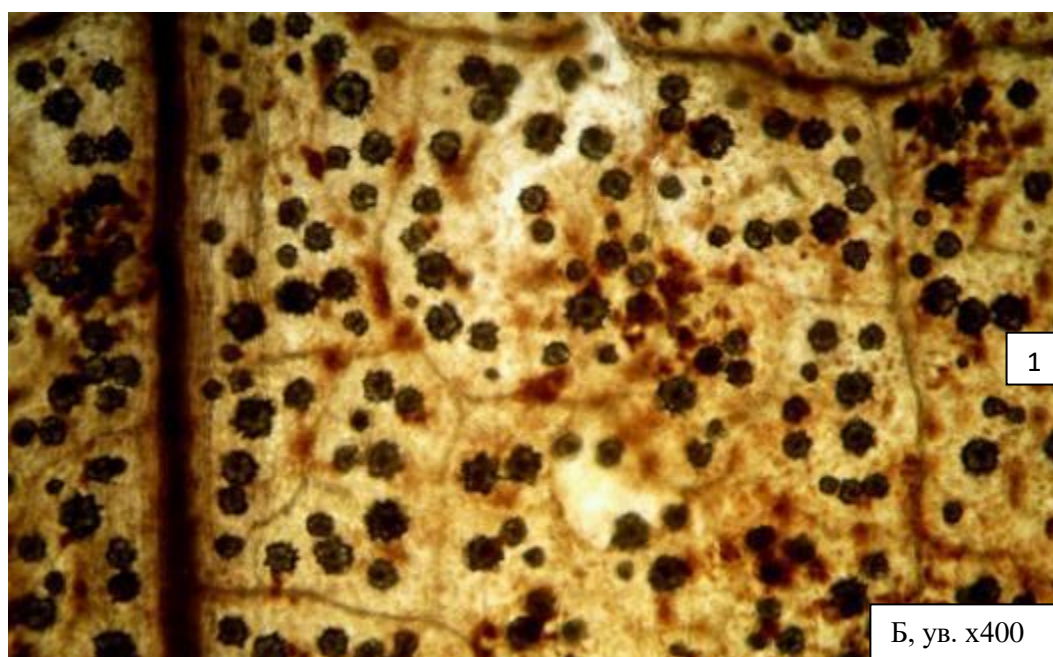


Рисунок 19 - Фрагмент листовой пластинки горца узловатого: 1 – друзы оксалата кальция, 2 – нитевидные волоски

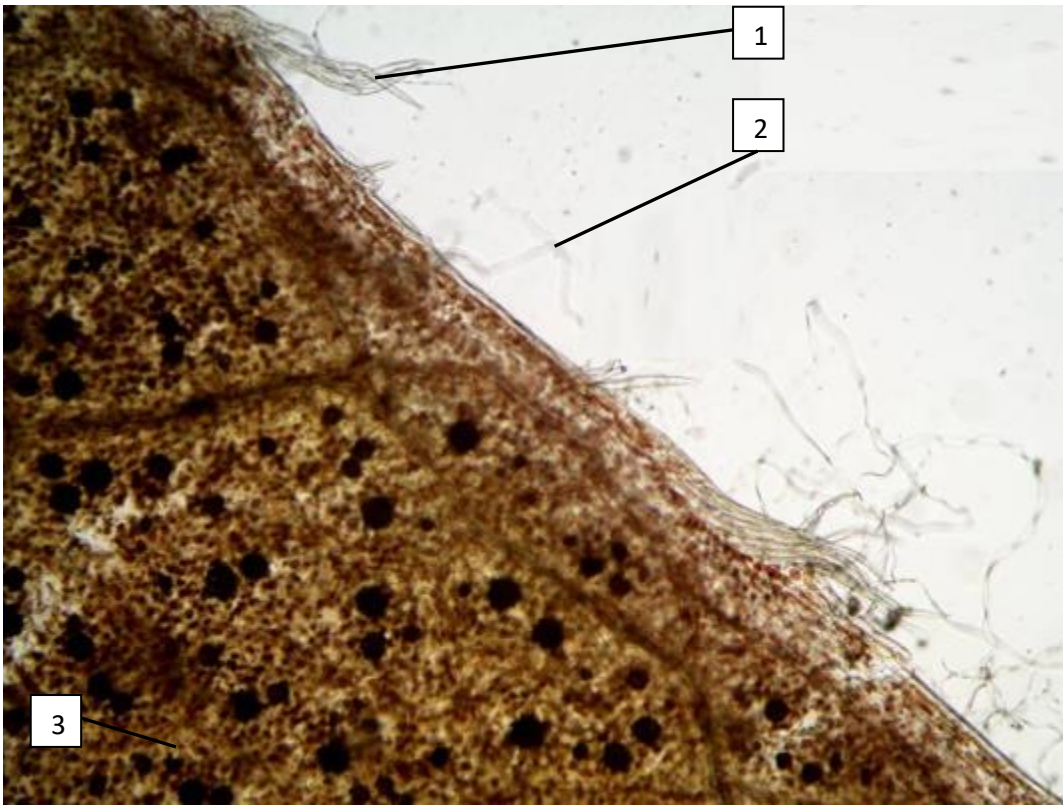


Рисунок 20 - Фрагмент листовой пластинки горца войлочного, ув. x100: 1- пучковые волоски, 2 – нитевидные волоски

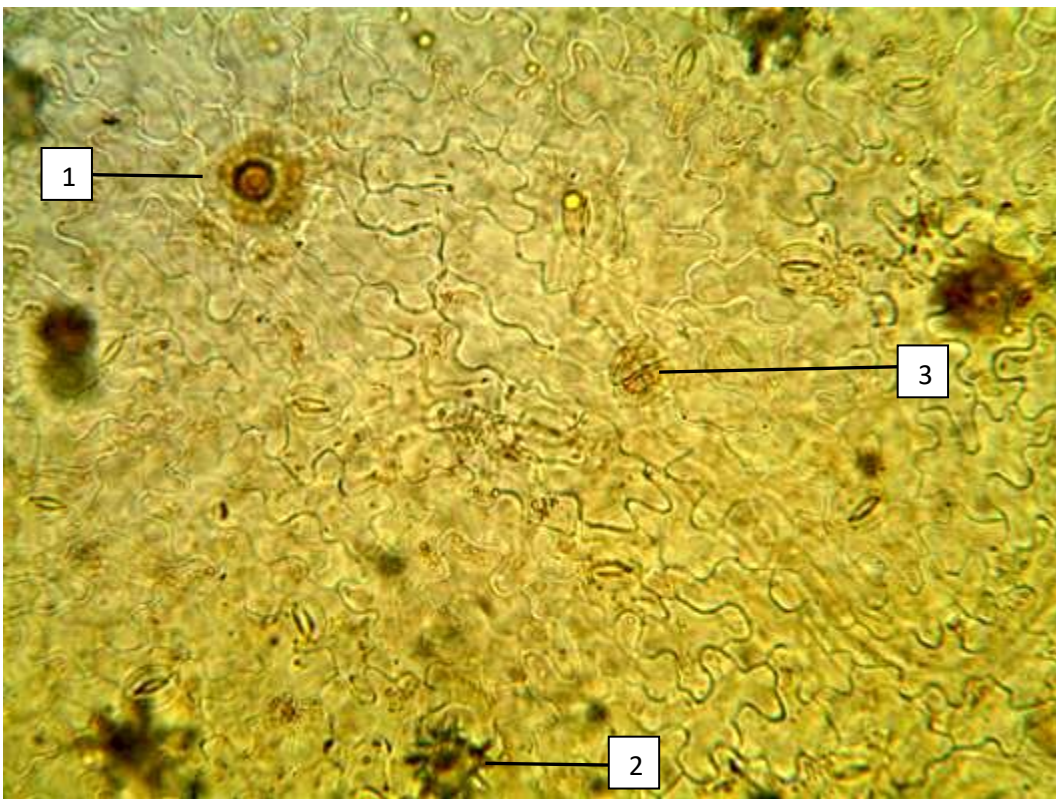
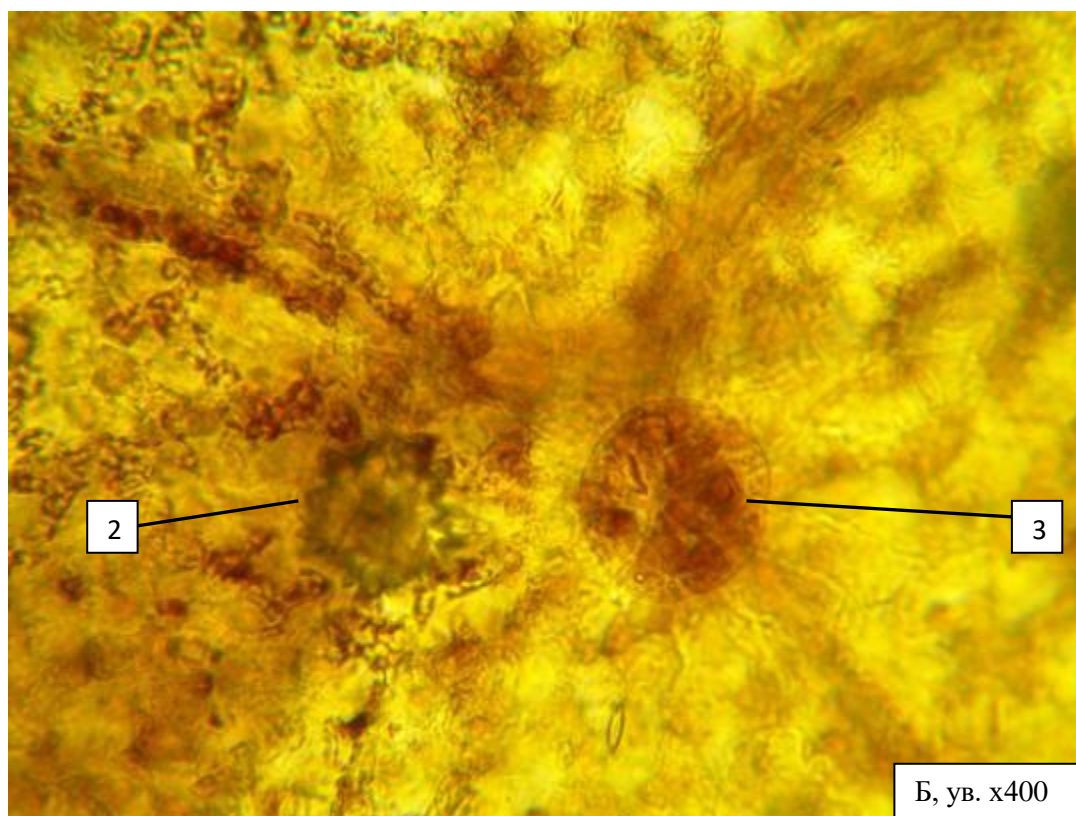


Рисунок 21 - Фрагмент листовой пластинки горца перечного, ув. x100: 1 – вместилище, 2 – друзы оксалата кальция, 3 - железка



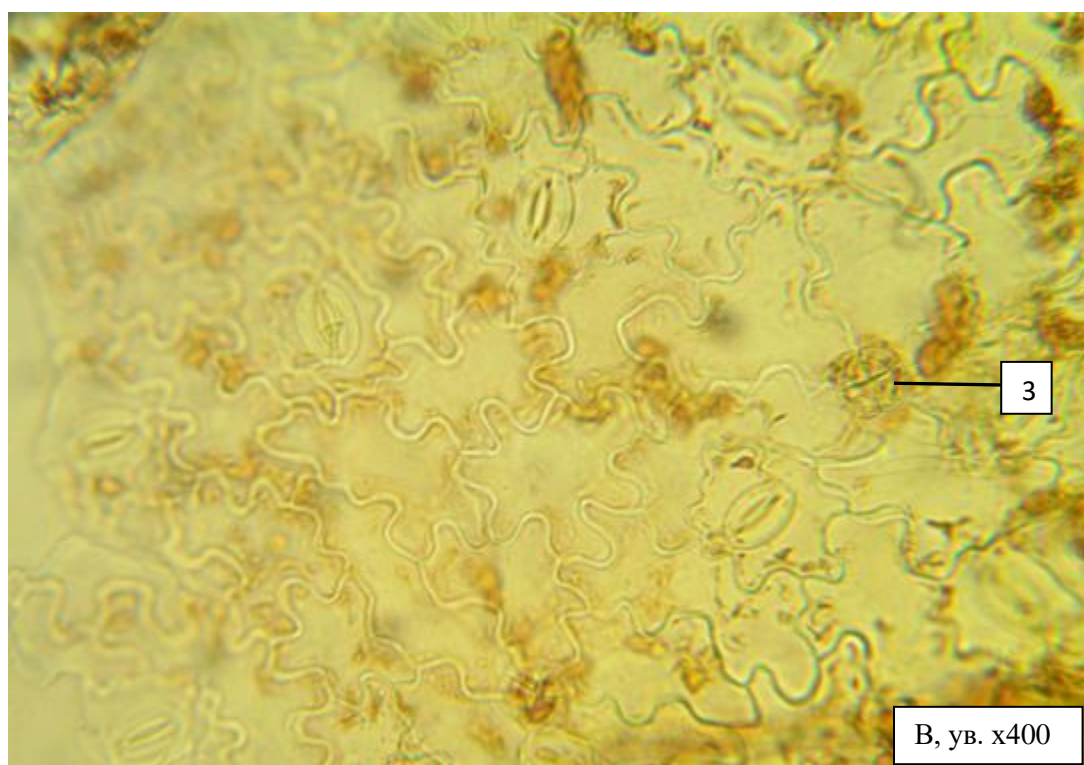
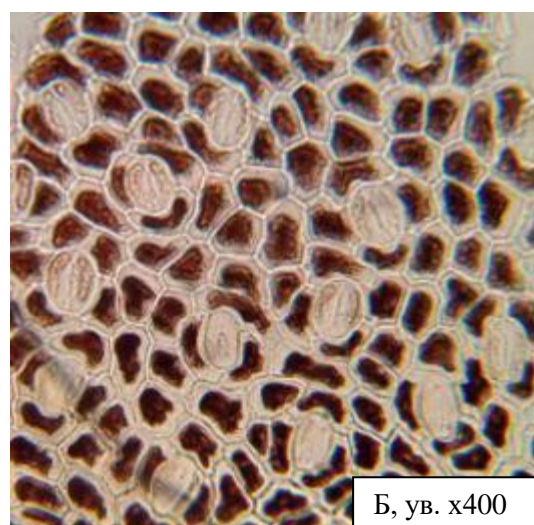
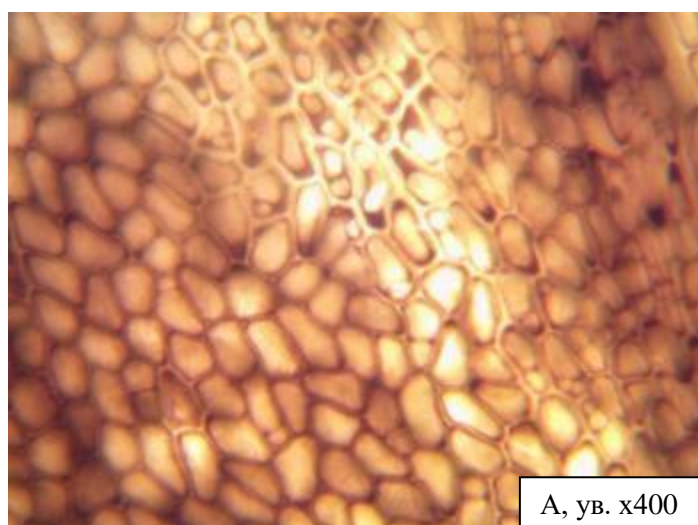


Рисунок 22 - Фрагмент листовой пластинки горца малого: 1 – пучковые волоски, 2- друзы оксалата кальция, 3 - железка



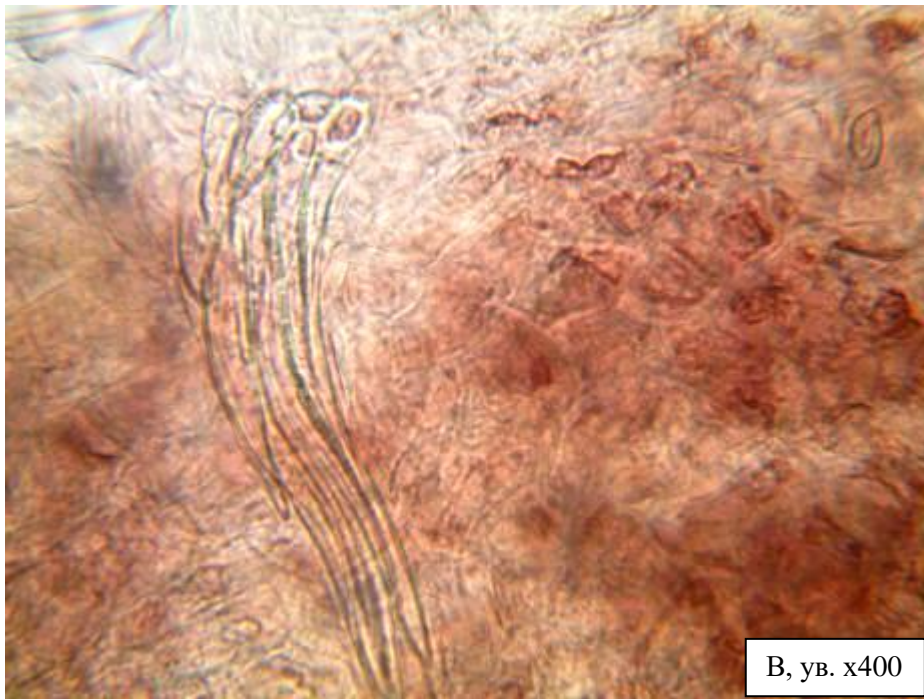


Рисунок 23 - Фрагмент листовой пластинки водной формы горца земноводного: А – нижняя сторона листа, Б – верхняя сторона листа, В – фрагмент листовой пластинки с пучковым волоском

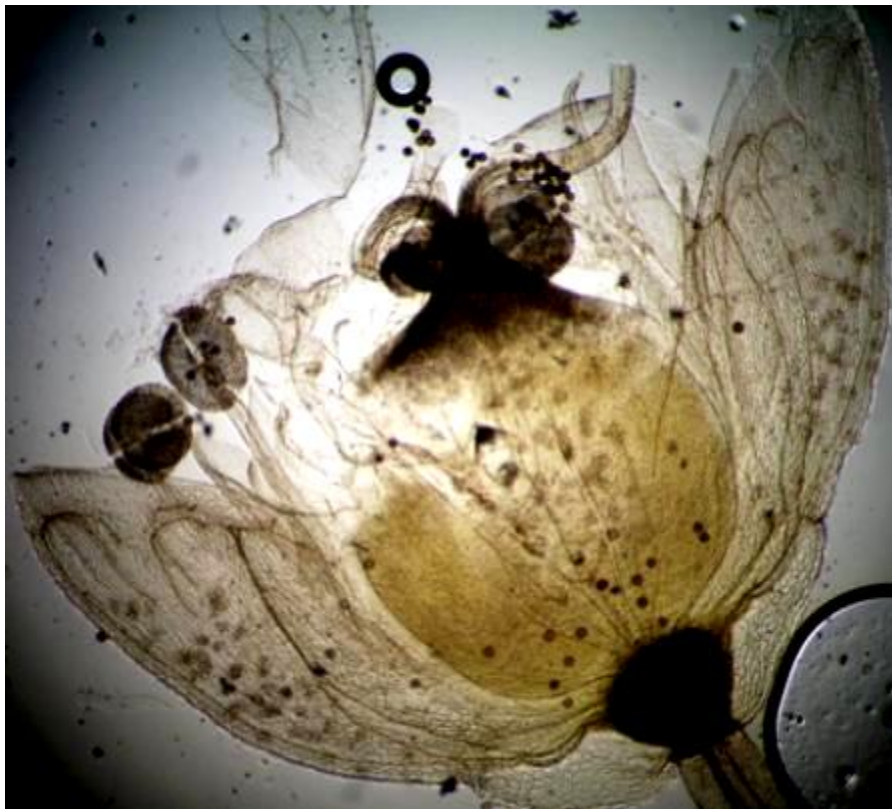


Рисунок 24 - Вид цветка на примере горца Бриттингера, ув. x400



Рисунок 25 - Фрагмент цветка горца шероховатого: А – поверхность околоцветника, Б – жилка листочка околоцветника, В – верхняя часть листочка околоцветника

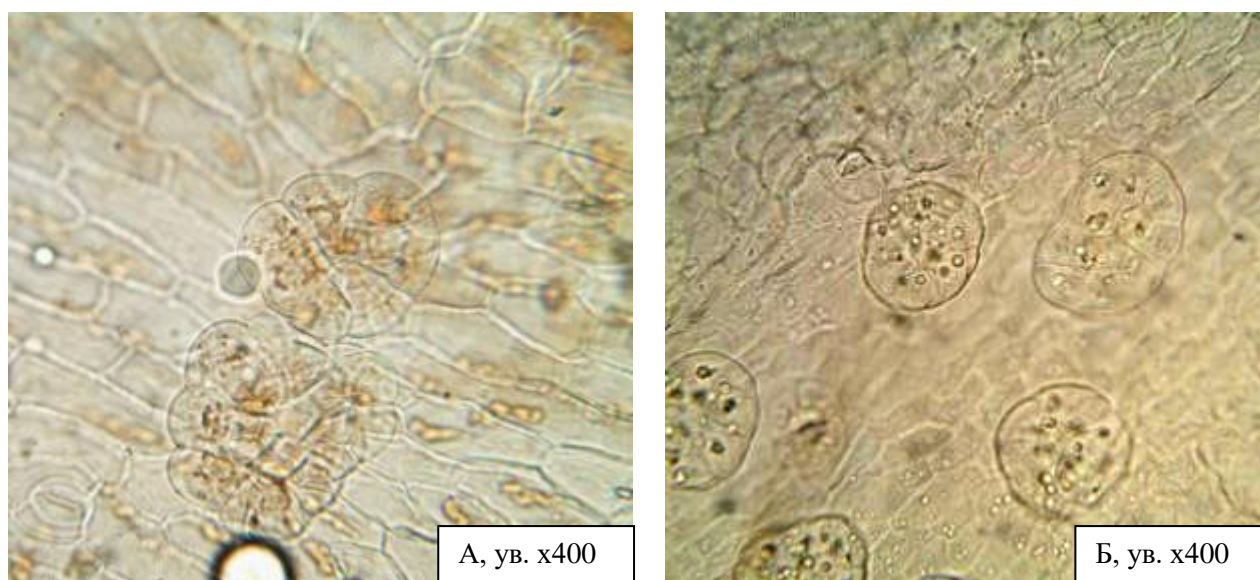


Рисунок 26 - Фрагмент цветка горца почечуйного (А) и горца Бриттингера (Б)





Рисунок 27 - Фрагмент цветка горца перчатого: А – железка, 2 - вместилище

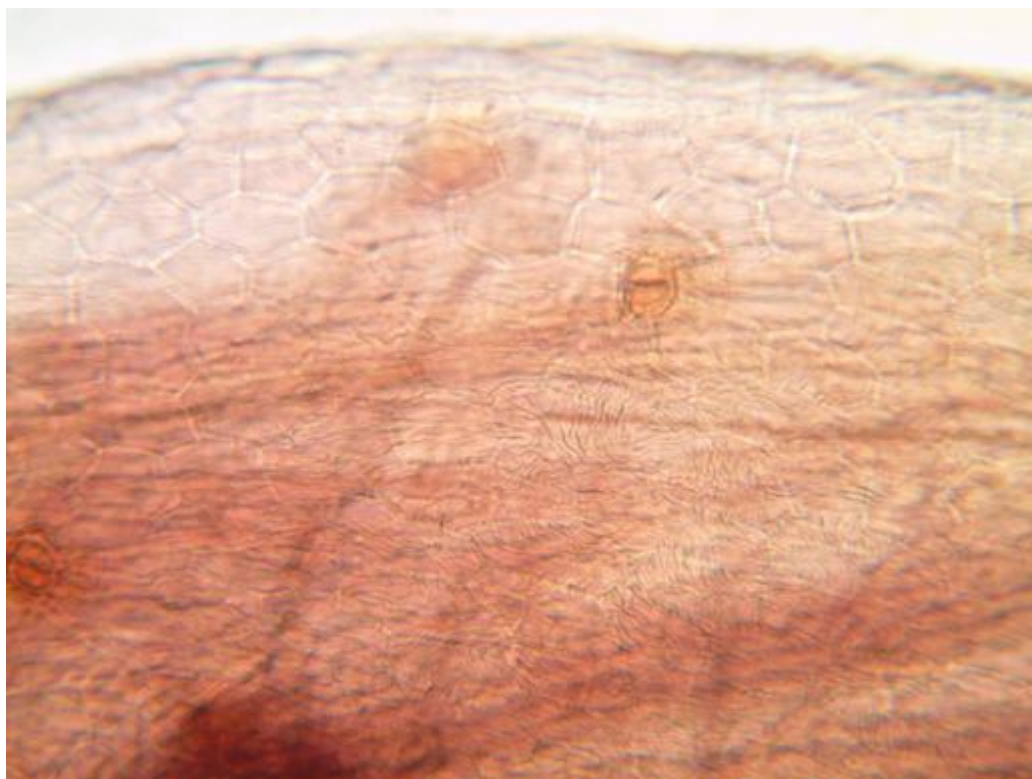
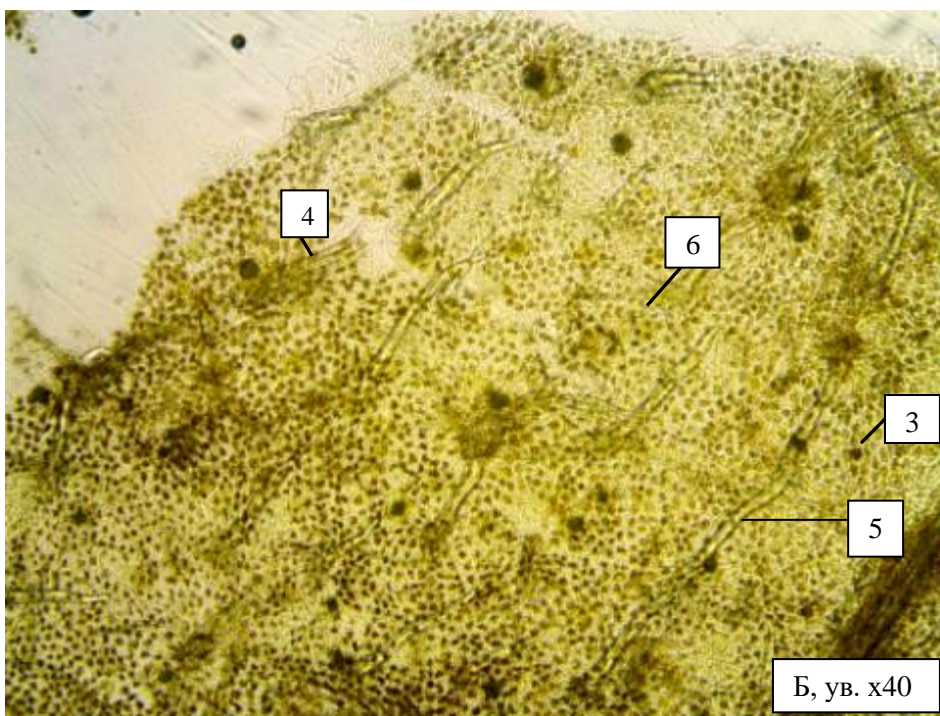


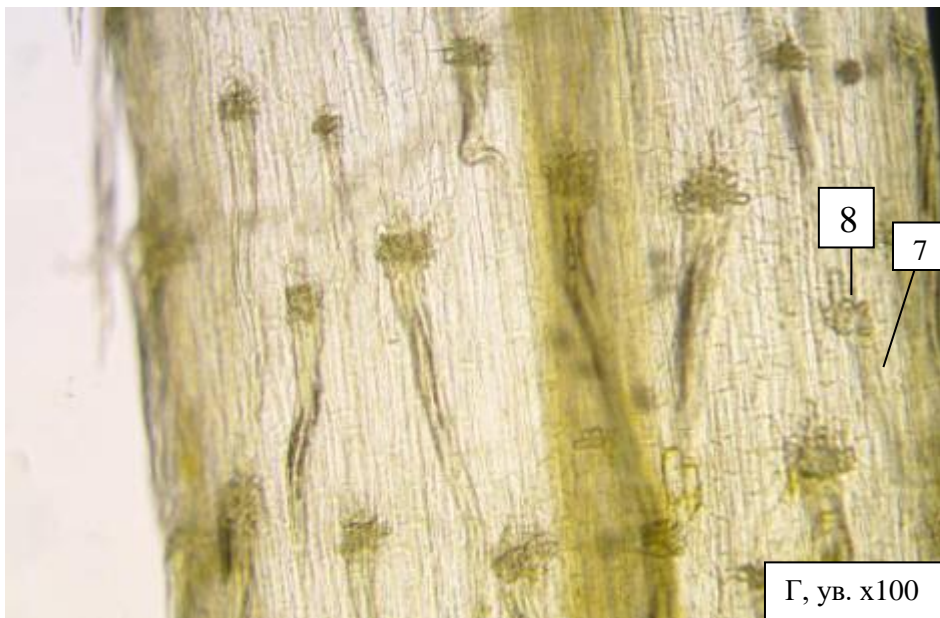
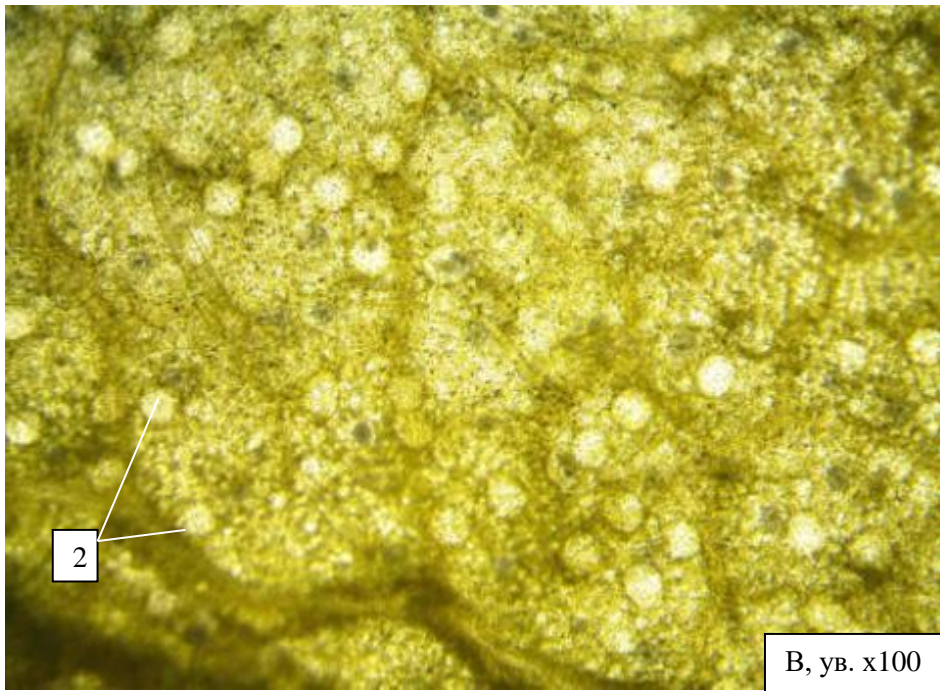
Рисунок 28 - Фрагмент цветка горца земноводного (водная форма), ув. x400

**Микрoдиагностические особенности видов рода горец *Persicaria* Mill.,
визуализированные после консервирования в спирте этиловом**



Рисунок 1 - Анатомическое строение раструба горца земноводного (наземной формы): 1 – пучковые волоски, 2 – пленчатые волоски, ув. x100





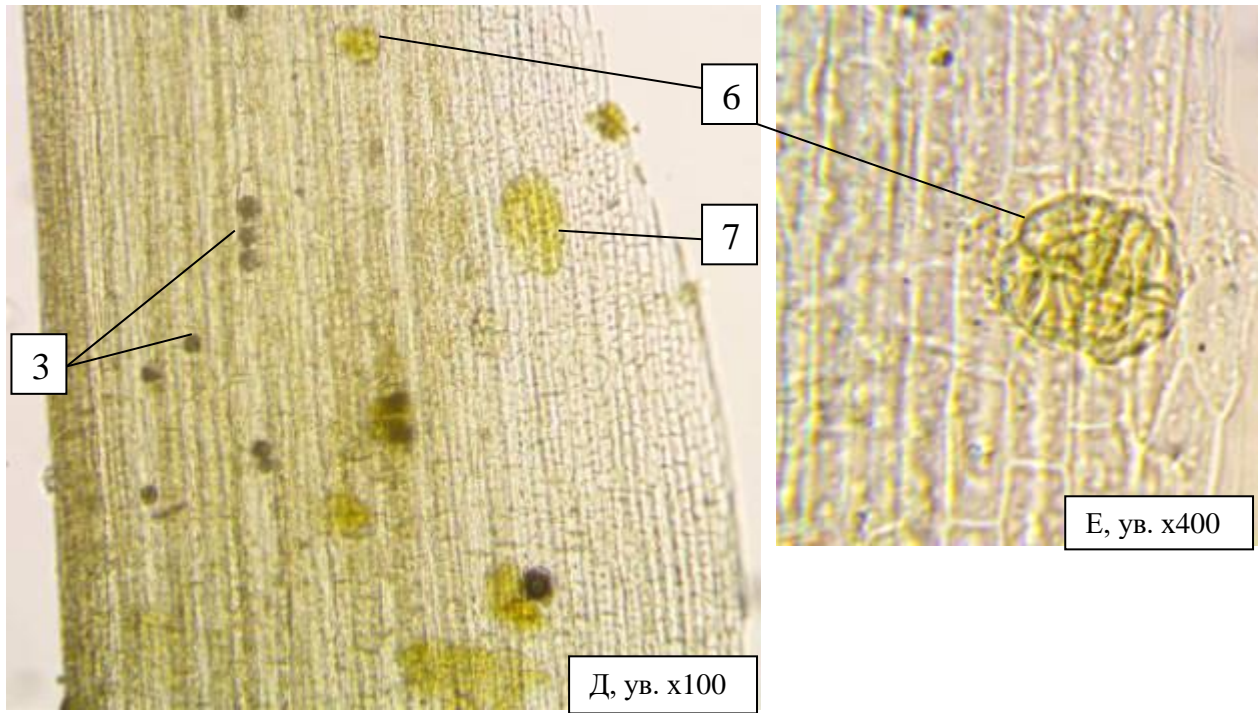


Рисунок 2 - Анатомическое строение листа (А, Б, В), черешка (Г) и стебля (Д, Е) наземной формы горца земноводного: 1 – пучковые волоски по краю листа, 2 – устьица 3 - друзы оксалата кальция, 4 – многоклеточные пучковые волоски по поверхности листа, 5 – пучковые волоски, состоящие из 1-3 клеток, 6 – железки, 7 – пучковые волоски на черешке, 8 – места прикрепления пучковых волосков

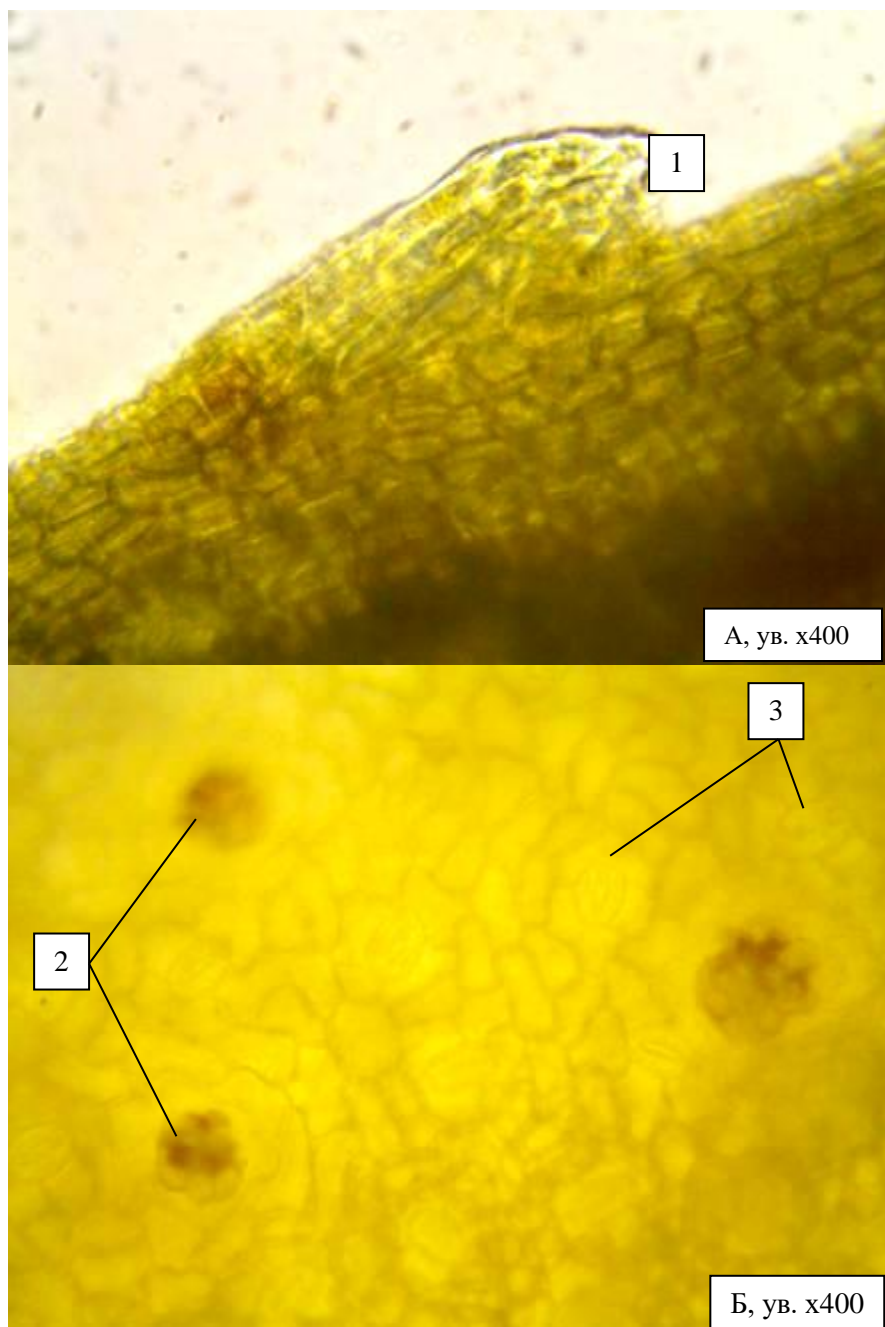
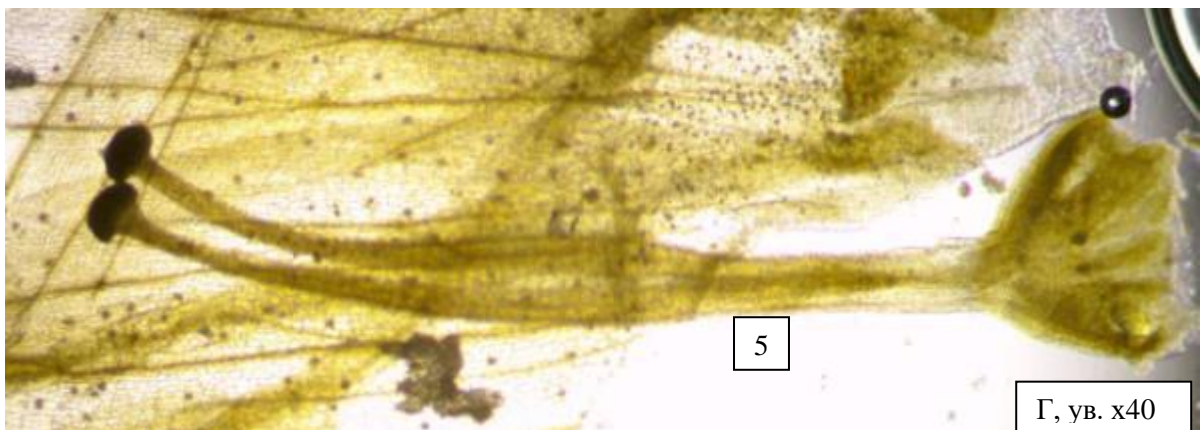
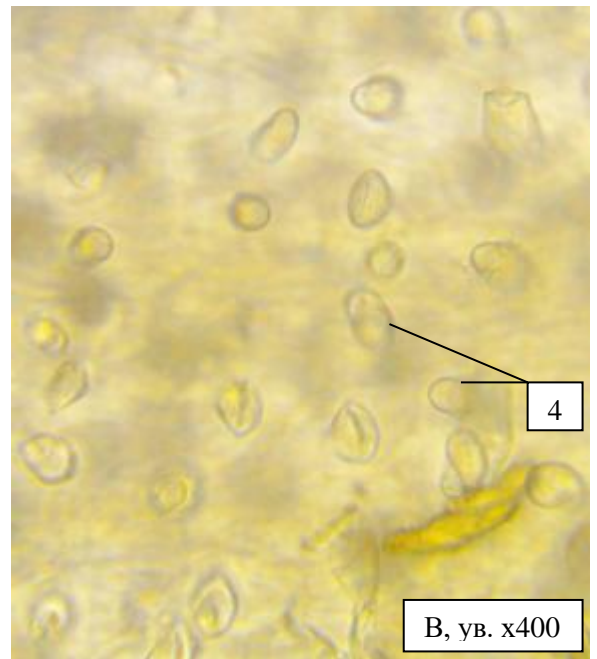
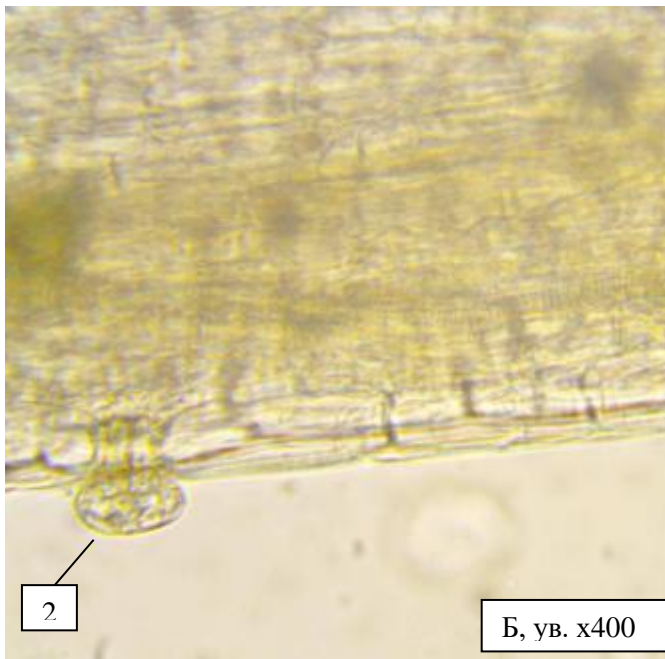
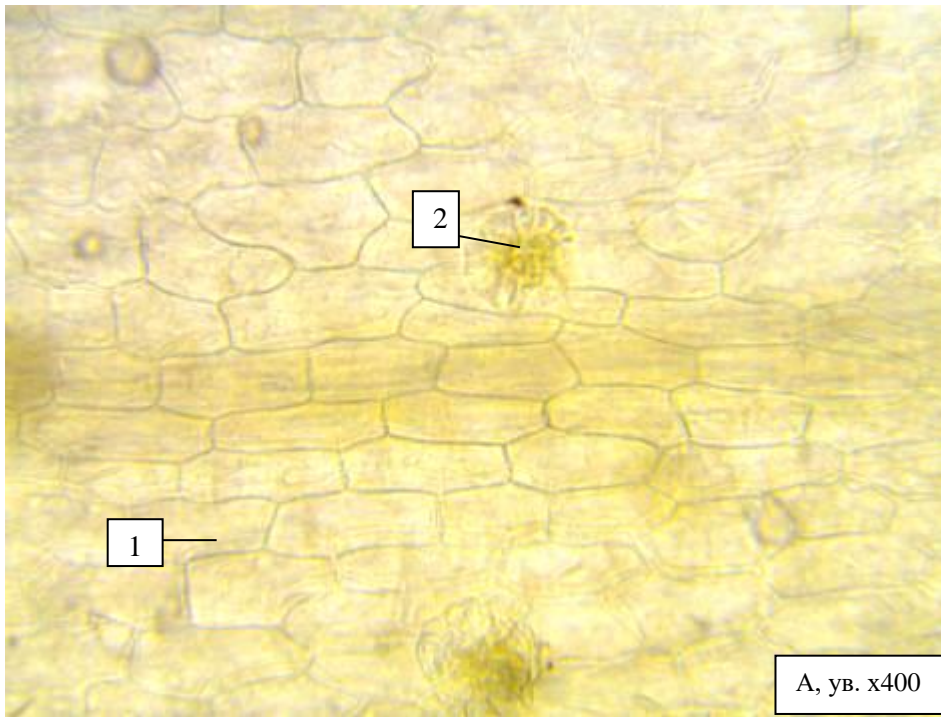


Рисунок 3 - Фрагмент листа водной формы горца земноводного: 1 – пучковый волосок по краю листа, 2 – железки, 3 - устьица



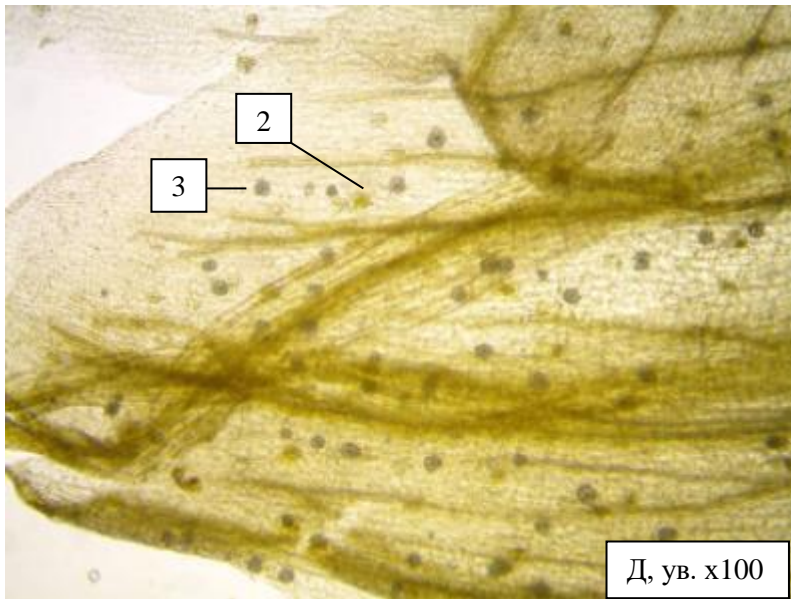


Рисунок 4 - Анатомические признаки стебля (А) и цветка (Б - Д) водной формы горца земноводного: 1 – клетки эпидермиса, 2 – железки, 3 - друзы оксалата кальция, 4 – одноклеточные волоски, 5 - столбики рыльца

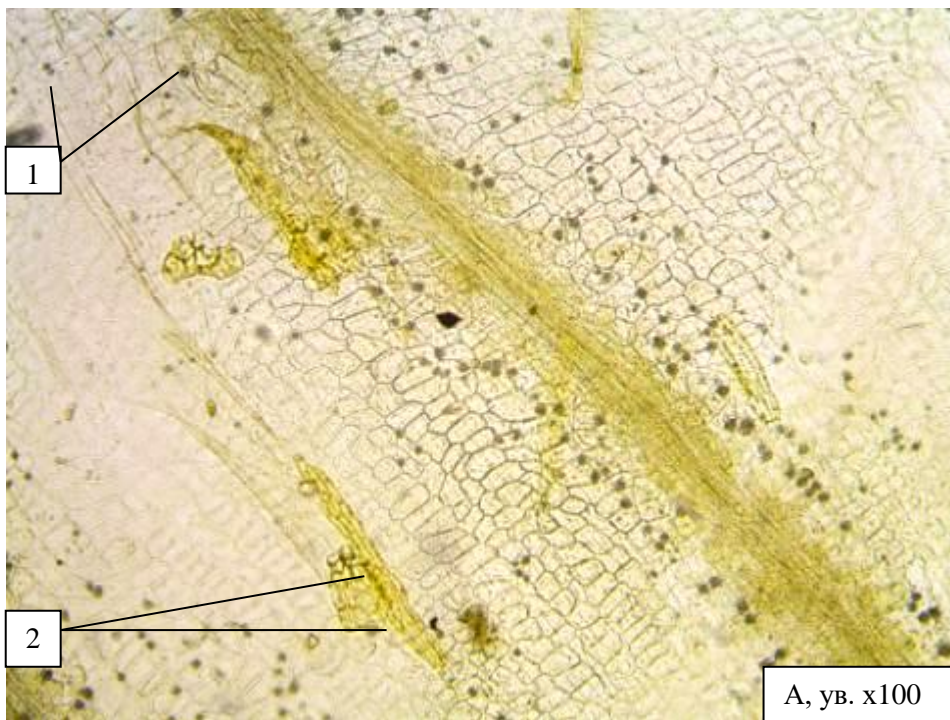


Рисунок 5 - Анатомическое строение раструба горца шероховатого: 1 - друзы оксалата кальция, 2 - пленчатые волоски

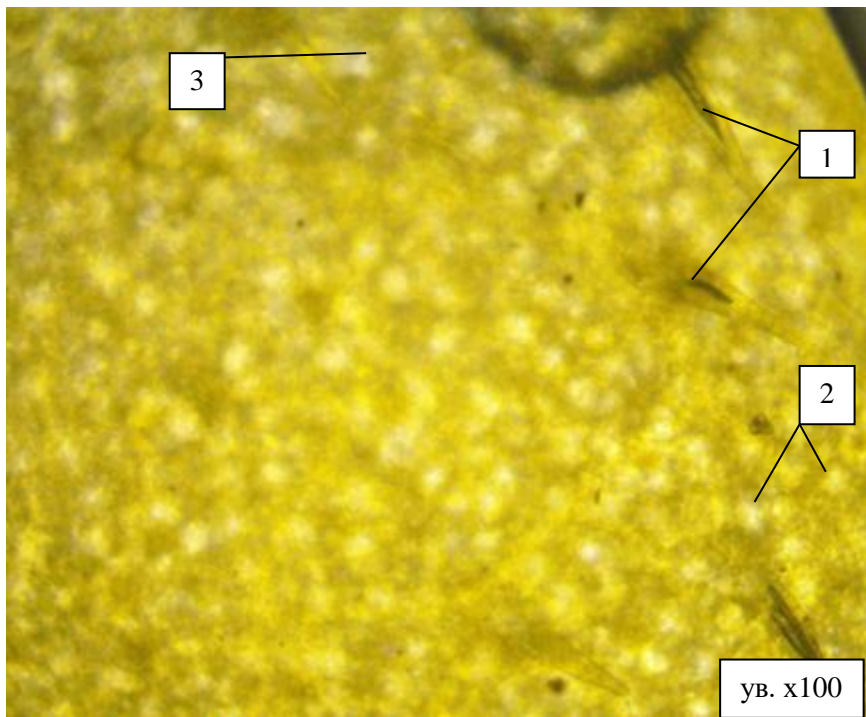
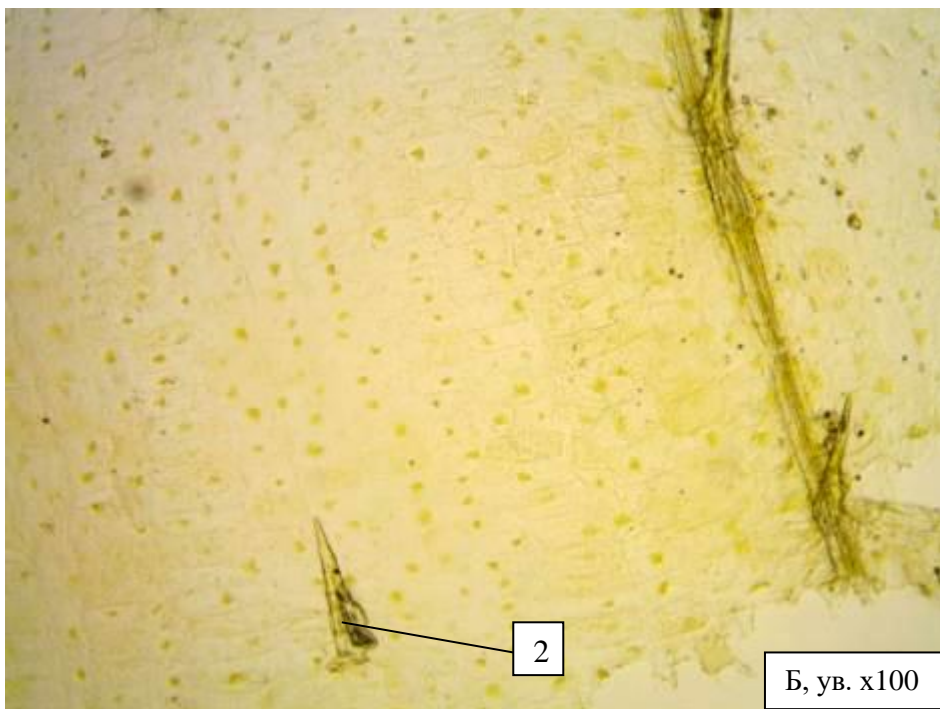
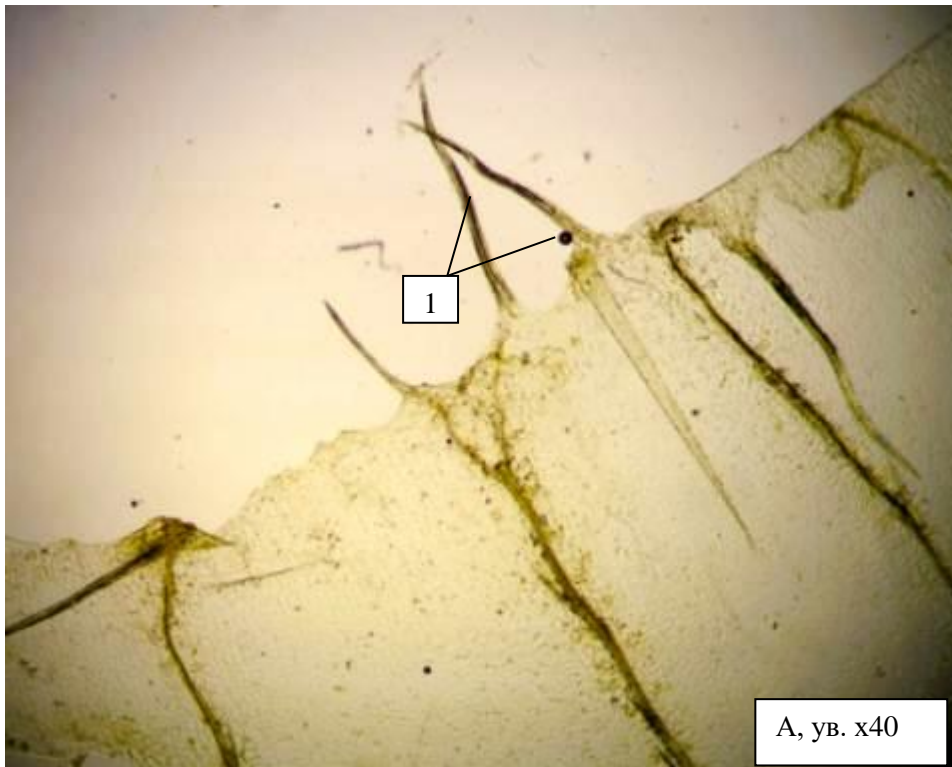


Рисунок 6 - Анатомическое строение листа горца шероховатого: 1 - пучковые волоски на поверхности листа, 2 – вместилища



Рисунок 7 - Анатомическое строение цветка горца шероховатого: 1 – пыльцевые зерна, 2 – друзы оксалата кальция



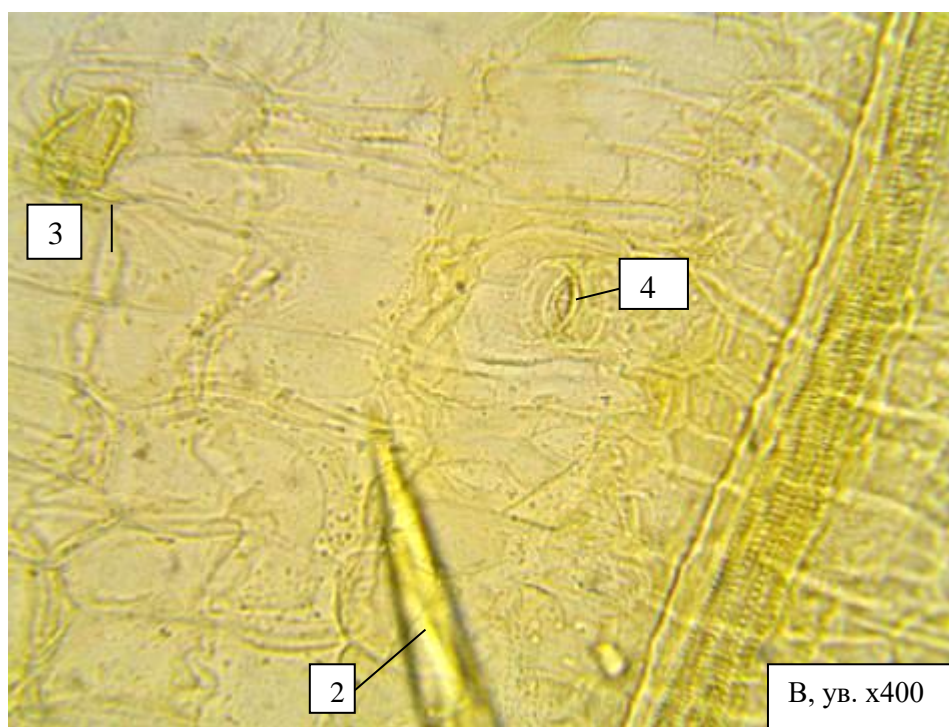


Рисунок 8 - Анатомическое строение раструба горца щавелелистного: 1 – реснитчатые волоски, 2 – пучковые волоски, 3 – пленчатые волоски, 4 – устьеце

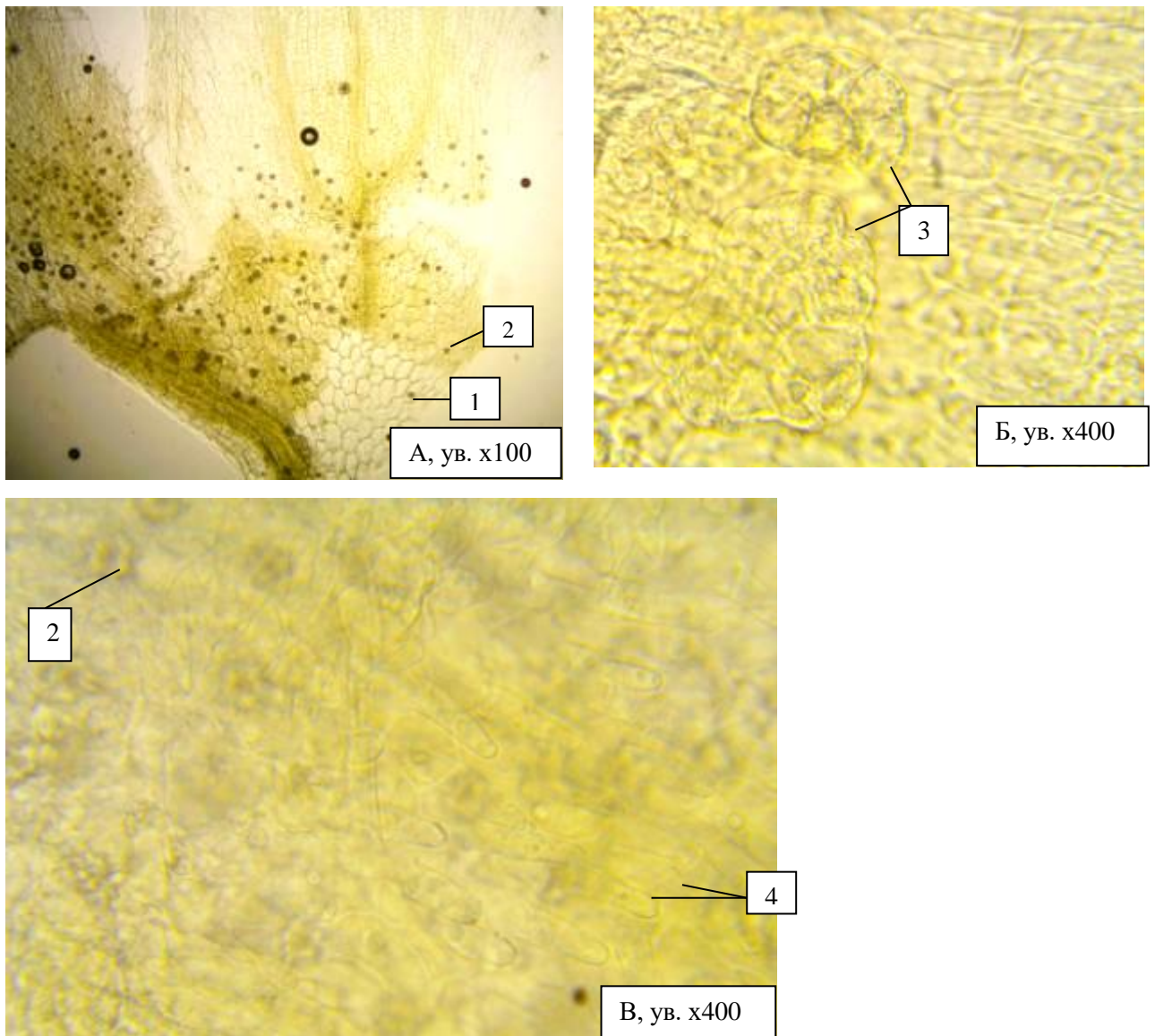


Рисунок 9 - Анатомическое строение цветка горца щавелелистного: 1 – клетки в нижней части венчика, 2 – друзы оксалата кальция, 3 – железки, 4 – одноклеточные волоски у основания венчика

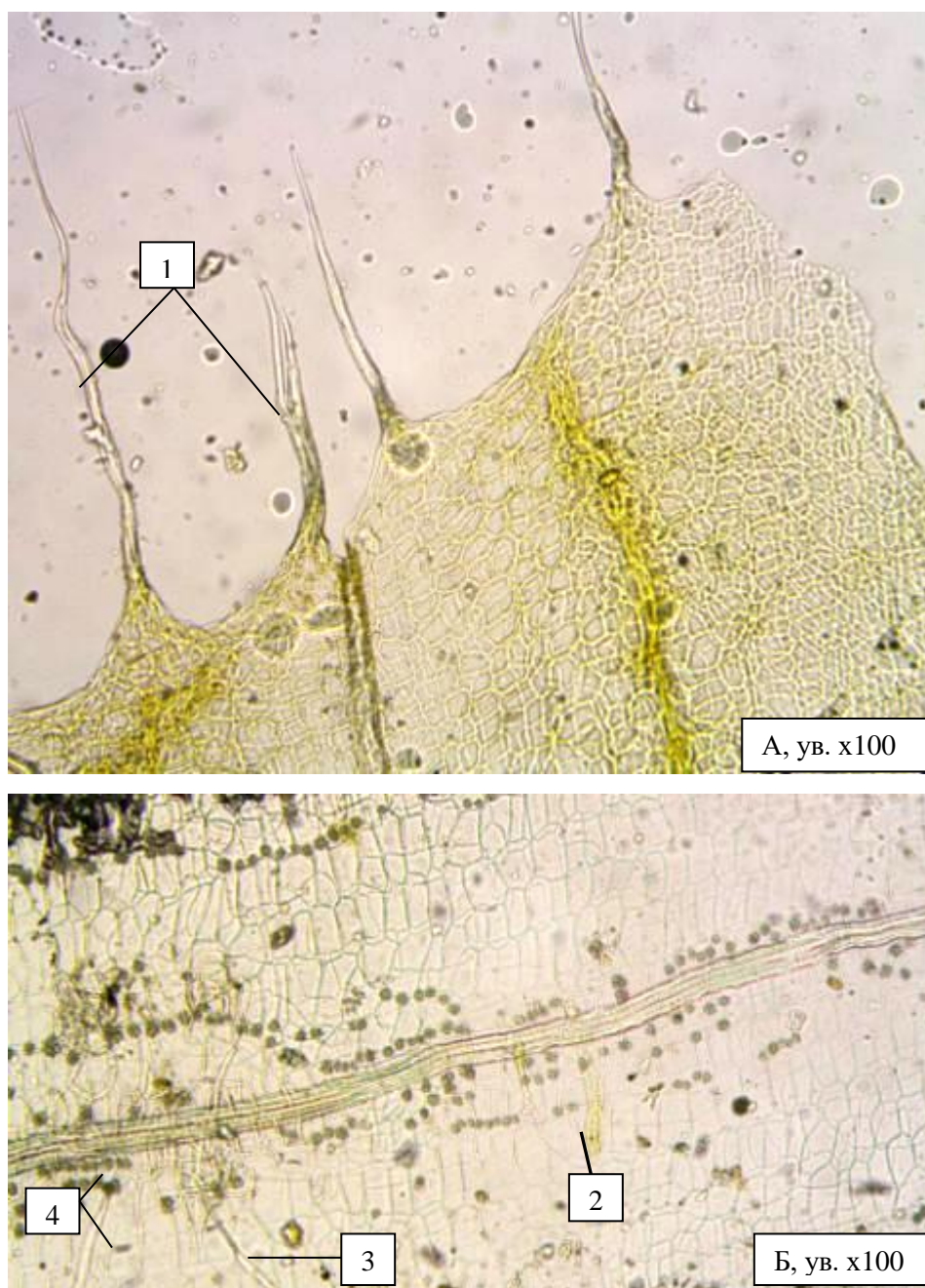


Рисунок 10 - Анатомическое строение раструба горца узловатого: 1 – реснитчатые волоски, 2 – пленчатые волоски, 3 - нитевидные волоски, 4 – друзы оксалата кальция

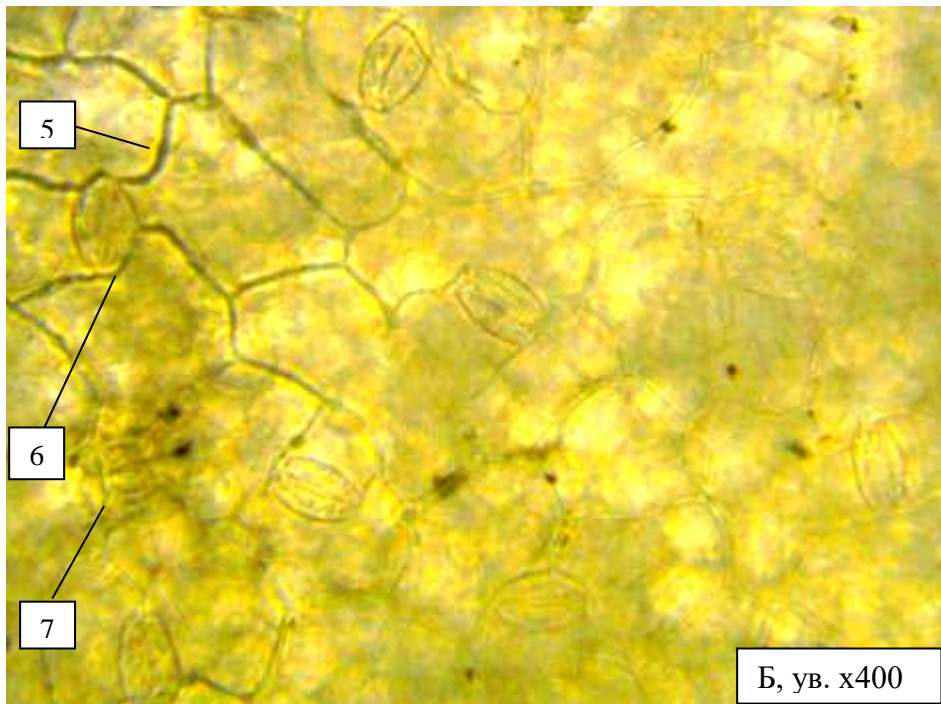
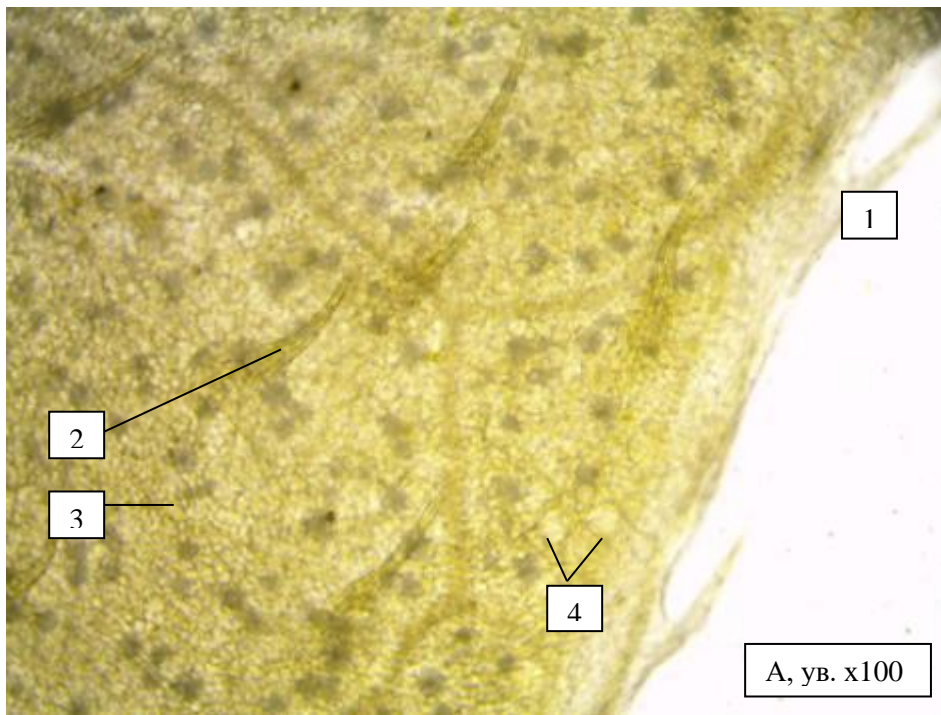


Рисунок 11 - Анатомическое строение листа горца узловатого: 1 – пучковые волоски, 2 – пучковые волоски на поверхности листа, 3- друзы оксалата кальция, 4 – вместилища, 5 – клетки эпидермиса верхней стороны листа, 6 – устьица, 7 - железки

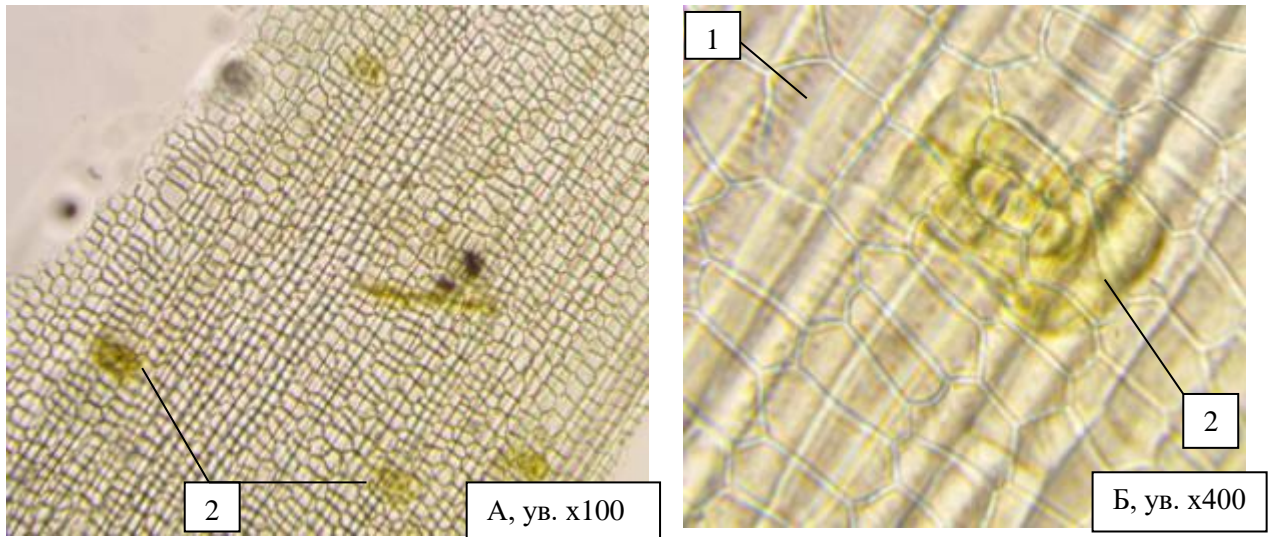


Рисунок 12 - Анатомическое строение стебля горца узловатого: 1 – клетки эпидермиса, 2 – пленчатые волоски

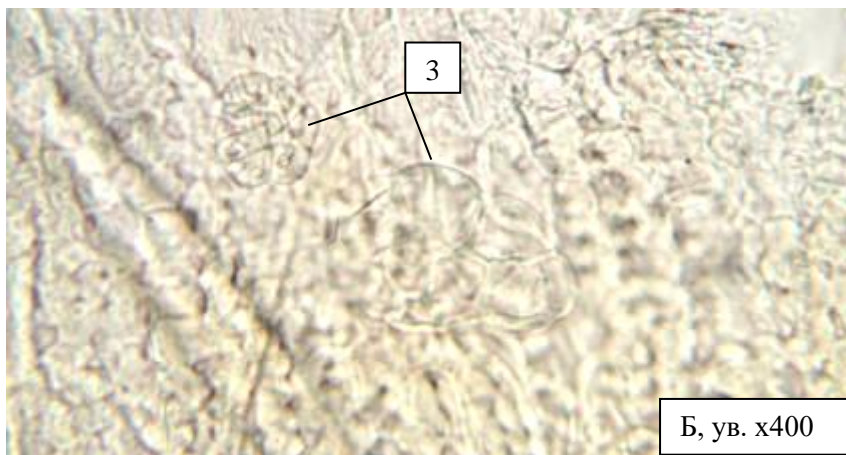
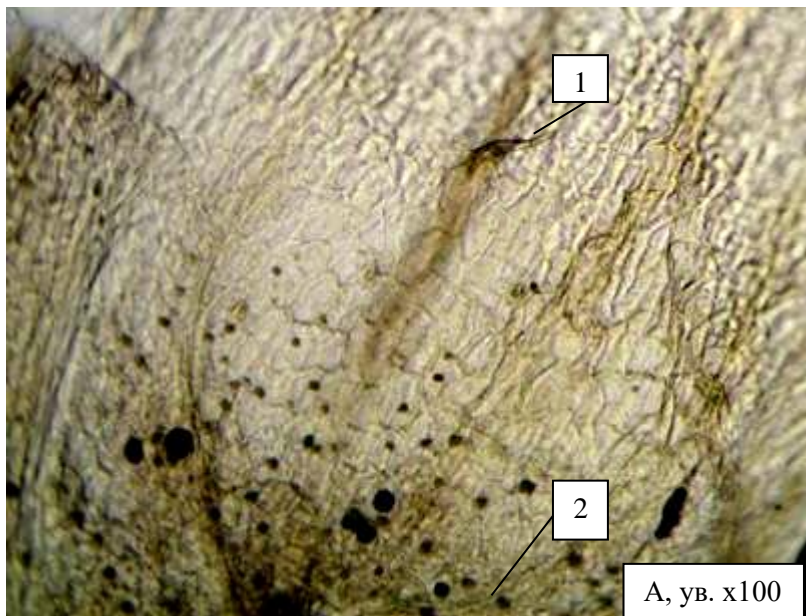


Рисунок 13 - Анатомическое строение цветка горца узловатого: 1 – пучковые волоски, 2 – друзы оксалата кальция, 3 - железки

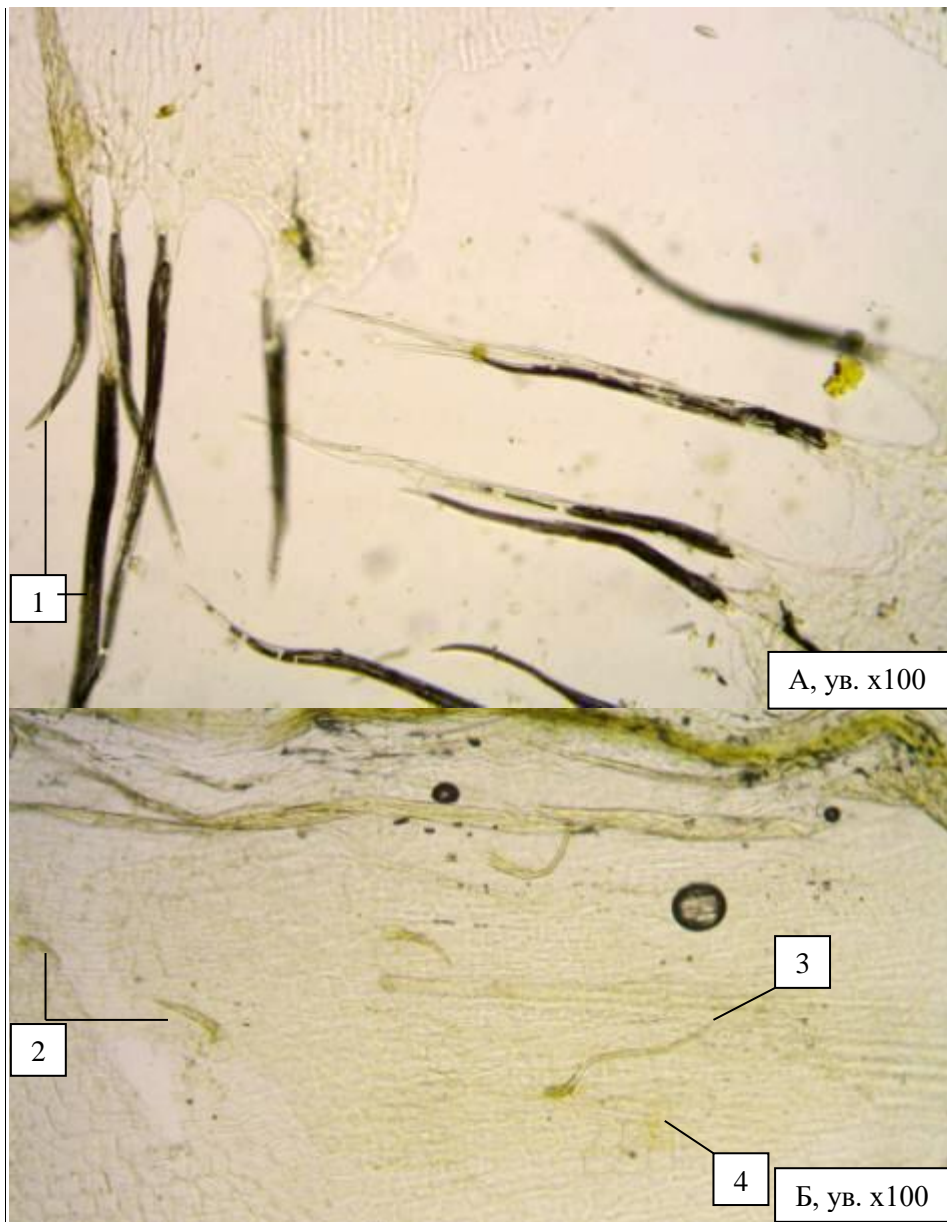


Рисунок 14 - Анатомическое строение раструба горца Бриттингера: 1 – реснитчатые волоски, 2 – пучковые волоски, 3 – нитевидные волоски, 4 – пленчатые волоски

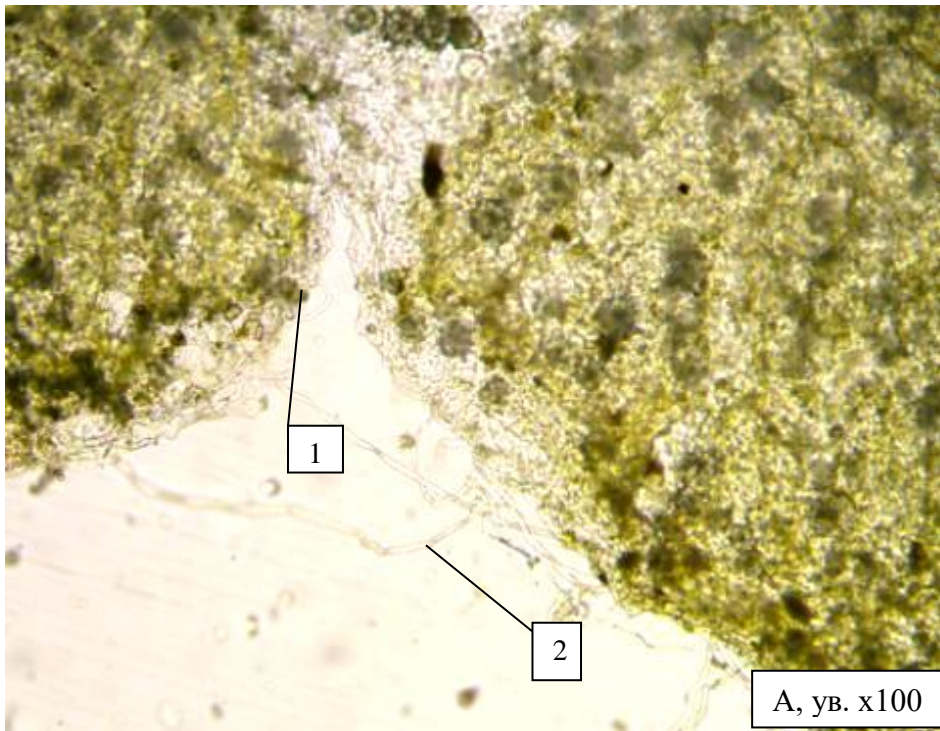


Рисунок 15 - Анатомическое строение листа горца Бриттингера: 1 – друзы оксалата кальция, 2 - нитевидные волоски

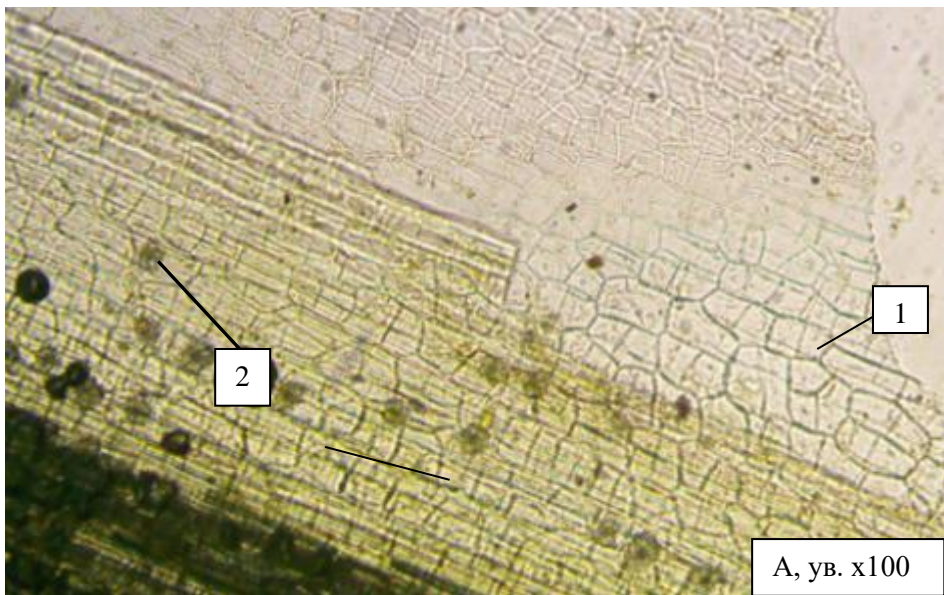


Рисунок 16 - Анатомическое строение стебля горца Бриттингера: 1 – клетки эпидермиса, 2 – друзы оксалата кальция

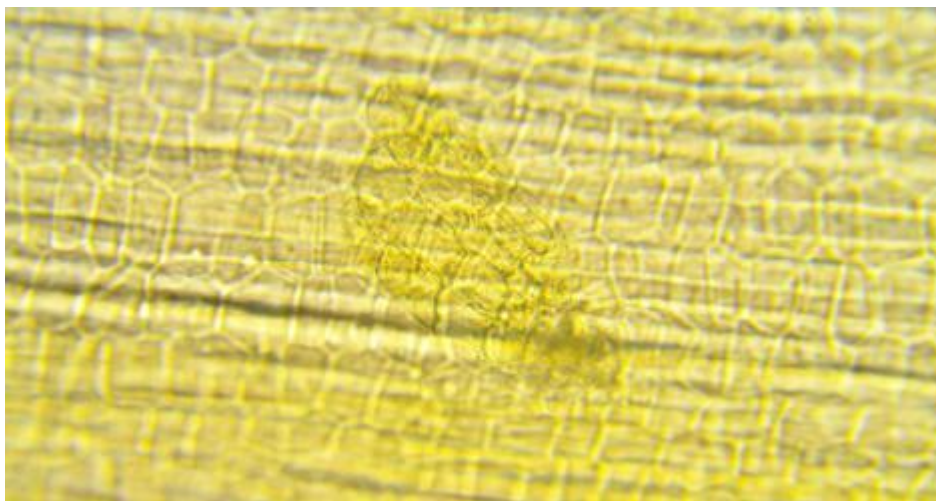


Рисунок 17 - Пленчатый волосок на стебле горца войлочного, ув. x400



Рисунок 18 - Анатомическое строение цветка горца войлочного: 1 – железки, 2 – друзы оксалата кальция

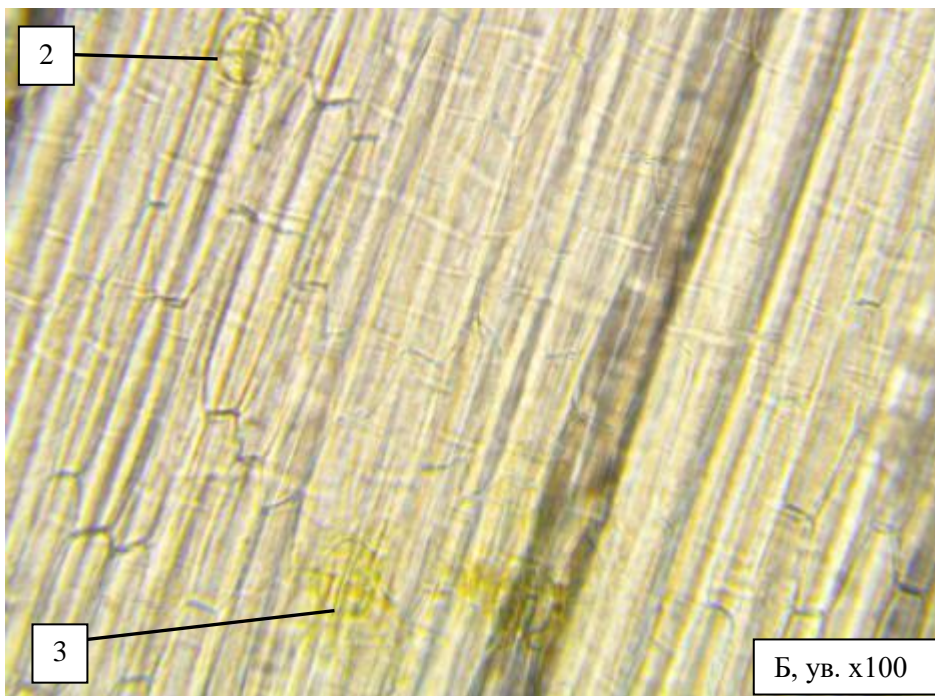
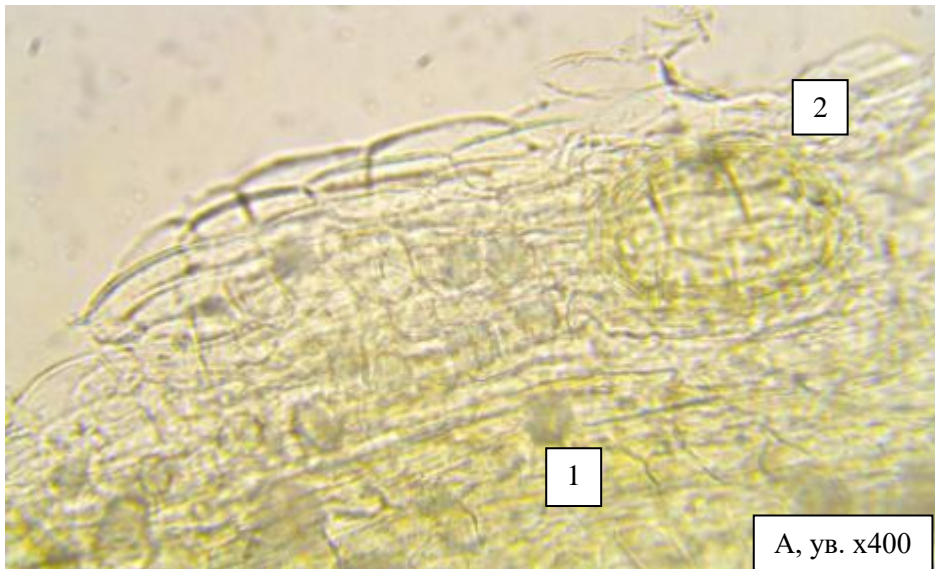


Рисунок 19 - Анатомическое строение листа горца перечного: 1 – друзы оксалата кальция, 2 – устьица, 3 - железки

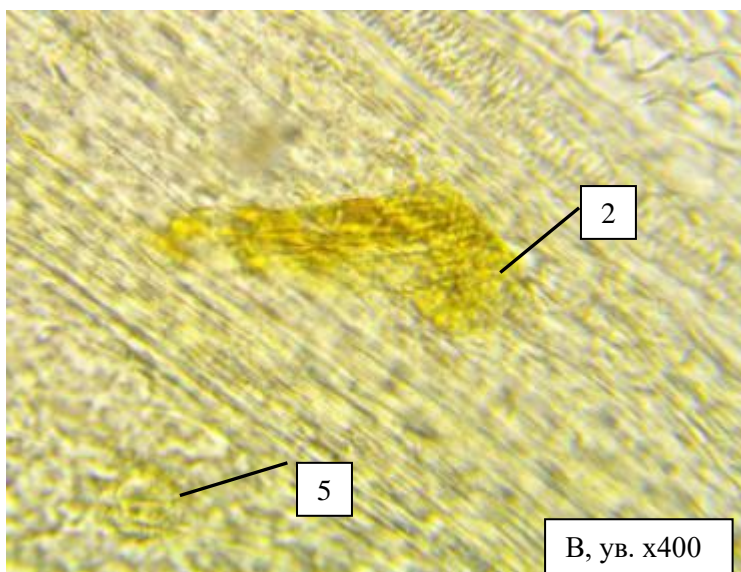
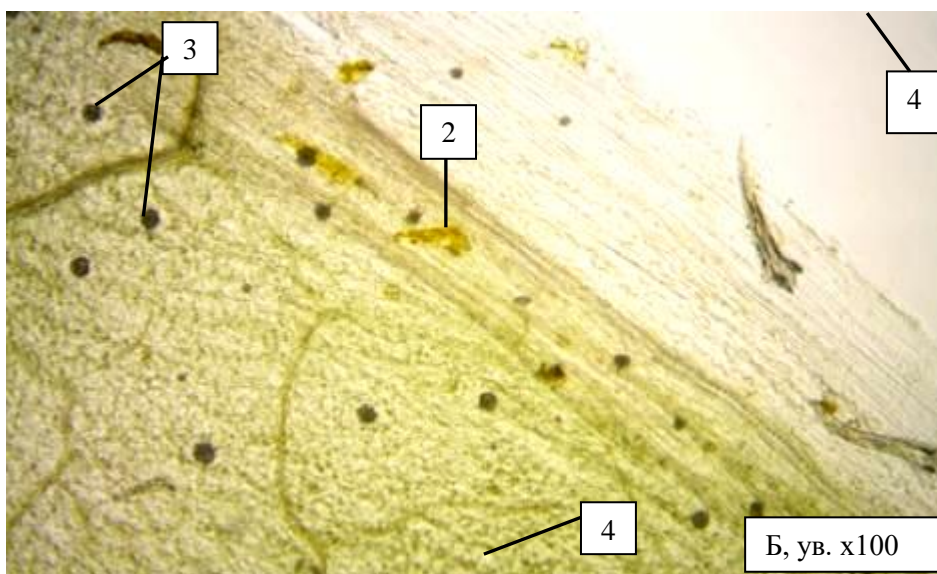
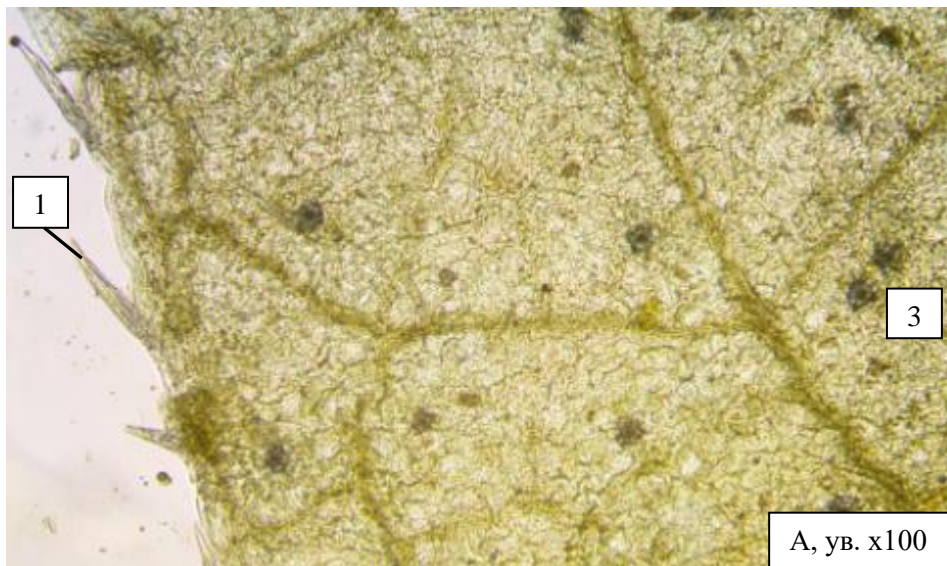


Рисунок 20 - Анатомическое строение листа горца малого: 1 – пучковые волоски, 2 - пленчатые волоски, 3 – друзы оксалата кальция, 4 – вместилища, 5 - железка

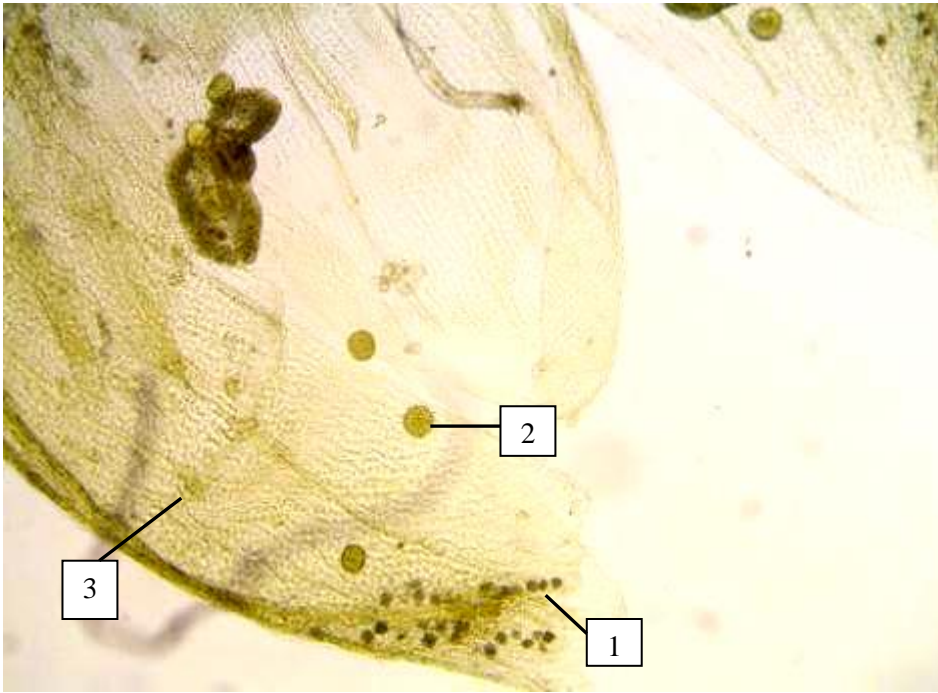


Рисунок 21 - Анатомическое строение цветка горца малого, ув. x100: 1 – друзы оксалата кальция, 2 – пыльцевые зерна, 3 – железка

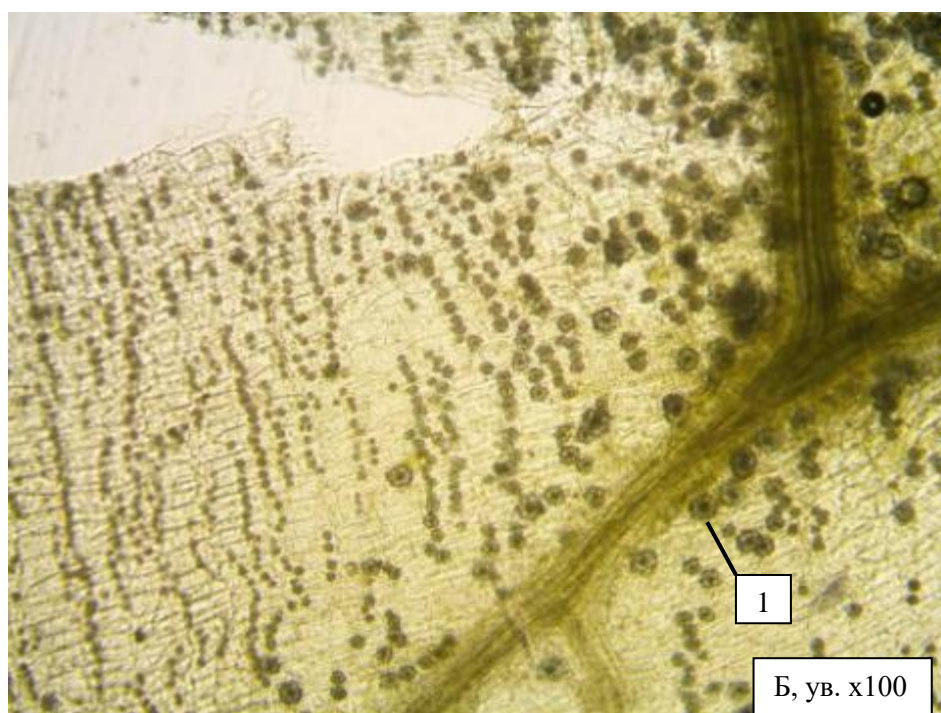
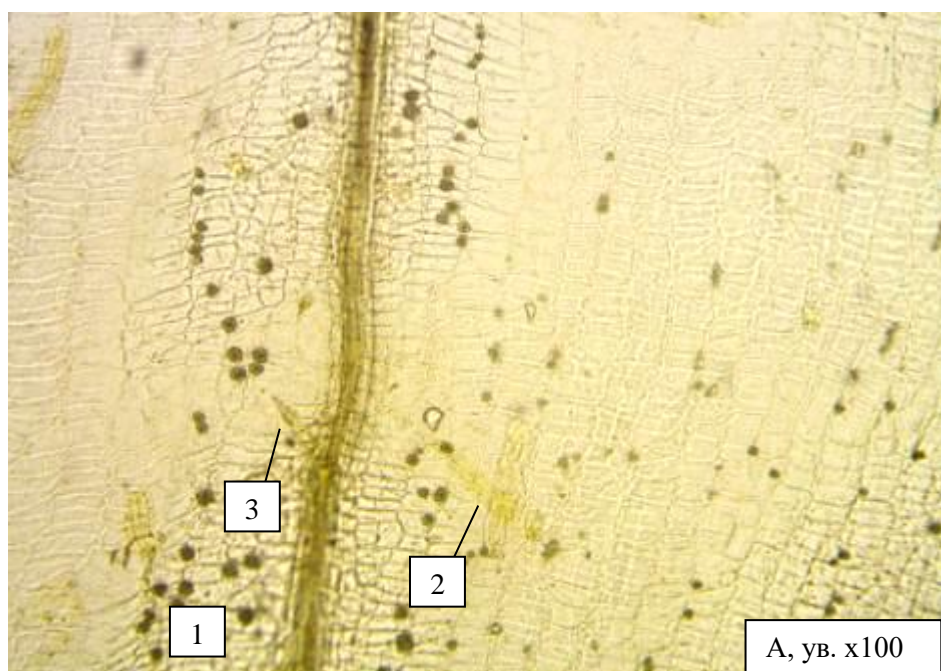
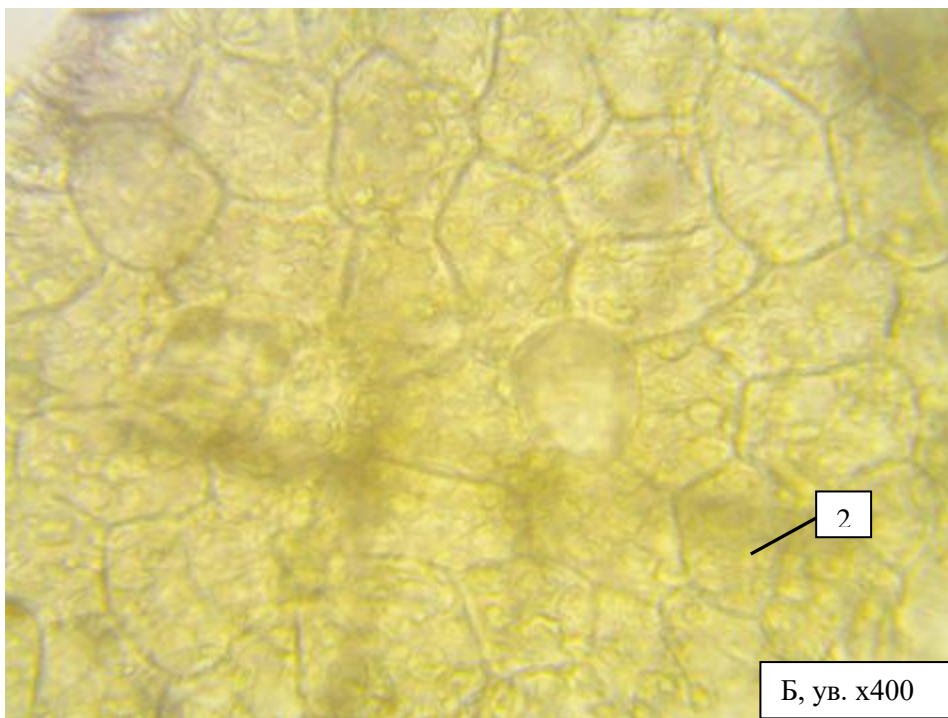
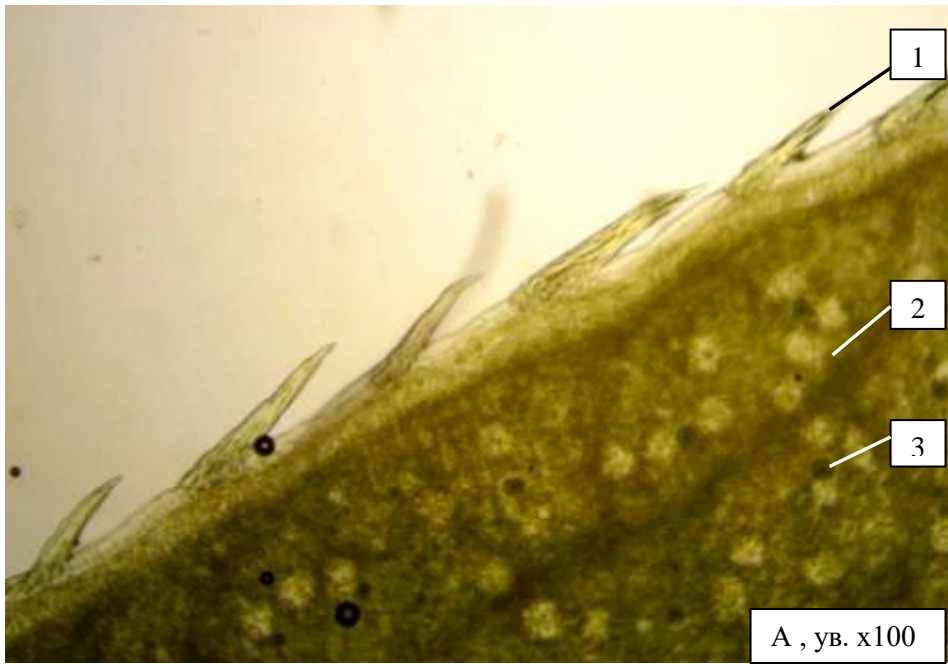


Рисунок 22 - Анатомическое строение раструба горца почечуйного: 1 – друзы оксалата кальция, 2 – пленчатый волосок, 3 – пучковый волосок



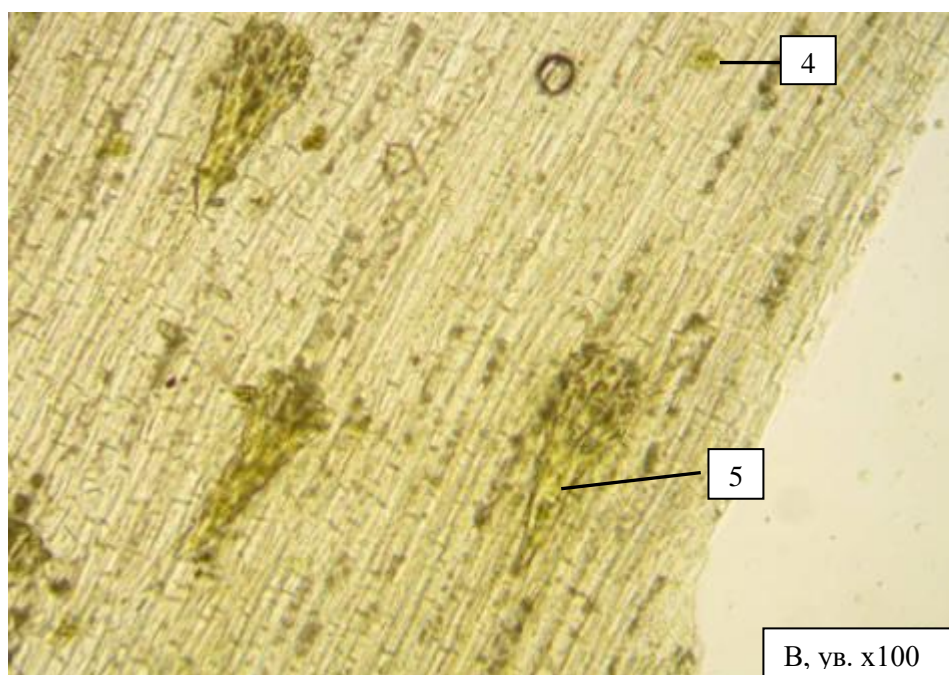


Рисунок 23 - Анатомическое строение листа горца почечуйного: 1 – пучковый волосок по краю листа, 2 – вместилища, 3 – друзы оксалата кальция, 4 – железка, 5 – пучковые волоски по жилке листа

Таблица 1 - Сравнительная характеристика анатомических признаков и их биометрических характеристик видов рода горец *Persicaria* Mill.

Признак	Размер, мкм									
	Горец почечный	Горец земноводный (НФ)	Горец земноводный (ВФ)	Горец щавелистный	Горец Бриттингера	Горец узловатый	Горец войлочный	Горец малый	Горец перечный	Горец шероховатый
Клетки	Длина 20,9 – 58,2 ширина 11,6-46,6	Длина 23,3-69,9 ширина 11,6-46,6	Длина 34,9 – 58,2 ширина 9,3-11,6	Длина 20,9-46,6 ширина 10,3 – 34,9	Длина 104,8 ширина 34,9-81,95	Длина 46,6 – 93,2 ширина 11,6- 20,9	Длина 46,6 – 93,2 ширина 11,6 -34,9	Длина 23,3-69,9 ширина 11,6-46,6	Длина 46,6-69,9 ширина 23,3-46,6	Длина 65,5-78,4 ширина 34,9-49,4
Реснитчатые волоски	Длина 980,0-1480,0 ширина 11,65 - 48,8	Длина 490,0 – 1568,0 ширина 29,4, – 48,8	Длина 93,2 – 196,0 ширина 4,66 – 23,3	Длина 235,0-3666,0 ширина 48,8-195,5	Длина 196,0-441,0 ширина 19,6-29,4	Длина 195,5-784,0 ширина 19,6-29,4	Длина 80,9 – 222,0 ширина 9,3 – 23,3	Длина 228,0-3840,0 ширина 24,7 – 122,0	Длина 122,0-2196,0 ширина 24,4-48,8	Длина 11,5-23,3 ширина 9,3-16,5
Пучковые волоски	Длина 256,3 – 882,0 ширина 73,2- 98,0	Длина 196,0-732,0 ширина 39,2, - 73,2	Длина 80,5 – 256,3 ширина 11,65 – 23,3	Длина 69,0-253,0 ширина 16,0-27,6	Длина 139,8 – 221,3 ширина 9,32-11,6	Длина 93,2-139,8 ширина 4,66 -11,6	Длина 104,85-139,8 ширина 4,66-11,6	Длина 294,0-490,0 ширина 30,2-49,0	Длина 488-854 ширина 73,2-122	-
Пленчатые волоски	Длина 163,1-205,8 ширина 23,3-29,4	Длина 34,9 – 245,0 ширина 11,6-58,8	Длина 156,8 – 221,3 ширина 23,3-58,8	Длина 49,0-80,5 ширина 11,6-23,3	Длина 11,6-34,9 ширина 11,65-23,3	Длина 23,3-92,3 ширина 11,6 -34,9	Длина 147,0-186,0 ширина 49,1-93,2	Длина 186,4-294,0 ширина 11,6 - 29,4	Длина 147,0-205,8 ширина 23,3 – 49,1	Длина 93,5 – 147,0 ширина 75,2-98,8
Нитевидные волоски	-	-	-	-	Длина 98,0 – 116,5 ширина 9,8 – 11,65	-	Длина 196,0 – 221,3 ширина 11,6 - 19,6	-	-	-
Места	Длина 11,6 -	Длина 19,6	Длина	Длина	Длина 25,6-	Длина 11,6	Длина 11,6	Длина	Длина	Длина

Раструб

	прикрепления пленчатых волосков	19,6 ширина 9,3 – 11,6	– 27,9 ширина 11,6 – 23,3	11,6- 34,9 ширина 11,65-27,9	11,6-23,3 ширина 6,99-9,3	34,9 ширина 11,6-23,3	-19,6 ширина 9,3 – 11,6	-23,3 ширина 9,3-11,6	23,3-34,9 ширина 6,99 -11,6	23,3-34,9 ширина 9,32-11,6	11,65 – 23,3 ширина 23,3-34,5
	Устьица	Длина 23,3 - 34,9 ширина 11,6 -23,3	Длина 30,1 – 37,2 ширина 13,9-18,6	Длина 23,3-34,9 ширина 13,9 - 23,3	Длина 30,1 - 46,6 ширина 23,3 – 34,9	Длина 23,3- 30,1 ширина 11,6-23,3	Длина 11,6-23,3 ширина 9,3-11,6	Длина 9,3- 11,6 ширина 11,6-18,6	Длина 23,3-30,3 ширина 11,6-18,6	Длина 11,6 -23,3 ширина 9,3-11,6	Длина 11,3-23,3 ширина 9,3-11,5
	Друзы оксалата кальция	Диаметр 16,3-23,3	Диаметр 13,9 - 23,3	Диаметр 29,4-58,8	Диаметр 11,5-23,3	Диаметр 9,3- 34,9	Диаметр 9,3-23,3	Диаметр 4,6 - 23,3	Диаметр 13,8-25,7	Диаметр 4,6 – 18,6	Диаметр 9,3-16,3
	Вместилища	-	-	-	-	-	-	-	Диаметр 23,3-46,6	-	-
Лист	Клетки верхнего эпидермиса	Длина 44,3- 58,2 ширина 34,9-41,9	Длина 34,9 - 46,6 ширина 34,9 – 40,5	Длина 23,3-34,9 ширина 11,6-16,3	Длина 34,5-41,4 ширина 41,4-46,6	Длина 46,6- 58,25 ширина 34,9-41,9	Длина 46,6-81,5 ширина 34,9-69,9	Длина 39,61 -58,9 ширина 28,6-34,9	Длина 27,9-34,9 ширина 23,3 - 27,9	Длина 34,9-67,5 ширина 23,3 – 46,6	Длина 46,6-69,9 ширина 23,3-46,6
	Клетки нижнего эпидермиса	Длина 34,9- 51,2 ширина 23,3-48,9	Длина 46,6-51,2 ширина 23,3-34,9	Длина 23,3-34,9 ширина 11,6-16,3	Длина 38,9-46,6 ширина 23,3-34,9	Длина 54,6- 69,9 ширина 27,9-34,9	Длина 58,9-69,9 ширина 34,95-38,9	Длина 46,6-58,9 ширина 34,95-38,9	Длина 40,5-58,25 ширина 23,3-34,9	Длина 46,6-69,9 ширина 11,6-34,9	Длина 34,5-46,6 ширина 23,3-34,5
	Устьица	Длина 23,3- 26,8 ширина 11,6-20,9	Длина 32,6 - 38,9 ширина 13,9-25,6	Длина 32,6 - 46,6 ширина 23,3-28,6	Длина 23,3-28,6 ширина 16,5-20,7	Длина 18,6- 27,9 ширина, 11,6-23,3	Длина 27,9 – 34,9 ширина 13,9 -16,5	Длина 23,3 – 30,5 ширина 13,9-20,4	Длина 27,9 -38,9 ширина 11,6-27,4	Длина 20,5-27,4 ширина 11,6 -18,6	Длина 16,5-27,9 ширина 11,5-23,3
	Друзы оксалата кальция	Диаметр 11,6-41,9	Диаметр 11,6 – 34,9	Диаметр 9,3 – 34,9	Диаметр 23,3-34,9	Диаметр 13,9-46,6	Диаметр 23,3- 49,8	Диаметр 26,8-49,8	Диаметр 11,5-69,9	Диаметр 9,3-23,3	Диаметр 11,6-46,6
	Железки	Диаметр 25,6-39,6	Диаметр 26,8-41,9	Диаметр 23,3-46,6	Диаметр 25,3-30,0	Диаметр 13,9-69,9	Диаметр 23,3-81,55	Диаметр 25,6 - 81,5	Диаметр 14,6-60,9	Диаметр 23,3-69,9	Диаметр 34,5- 58,2
	Вместилища	Диаметр 46,6-58,25	Диаметр 19,6- 68,6	Диаметр 46,6-58,9	Диаметр 34,9-68,4	Диаметр 30,5-67,3	Диаметр 46,6-58,2	Диаметр 46,6-60,9	Диаметр 30,1-41,9	Диаметр 34,9-59,6	Диаметр 23,3-46,6
	Пучковые волоски по поверхности и жилкам листа	Длина 96,6- 233,1 ширина 18,4-46,6	Длина 215,6 - 456,4 ширина	Длина 65,8-98,8 ширина 23,3-54,6	Длина 80,5-184,6 ширина 43,8-80,8	Длина 113,1- 180,3 ширина 69,9-98,8	Длина 78,8-145,7 ширина 34,9-67,8	Длина 123,1 - 168,9 ширина	Длина 147,4- 196,8 ширина	Длина 86,8-143,8 ширина 34,8-80,8	Длина 151,4-186,3 ширина 23,3-34,5

		39,2-68,6					31,6-67,4	29,4-49,0			
	Пучковые волоски по краю листа	Длина 98,0- 294,0 ширина 39,2-46,6	Длина 34,9-264,4 ширина 24,4-134,9	Длина 69,9-186,4 ширина 23,3 -58,2	Длина 80,8-294,0 ширина 39,2-146,6	Длина 116,5- 196,6 ширина 86,6-99,0	Длина 98,0-294,2 ширина 49,2-105,6	Длина 112,6-395,0 ширина 48,9-149,0	Длина 147,0- 486,4 ширина 98,0-125,6	Длина 147,0-245,4 ширина 39,4-110,7	Длина 120,6 – 372,8 ширина 23,3-46,6
	Нитевидные волоски	-	-	-	Длина 125,0-233,0 ширина 6,9-11,6	Длина 98,8- 265,0 ширина 9,3- 11,6	Длина 122,0-243,0 ширина 6,9-11,6	Длина 151,4-187,6 ширина 4,6 – 9,3	-	-	-
Стебель	Клетки эпидермиса	Длина 11,6- 20,9 ширина 34,9-36,6	Длина 34,95-69,9 ширина 11,6-58,2	Длина 23,3-84,85 ширина 20,97-46,6	Длина 27,9-46,6 ширина 23,3-34,9	Длина 32,6- 69,9 ширина 23,3-46,6	Длина 27,9 – 58,2 ширина 23,3-46,6	Длина 34,9-58,2 ширина 23,3-36,6	Длина 34,9-48,9 ширина 23,3-27,9	Длина 46,6-58,2 ширина 11,6 -23,3	Длина 16,31-34,5 ширина 23,3-46,6
	Устьица	Длина 26,8- 34,9 ширина 18,6 -23,3	Длина 23,3-27,96 ширина 20,97-23,3	Длина 23,3 – 34,9 ширина 13,98-27,9	Длина 25,63 - 32,6 ширина 23,3 – 26,8	Длина 23,3- 34,9 ширина 11,6-23,3	Длина 27,9 – 34,9 ширина 23,3-28,6	Длина 27,9-34,9 ширина 23,3-26,8	Длина 23,3-28,6 ширина 11,6-23,3	Длина 26,8-34,9 ширина 23,3 – 28,6	-
	Пучковые волоски	Длина 98,6- 116,5 ширина 34,9-46,6	Длина 90,5-116,5 ширина 34,9-46,6	-	Длина 80,8-186,4 ширина 34,9 -46,6	Длина 69,9 – 80,8 ширина 34,9-46,6	-	-	Длина 69,9 - 80,8 ширина 11,65-34,9	-	-
	Пленчатые волоски	-	Длина 34,9 - 60,9 ширина 19,6 – 23,3	Длина 58,9-80,8 ширина 23,3-58,8	-	Длина 46,6- 69,9 ширина 11,6-23,3	Длина 28,6-46,6 ширина 11,6-23,3	Длина 23,3-28,6 ширина 11,6-23,3	Длина 46,6-60,9 ширина 11,6-23,3	-	Длина 54,5-93,3 ширина 23,3-34,5
	Места прикреплени я пленок	-	Длина 11,6-18,4 ширина 9,3-11,6	Длина 11,6 - 20,9 ширина 18,6- 23,3	-	Длина 11,6- 23,3 ширина 9,3- 18,6	Длина 11,6-18,6 ширина 9,3-11,6	Длина 9,3- 11,6 ширина 9,3-11,6	Длина 18,6-23,3 ширина 11,6-16,5	-	Длина 11,6 -23,3 ширина 9,3- 16,5
	Друзы оксалата кальция	Диаметр 6,9- 29,4	Диаметр 4,6-23,3	Диаметр 6,99 – 23,3	Диаметр 16,3-37,3	Диаметр 23,3-41,9	Диаметр 20,9– 34,9	Диаметр 11,6-28,6	Диаметр 4,6-23,3	Диаметр 13,9 – 23,3	Диаметр 9,3-16,5
	Железки	Диаметр 28,6-46,6	Диаметр 18,6 – 48,9	-	Диаметр 13,9 - 30,2	Диаметр 28,6-46,6	-	-	Диаметр 23,3- 46,6	Диаметр 18,6 - 23,3	Диаметр 16,5-34,9

	Вместилища	-	-	-	-	-	-	-	Диаметр 18,6-34,9	Диаметр 25,6-46,6	-
Цветок	Клетки эпидермиса	Длина 53,9-88,3 ширина 39,2 – 46,6	-	Длина 16,33 - 93,2 ширина 11,6- 53,9	Длина 34,9-92,0 ширина 16,1-54,9	Длина 53,9-69,9 ширина 11,6-23,3	Длина 58,2 – 69,9 ширина 16,1-54,9	Длина 46,6 – 53,9 ширина 23,3 -34,9	Длина 34,0-51,3 ширина 11,6-23,3	Длина 58,2 – 69,9 ширина 11,65-34,9	Длина 34,5-46,6 ширина 11,65-34,9
	Друзы оксалата кальция	Диаметр 2,3-13,9	-	Диаметр 4,6-23,3	Диаметр 13,8-23,3	Диаметр 9,3 - 23,3	Диаметр 2,3-11,6	Диаметр 9,3-23,3	Диаметр 11,6-25,6	Диаметр 2,3-9,3	Диаметр 6,9-9,3
	Пыльцевые зерна	Диаметр 34,9-44,3	-	Диаметр 18,6 - 51,3	Диаметр 34,3-46,6	Диаметр 41,9- 34,9	Диаметр 23,3-46,6	Диаметр 34,9-41,9	Диаметр 13,9- 78,4	Диаметр 34,9-58,2	Диаметр 23,3-41,5
	Трихомы	Длина 11,6-16,3 ширина 9,3 – 11,6	-	Длина 11,6 - 27,9 ширина 9,3-11,6	Длина 23,3 - 41,4 ширина 6,9-11,6	Длина 11,6-23,3 ширина 6,9-11,6	Длина 11,6-16,3 ширина 6,9-11,6	Длина 9,3-11,6 ширина 6,9-9,3	Длина 11,6-23,3 ширина 9,3-18,6	Длина 11,6-27,9 ширина 6,9-11,6	Длина 11,6-23,3 ширина 9,32-11,6
	Железки	Диаметр 44,9-67,5	-	Диаметр 34,9-53,9	Диаметр 23,3- 69,0	Диаметр 53,9-81,5	-	Диаметр 46,,6-69,9	Диаметр 27,9-46,6	Диаметр 18,6-23,3	Диаметр 23,3-69,9
	Вместилища	-	-	-	-	-	-	-	-	Диаметр 46,6-116,5	-
	Плод	Длина 2025-2684 ширина 1562 - 1952	-	Длина 2225-2928 ширина 1562-2440	Длина 1708 - 2928 ширина 1678- 2025	Длина 2025-3050 ширина 1708-2564	Длина 2440-2965 ширина 1964-2684	Длина 1784-2684 ширина 1562 - 2440	Длина 1643-2196 ширина 1562-2564	Длина 1562-2684 ширина 1235-1953	Длина 2,954,0-3257,5 ширина 2104-2540

Анализ видов рода горец *Persicaria* Mill. с помощью растровой электронной микроскопии

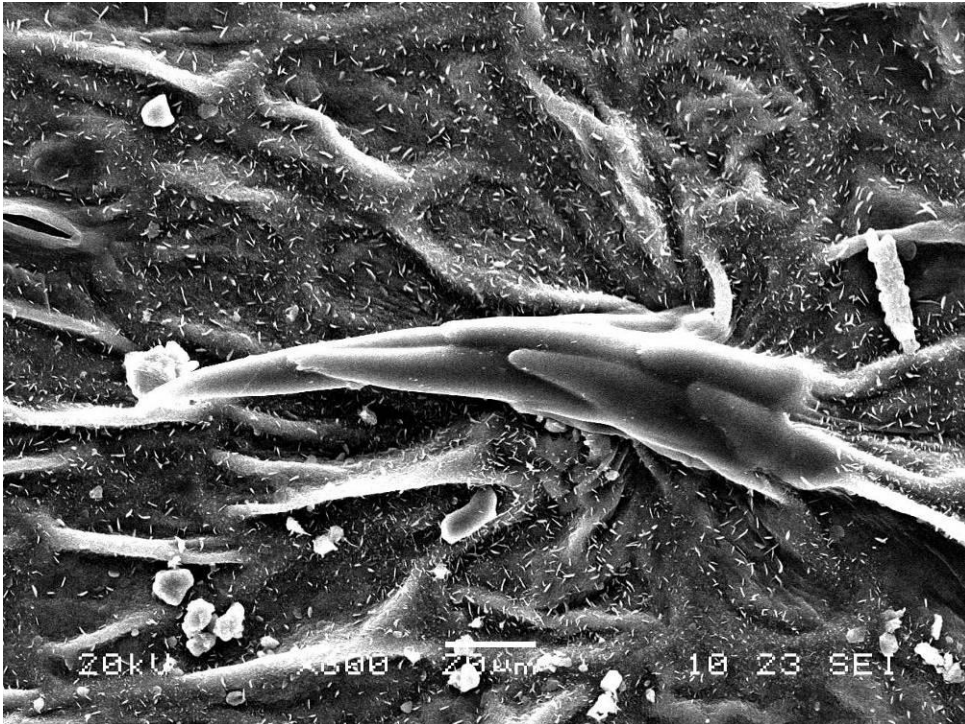


Рисунок 1 - Пучковый волосок на листовой пластинке горца почечуйного, ув. x600

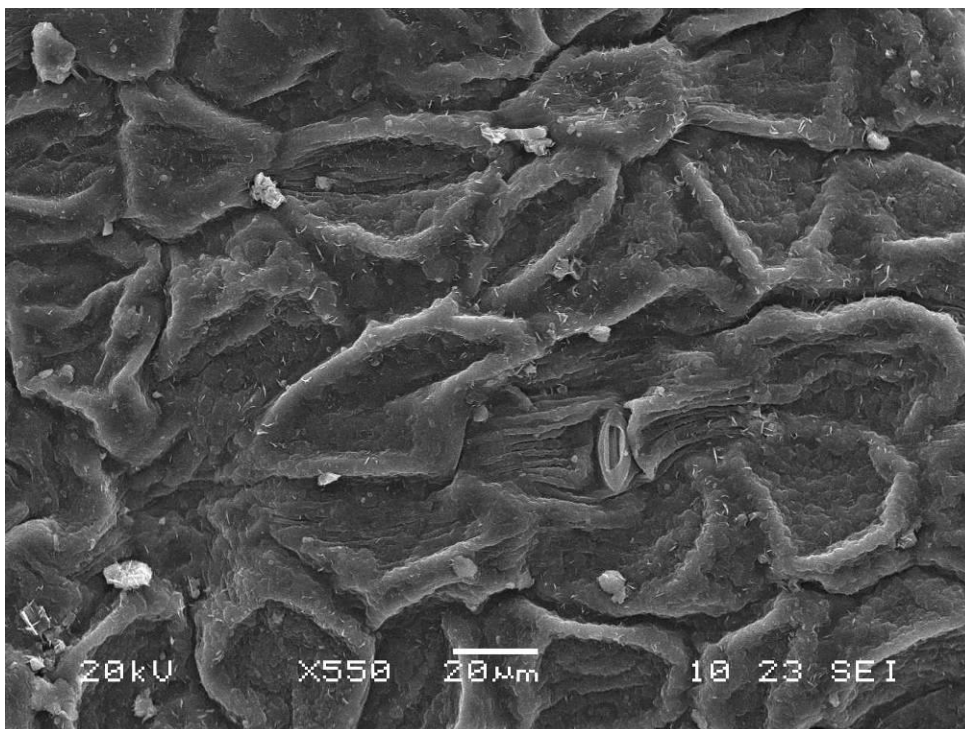


Рисунок 2 - Устьица и складчатость эпидермиса листовой пластинки горца земноводного (наземная форма), ув. x550

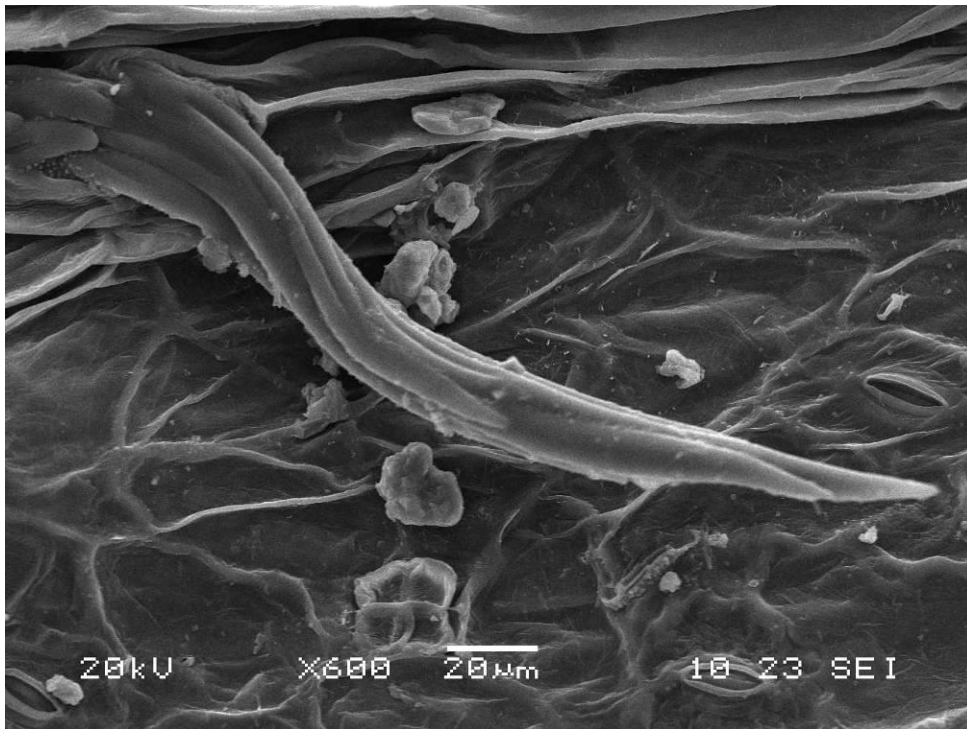
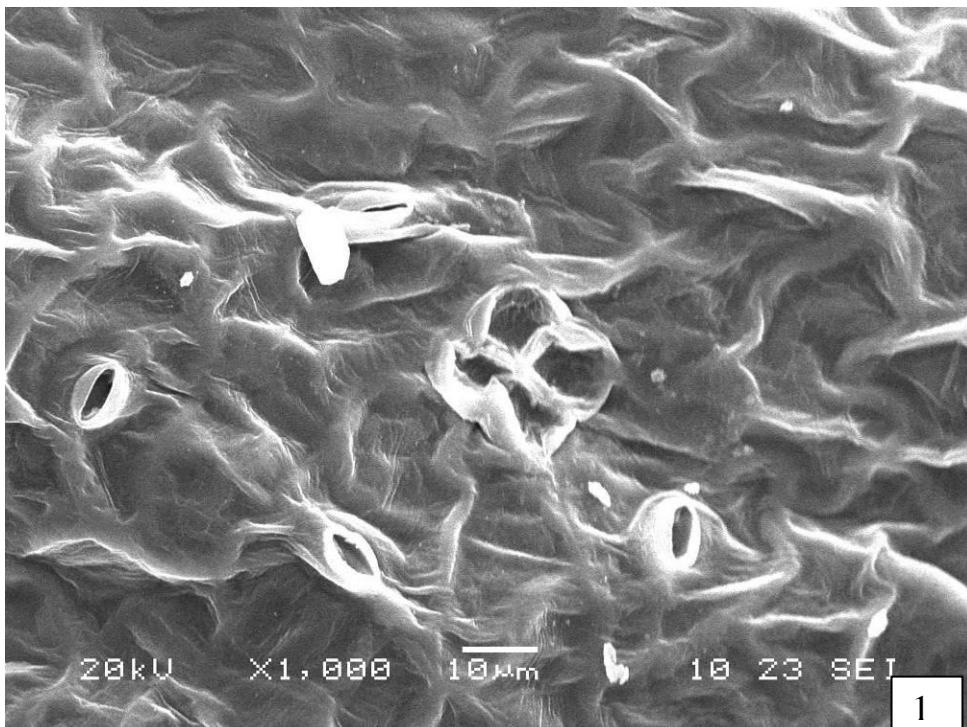


Рисунок 3 - Пучковый волосок на листовой пластинке горца малого, ув. x600



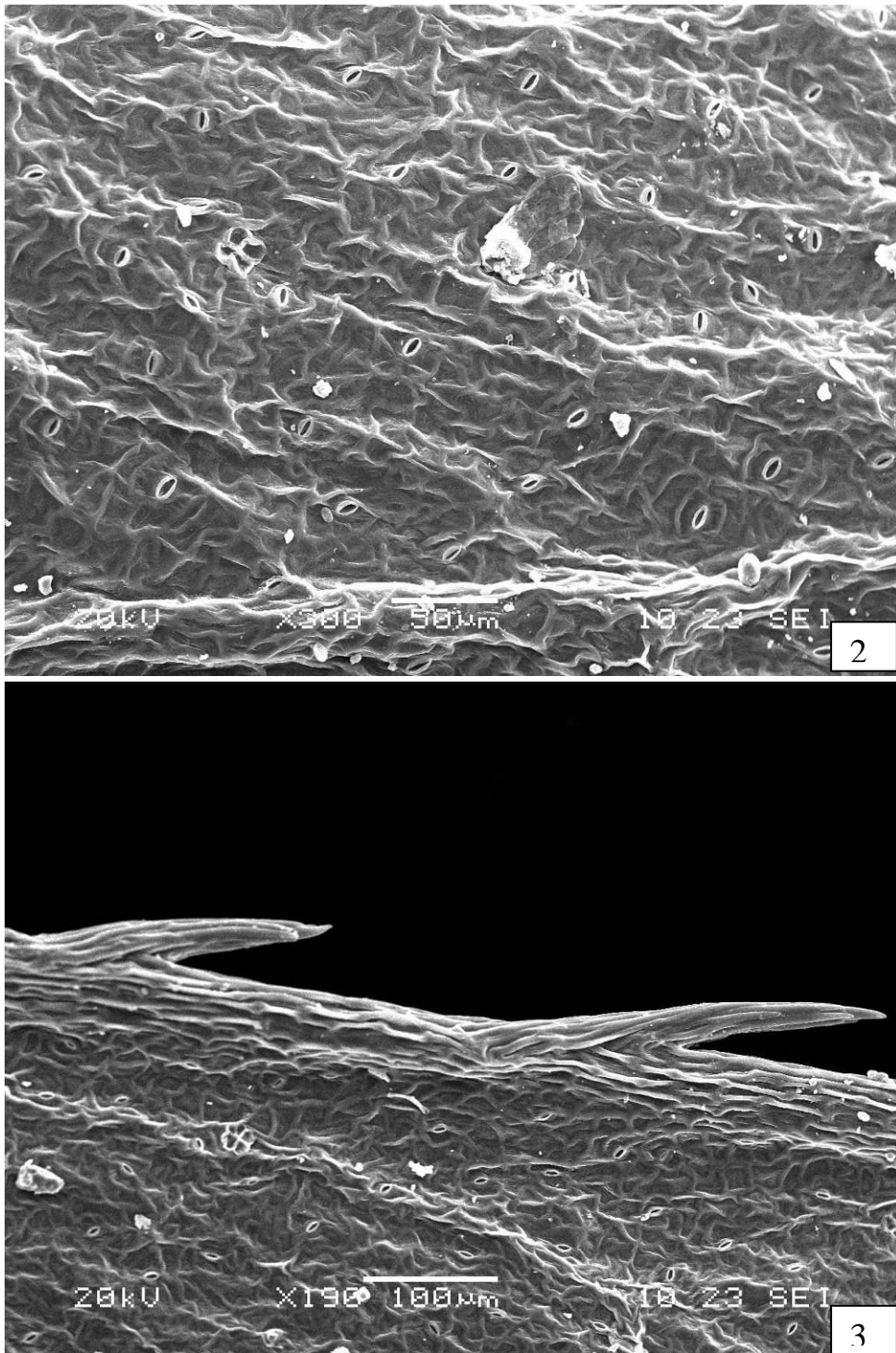


Рисунок 4 - Устьица и место прикрепления железистого волоска на листовой пластинке (1 – ув. x1000, 2 – ув. x300), пучковые волоски по краю листа (3 – ув. x190) горца перечного

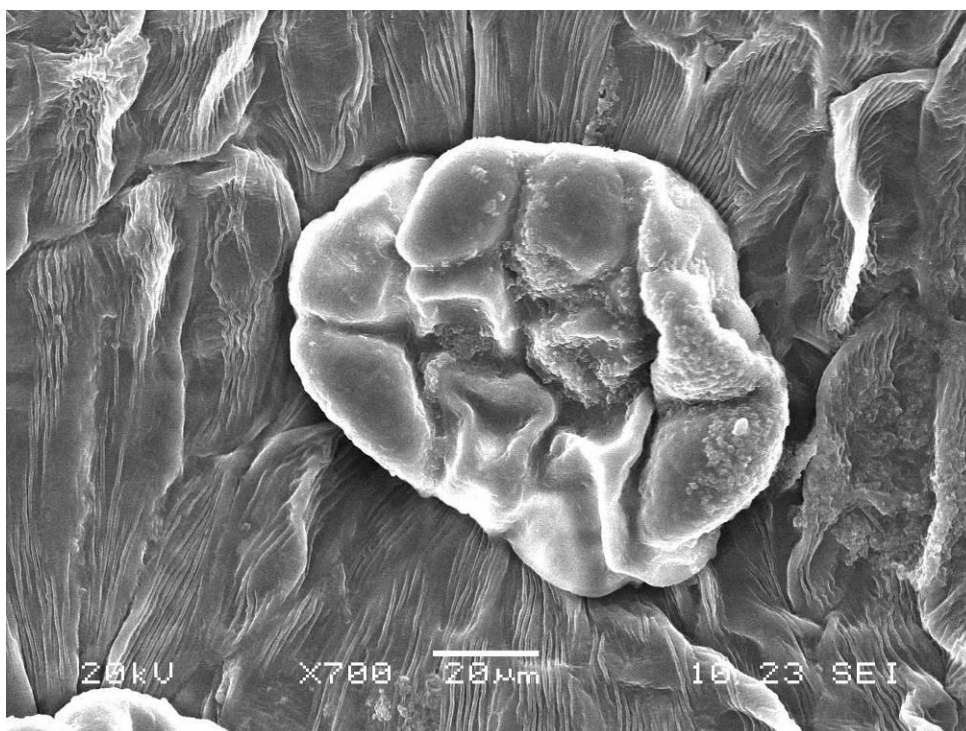


Рисунок 5 - Железка на цветке горца почечуйного, ув. x700

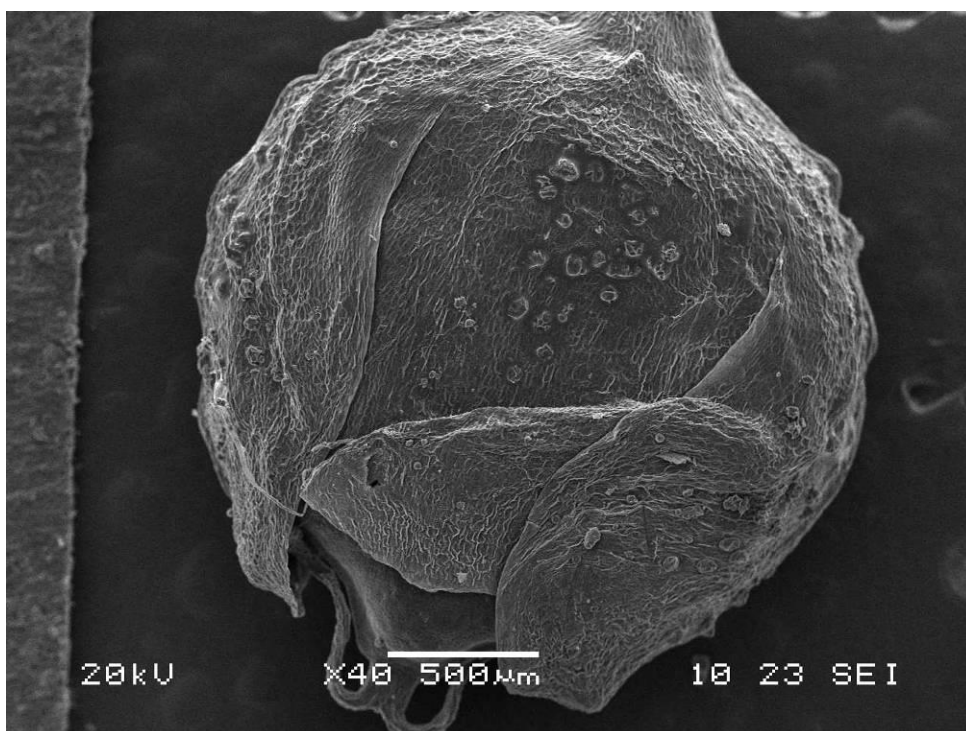


Рисунок 6 - Фрагмент плода и околоплодника горца войлочного, ув. x40

**Электрофореграммы простых сахаров видов рода горец *Persicaria* Mill.
(метод капиллярного электрофореза)**

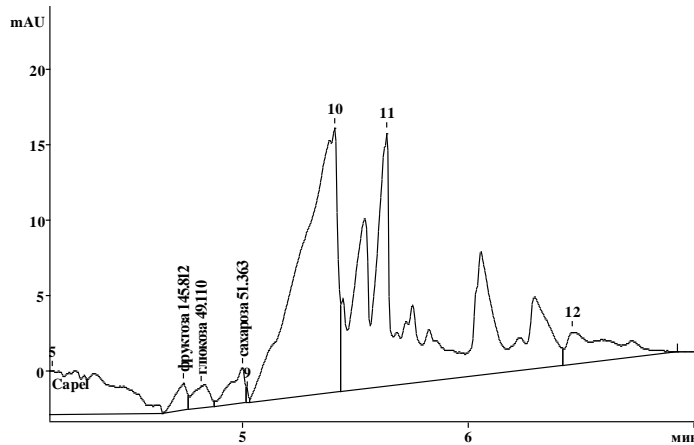


Рисунок 1 - Электрофореграмма сахаров наземной формы травы горца земноводного

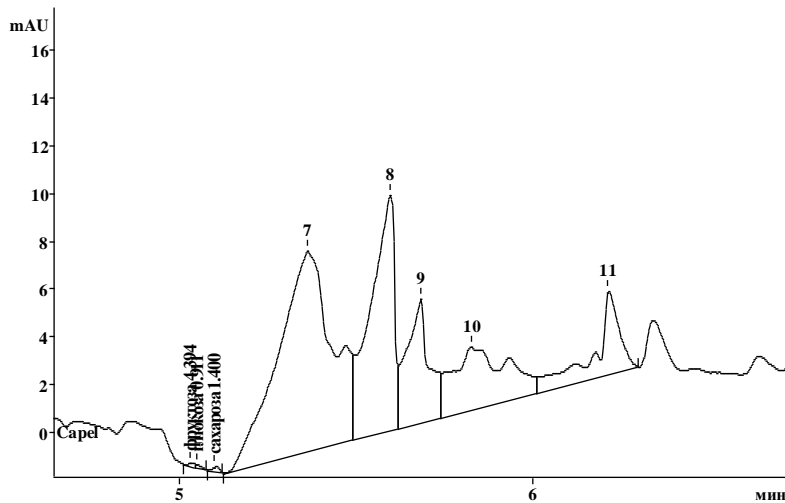


Рисунок 2 - Электрофореграмма сахаров травы водной формы горца земноводного

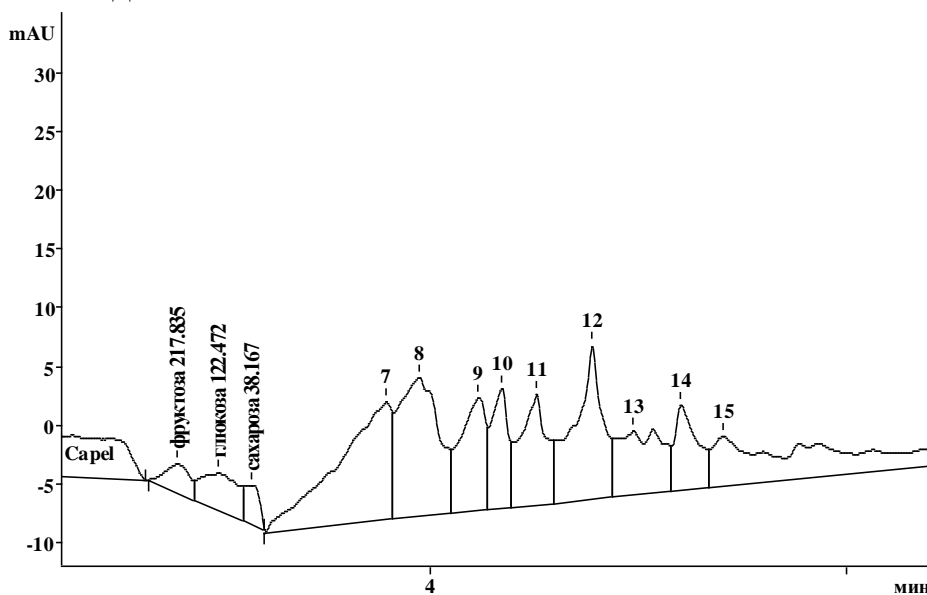


Рисунок 3 - Электрофореграмма сахаров травы горца малого

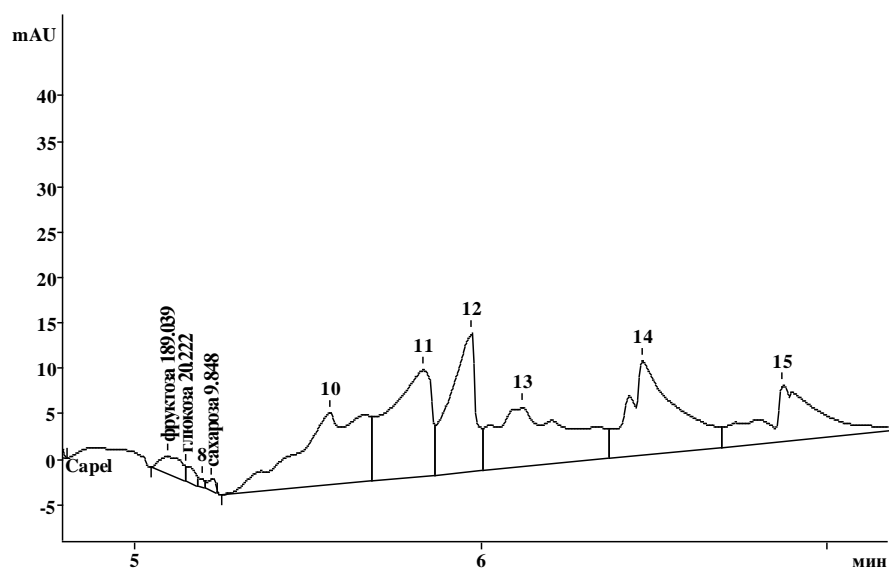


Рисунок 4 - Электрофореграмма сахаров травы горца щавелелистного

Хроматограммы аминокислот видов рода *Persicaria* Mill. (метод ТСХ)

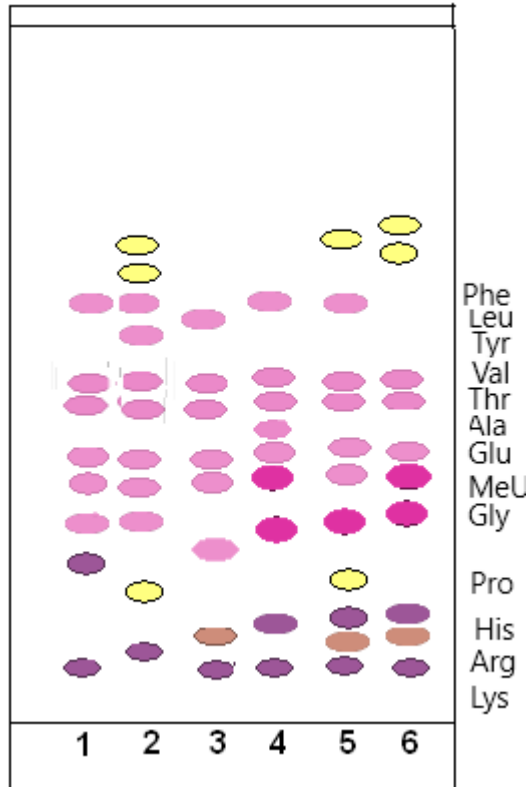


Рисунок 5 - Схематичный вид хроматограммы свободных АК в траве горец почечуйный (1), горец щавелелистный (2), горец шероховатый (3), горец Бриттингера (4), горец войлочный (5), горец узловатый (6)

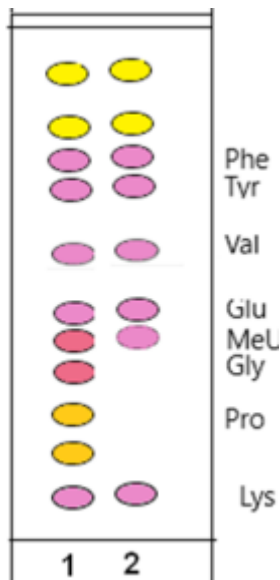


Рисунок 6 - Схематичный вид хроматограммы свободных АК в траве наземной (1) и водной (2) формы горца земноводного

Электрофореграммы аминокислот видов рода горец *Persicaria* Mill. (метод капиллярного электрофореза)

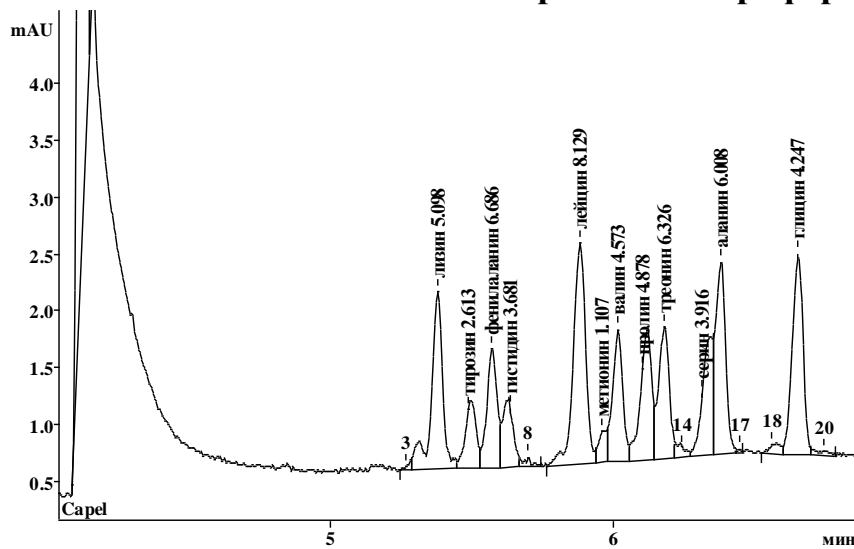


Рисунок 7 - Электрофореграмма аминокислот травы горца щавелелистного

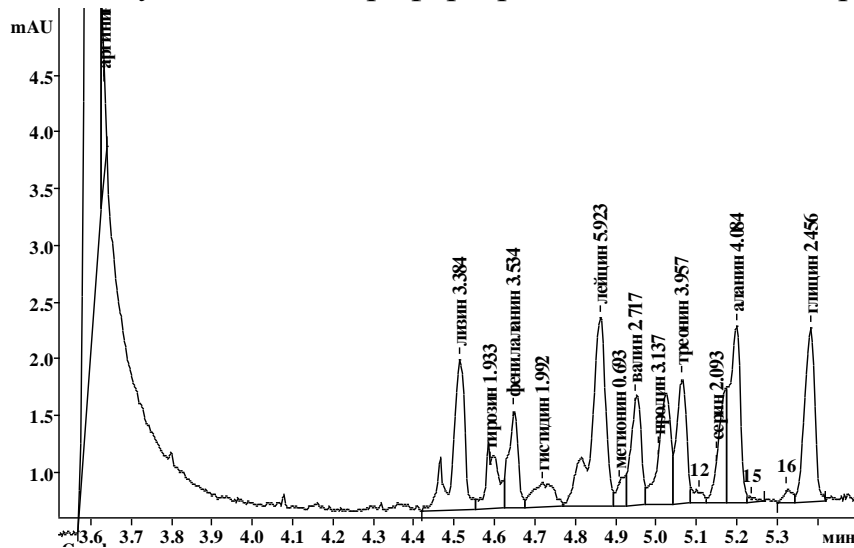


Рисунок 8 - Электрофореграмма аминокислот травы горца войлочного

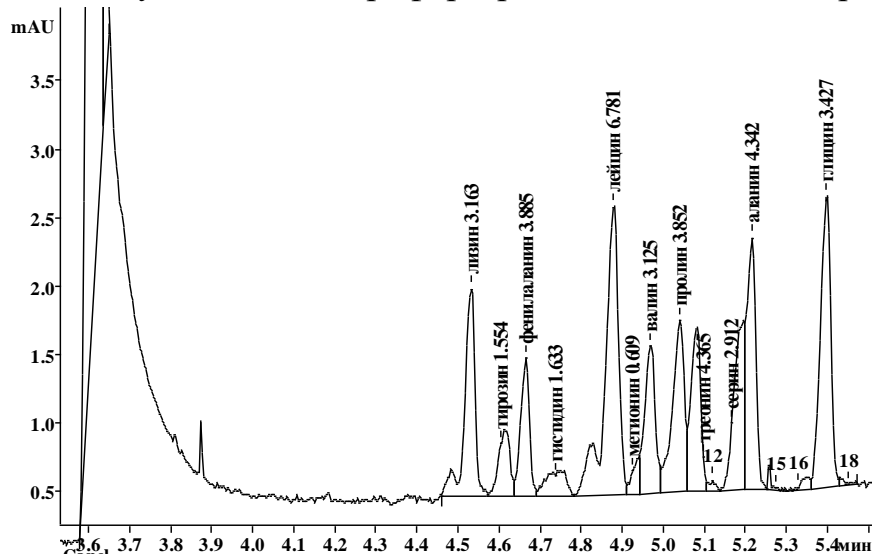


Рисунок 9 - Электрофореграмма аминокислот травы горца перечного

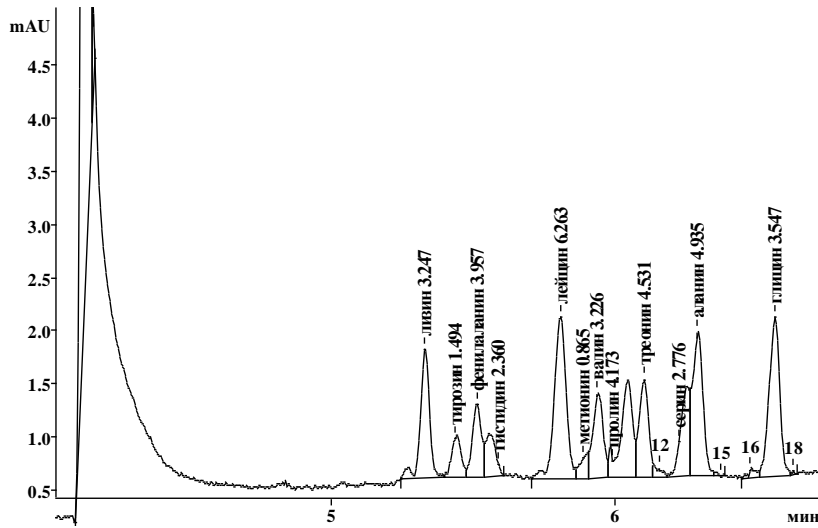


Рисунок 10 - Электрофореграмма аминокислот травы горца малого

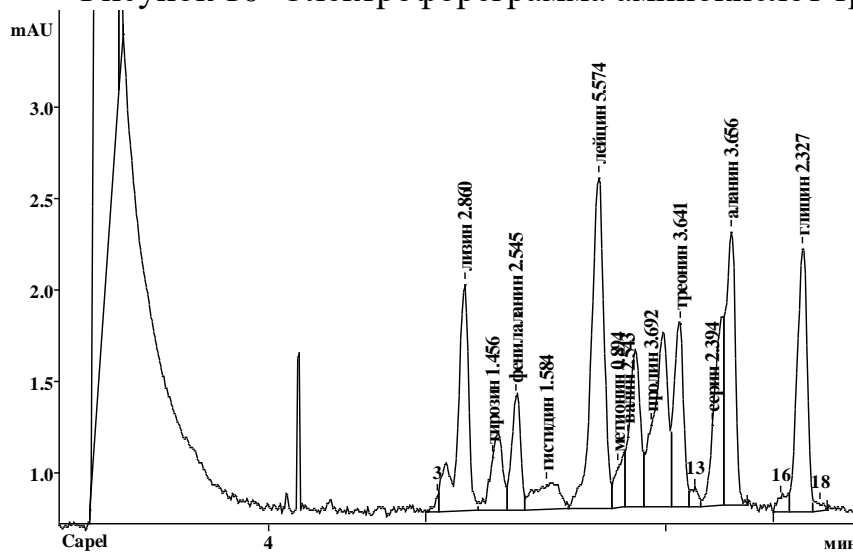


Рисунок 11 - Электрофореграмма аминокислот травы наземной формы

горца земноводного

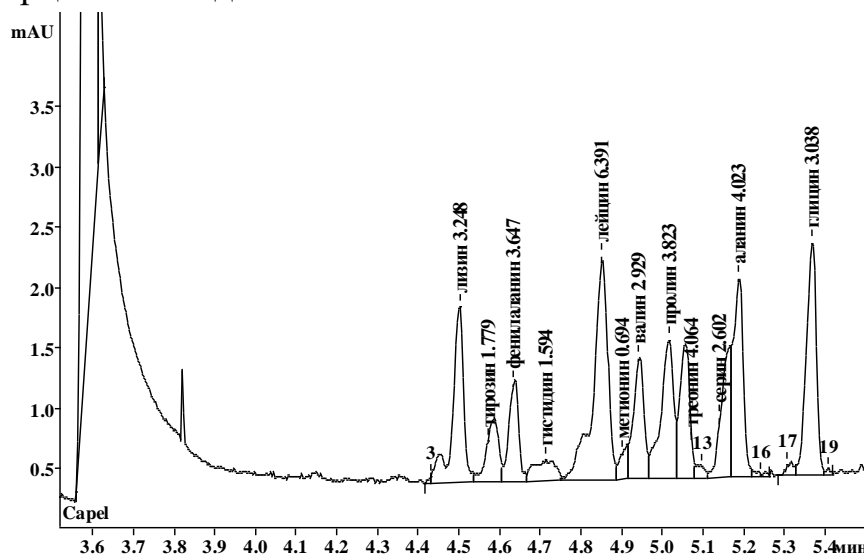
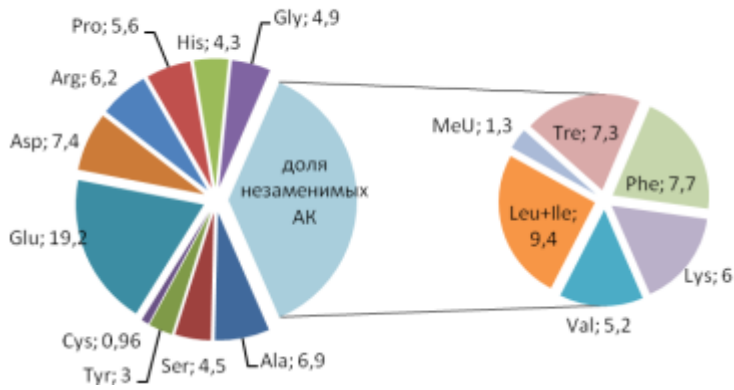
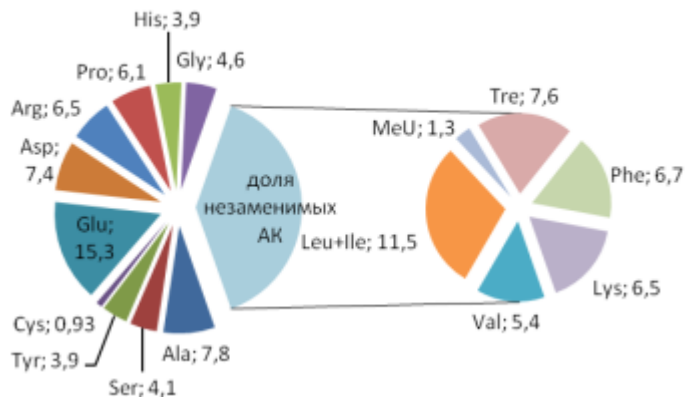


Рисунок 12 - Электрофореграмма аминокислот травы водной формы горца земноводного

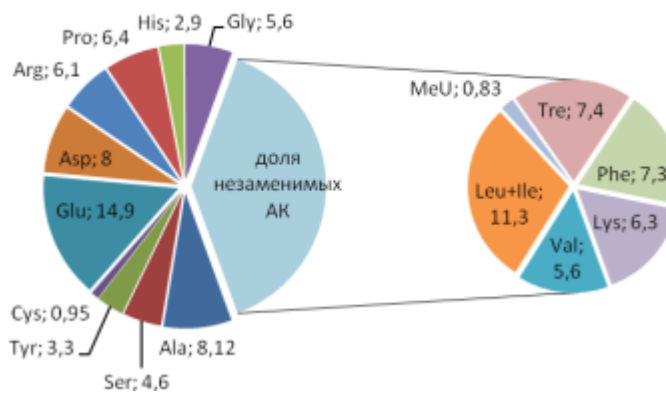
Горец щавелелистный



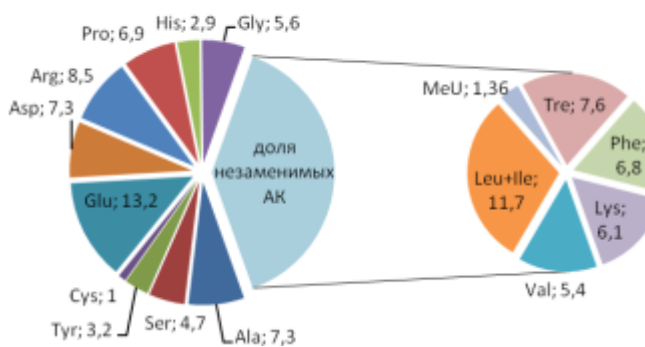
Горец войлочный



Горец почечуйный



Горец земноводный терр



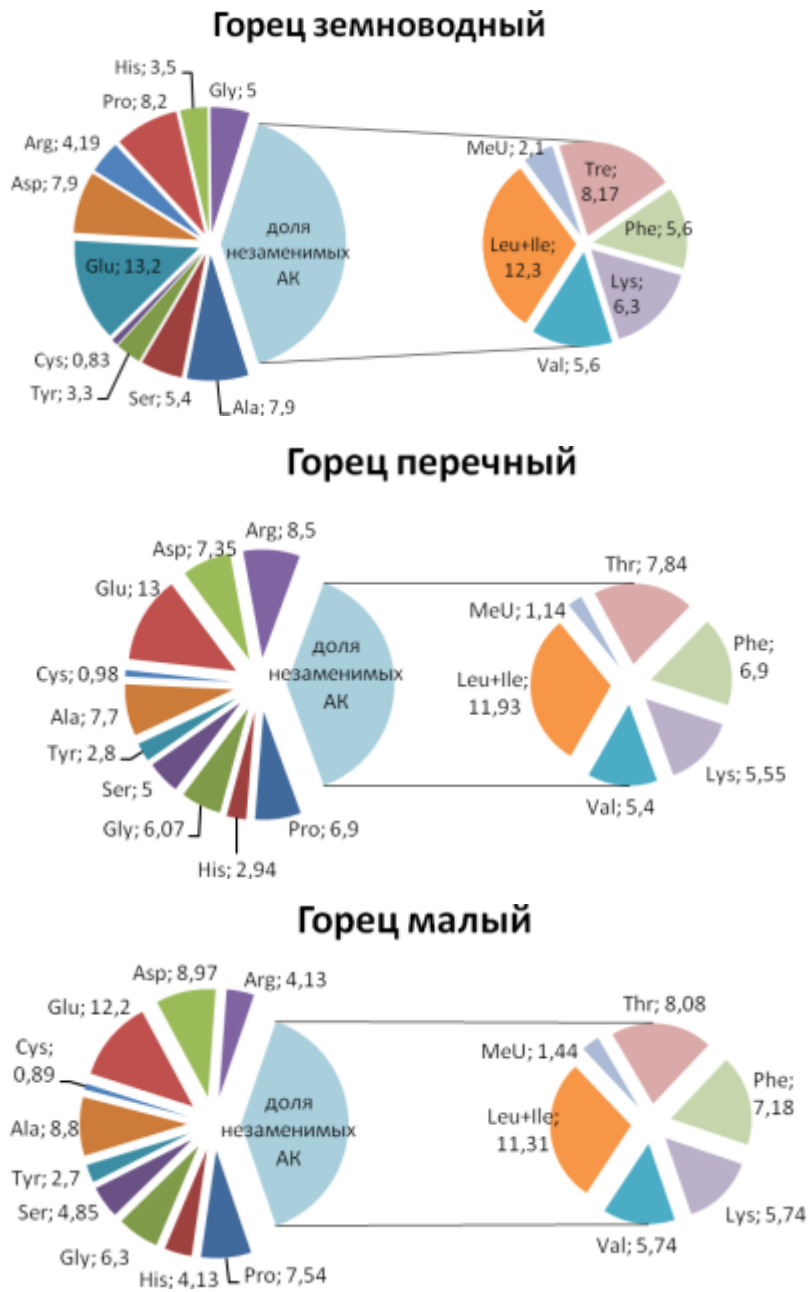
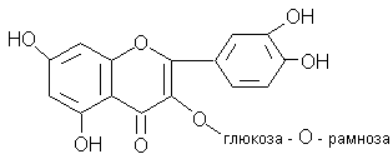
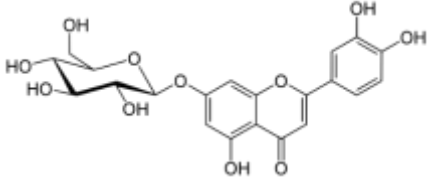
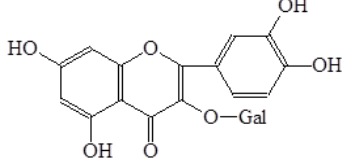
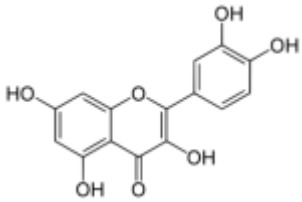
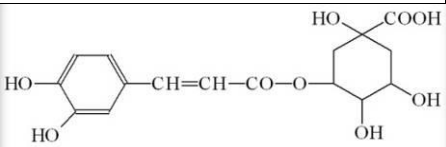
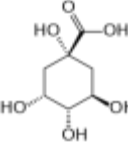
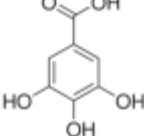
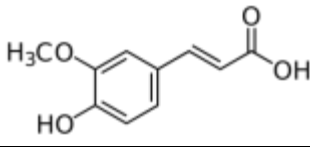
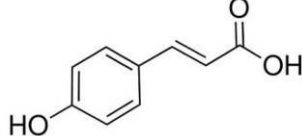


Рисунок 13 - Доли отдельных аминокислот в составе растений рода горец (метод капиллярного электрофореза)

Таблица 1. Определение состава фенольных соединений водного извлечения методом ВЭЖХ на примере травы горца почечуйного

Соединение	m/z	Возможные вариации при взаимодействии с ацетонитрилом или образовании осколочных ионов	Формула
Рутин	610,3	650, 690, 740 780, 302, 342, 382, 412, 452	 глюкоза - О - рамноза
Цинарозид	448,1	484, 516, 556, 596, 304, 344, 384, 416, 456	
Гиперозид	464,0	284, 314, 354, 394, 434, 474	
Кверцетин	302, 0	342, 382, 412, 452	
Хлорогеновая кислота	354,1	394, 434, 474, 514, 554, 594	
Хинная кислота	192,124	232, 272, 312, 352, 392	
Галловая кислота	170,0	210, 250, 290, 330	
Феруловая кислота	194,0	234, 274	
п-кумаровая кислота	164,0	204, 244	

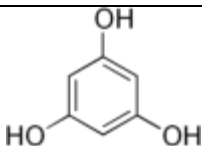
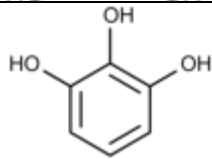
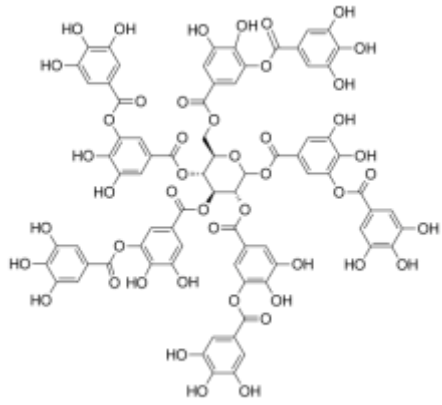
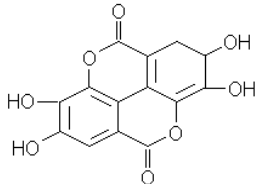
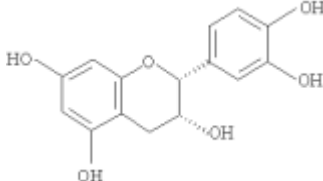
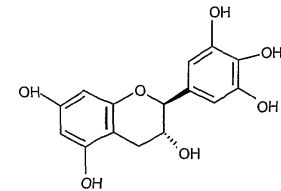
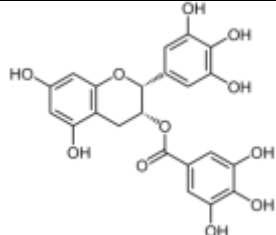
Флороглюцин	126,11	166, 206, 246	
Пирогаллол	126,11	166, 206, 246	
Танин	1701,20		
Эллаговая кислота	302,193	342, 382, 422, 462	
Эпикатехин	290,271	330, 370, 410, 450, 490	
Эпигаллокатехин	306,27	346, 386, 426, 466, 506, 546	
Галлат эпигаллокатехина	456,372	286, 326, 366, 406, 446, 496, 536, 576, 616	

Таблица 1 - Климатические условия мест произрастания объектов исследования (июль 2017 г)
(согласно данным сайта [146])

Место произрастания	Температура днем, °С	Температура ночью, °С	Влажность, %	Количество солнечных дней	Высота над уровнем моря, м
г. Тамбов, Тамбовская область	24,2	18,2	69	19	128
п.г.т. Панино, Воронежская область	25,7	19,0	66	15	175
г. Усмань, Липецкая область	24,2	18,0	70	14	152
г. Острогожск, Воронежская область	26,8	17,0	67	14	116
г. Кисловодск, Ставропольский край	25,8	18,4	77	8	800
пос. Головинка, Краснодарский край	27,4	22,4	70	26	10
г. Геленджик, Краснодарский край	24,2	22,1	67	28	27
г. Севастополь, Крымская область	28,3	25,5	71	29	220

Таблица 2 - Значения Rf зон флавоноидов травы горца почечуйного, заготовленной на разных территориях

НАИМЕНОВАНИЕ МЕСТА СБОРА																	
Острогожск		Тамбов		Панино		Головинка		Геленджик		Усмань		Кисловодск		Крым		Воронеж	
Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна	Rf	Цвет пятна
0,96	Кор.	0,99	Кор.	0,99	Гол.	0,99	Желт.	0,96	Гол	0,95	Гол	0,99	Желт.	0,95	Гол	0,98	Кор.
0,94	Гол.	0,97	Гол.	0,96	Гол.	0,97	Кор.	0,94	Желт.	0,87	Желт.	0,96	Кор.	0,83	Гол	0,95	Гол.
0,91	Кор.	0,86	Желт.	0,92	Кор.	0,95	Гол	0,85	Желт.	0,83	Желт.	0,92	Гол	0,73	Желт.	0,83	Желт.
0,85	Желт.	0,79	Желт.	0,87	Желт.	0,83	Желт.	0,71	Желт.	0,76	Желт.	0,83	Желт.	0,66	Желт.	0,73	Желт.
0,72	Желт.	0,72	Желт.	0,70	Желт.	0,73	Желт	0,61	Гол.	0,72	Желт.	0,73	Желт	0,60	Гол.	0,53	Гол.
0,62	Желт.	0,61	Желт.	0,64	Гол	0,67	Желт.	0,51	Желт.	0,64	Гол.	0,66	Желт.	0,55	Желт.	0,44	Гол.
0,52	Желт.	0,42	Гол.	0,56	Желт.	0,58	Желт.	0,32	Желт.	0,58	Желт.	0,60	Желт.	0,49	Кор.	0,31	Желт.
0,22	Гол.	0,22	Гол.	0,38	Желт.	0,23	Гол	0,23	Желт.	0,52	Кор.	0,56	Гол	0,31	Гол.		
0,17	Гол.	0,19	Гол.	0,28	Желт.			0,19	Кор.	0,43	Желт.	0,50	Желт.	0,15	Желт.		
				0,20	Кор.			0,14	Гол	0,38	Гол.	0,40	Гол				
				0,18	Гол					0,29	Желт.	0,36	Гол				
										0,22	Кор.	0,28	Желт.				
												0,23	Кор.				
												0,19	Гол				

ВЭЖХ – анализ флавоноидов в траве видов рода горец *Persicaria* Mill.

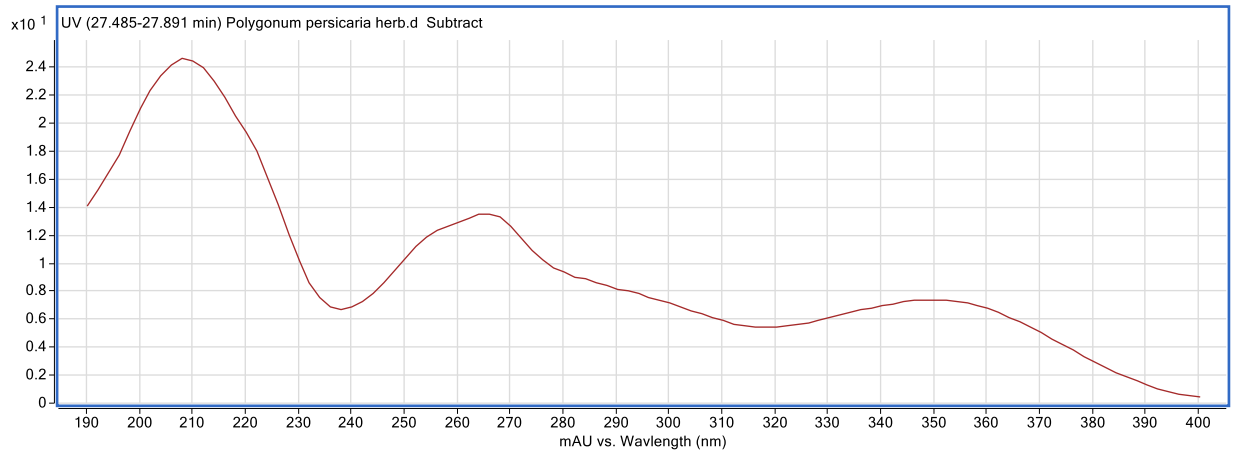


Рисунок 1 - Спектр поглощения флавонового гликозида с m/z 601 (24)

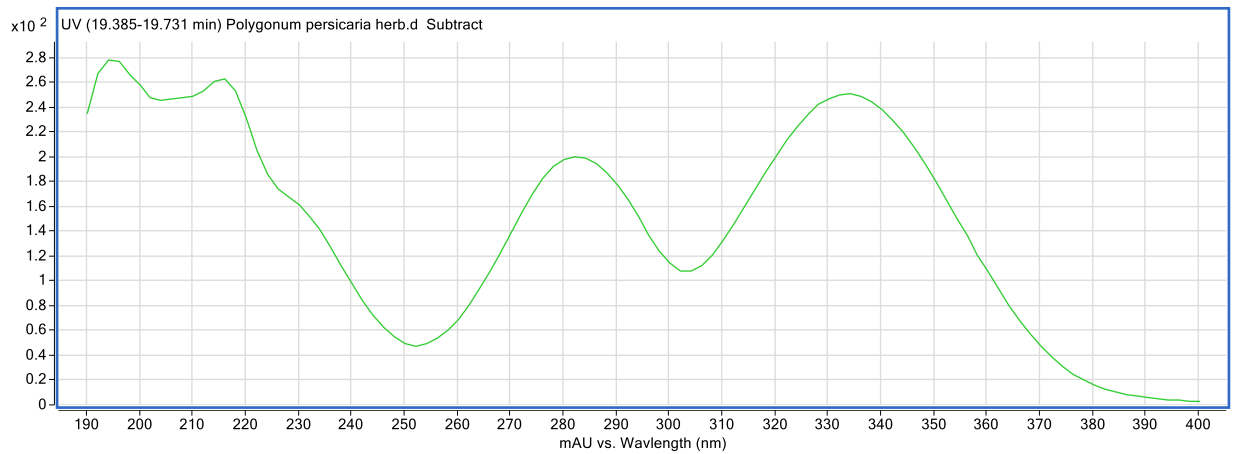


Рисунок 2 - Спектр поглощения флавонового гликозида с m/z 625 (6)

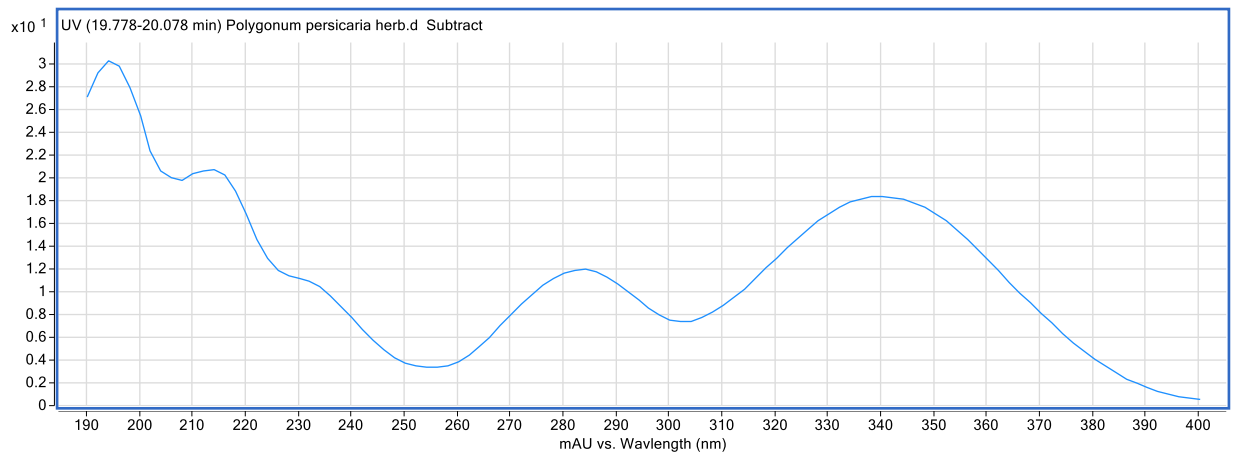


Рисунок 3 - Спектр поглощения флавонового гликозида с m/z 611 (7)

Таблица 3 - Результаты идентификации флавоноидов в траве горца почечуйного методом ВЭЖХ

№	Флавоноид	K*	ESI-MS ⁺ , m/z	Детектируемый ион	λ _{max} , нм	Содержание, мг/г
1.	Флавоновый С-гликозид	3,66	641.20	[M+H] ⁺	194, 216, 230 плечо, 284, 338	0,11
2.	Мирицетин-3-вицианозид	3,70	613.20, 481.14, 319.09	[M+H] ⁺ [M – арабиноза + H] ⁺ [M – вицианоза + H] ⁺	254, 266, 352	0,07
3.	Апигенин + пентоза + гексоза (С-гликозид)	3,83	565.21	[M+H] ⁺	202, 274, 340	0,13
4.	Лютеолин + глюкоза + глюкуроновая кислота (С-гликозид)	4,12	625.20	[M+H] ⁺	204, 256, 266, 350	0,16
5.	Кверцетин-3-вицианозид	4,21	597.20, 465.15, 435.14, 303.09	[M+H] ⁺ [M – арабиноза + H] ⁺ [M – глюкоза + H] ⁺ [M – вицианоза + H] ⁺	256, 266, 355	1,54
6.	Флавоновый гликозид	4,27	625.20	[M+H] ⁺	194, 216, 230 плечо, 282, 332	2,71
7.	Флавоновый гликозид		611.21 287.09	[M+H] ⁺ [M – 2 глюкозы + H] ⁺	194, 214, 230 плечо, 284, 338	
8.	Флавоновый гликозид	4,37	655.20	[M+H] ⁺	196, 210sh, 256, 268, 344	0,27
9.	Рутин	4,50	611.21, 465.15, 303.09	[M+H] ⁺ [M – рамноза + H] ⁺ [M – рутиноза + H] ⁺	256, 266, 356	0,40
10.	Кемпферол-3-вицианозид	4,70	581.20, 287.09	[M+H] ⁺ [M – самбубиоза + H] ⁺	196, 207 плечо, 266, 346	0,97
11.	Кемпферол-3-рамнозид-7-глюкозид	4,76	595.22, 287.09	[M+H] ⁺ [M – глюкоза - рамноза + H] ⁺	266, 346	0,30
12.	Гиперозид	4,81	465.15, 303.09	[M+H] ⁺ [M – галактоза + H] ⁺	254, 266, 356	0,35
13.	Изокверцитрин	4,86	465.15, 303.09	[M+H] ⁺ [M – глюкоза + H] ⁺	256, 266, 356	0,36

14.	Флавонолгликозид	4,90	617.18, 463.14, 315.11, 303.09	[M+H] ⁺	208, 220 плечо, 258, 264, 354	0,71
15.	Кемпферол-3-рутинозид	4,99	595.22 449.15, 287.09	[M+H] ⁺ [M – рамноза + H] ⁺ [M – рутиноза + H] ⁺	266, 346	0,31
16.	Гликозид кверцетина	5,07	609.20, 303.09	[M+H] ⁺ [M – гликозид + H] ⁺	206, 210, 258, 266, 356	0,12
17.	Кемпферол-3-галактозид	5,21	449.15, 287.09	[M+H] ⁺ [M – галактоза + H] ⁺	266, 350	0,09
18.	Кверцетин+пентоза+рамноза	5,28	581.20, 449.15, 303.09	[M+H] ⁺ [M – пентоза + H] ⁺ [M – пентоза - рамноза + H] ⁺	204, 256, 266, 348	0,98
19.	Кемпферол-3-глюкозид	5,37	449.15, 287.09	[M+H] ⁺ [M – глюкоза + H] ⁺	266, 348	0,13
20.	Кверцитрин	5,46	449.15, 303.09	[M+H] ⁺ [M – рамноза + H] ⁺	200, 256, 266, 350	0,50
21.	Апигенин-7-глюкозид	5,54	433.16, 271.10	[M+H] ⁺ [M – глюкоза + H] ⁺	268, 336	0,10
22.	Гликозид кемпферола	5,79	507.36, 287.09	[M+H] ⁺ [M – гликозид + H] ⁺	196, 208 плечо, 264, 344	1,06
23.	Кемпферол-3-рамнозид	6,09	433.15, 287.09	[M+H] ⁺ [M – рамноза + H] ⁺	266, 348	0,15
24.	Флавоновый гликозид	6,47	601.17, 299.11	[M+H] ⁺ [M – гликозид + H] ⁺	208, 255, 266, 290 плечо, 352	0,20
25.	Флавоновый гликозид	6,66	601.17, 299.11	[M+H] ⁺ [M – гликозид + H] ⁺	208, 255, 266, 290 плечо, 352	0,14
26.	Лютеолин	7,38	287.09	[M+H] ⁺	208, 254, 266, 348	0,17
27.	Флавоон	7,82	317.10	[M+H] ⁺	204, 248, 268 плечо, 358	0,03
Сумма флавоноидов						12,05

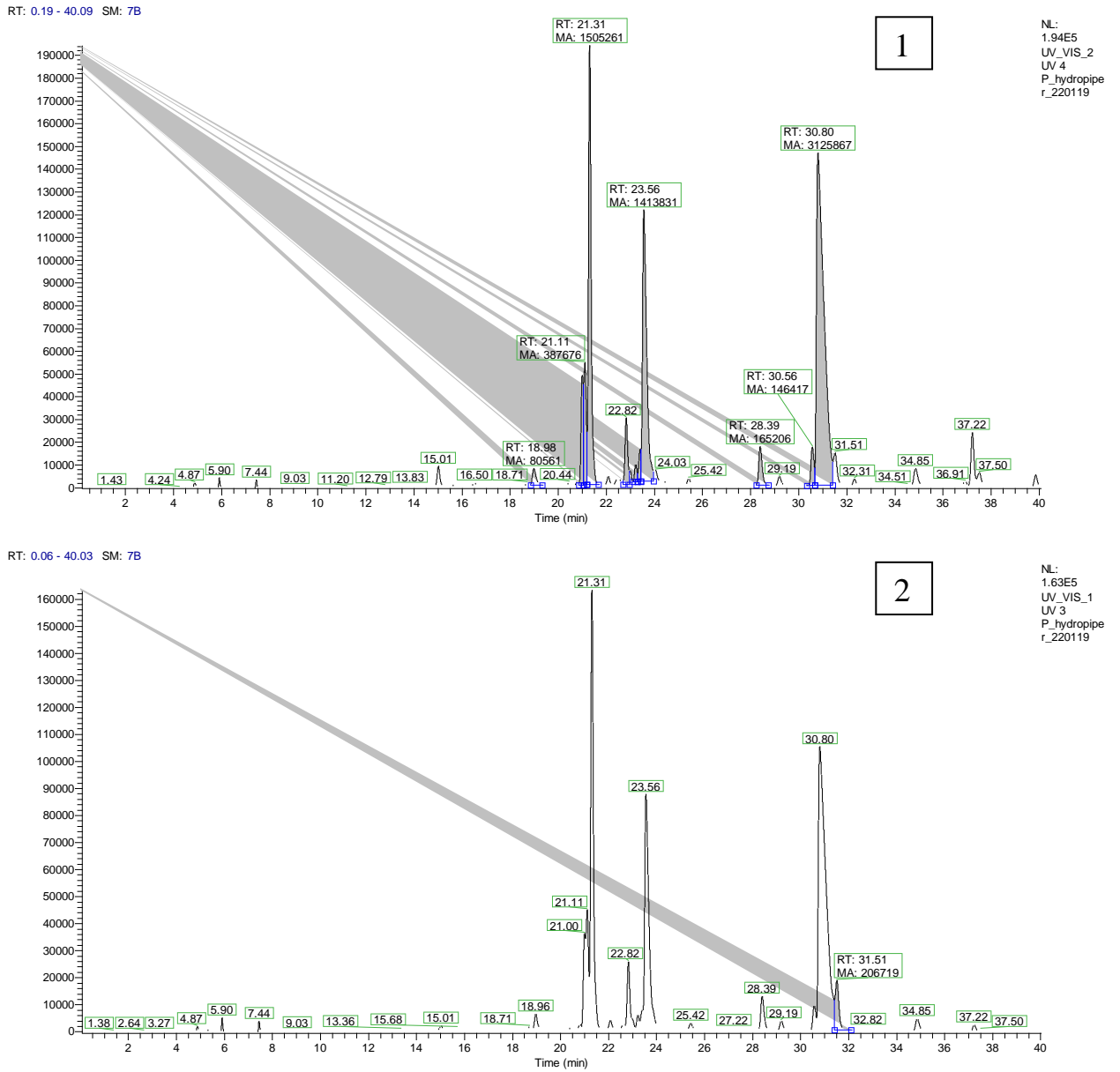


Рисунок 4 - Вид хроматограммы флавоноидов горца перечного: 1 - $\lambda=350$ нм, 2- $\lambda=370$ нм

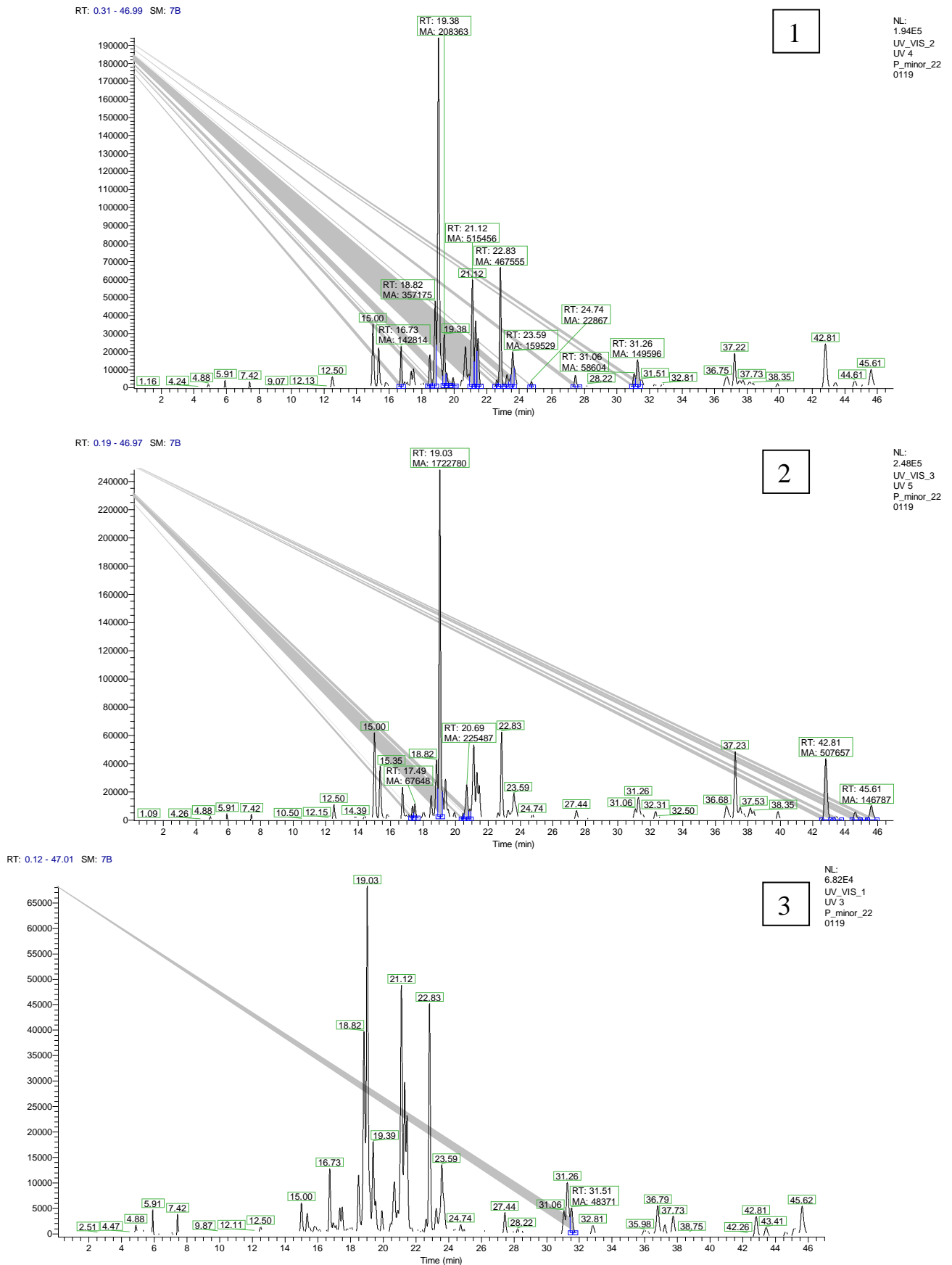
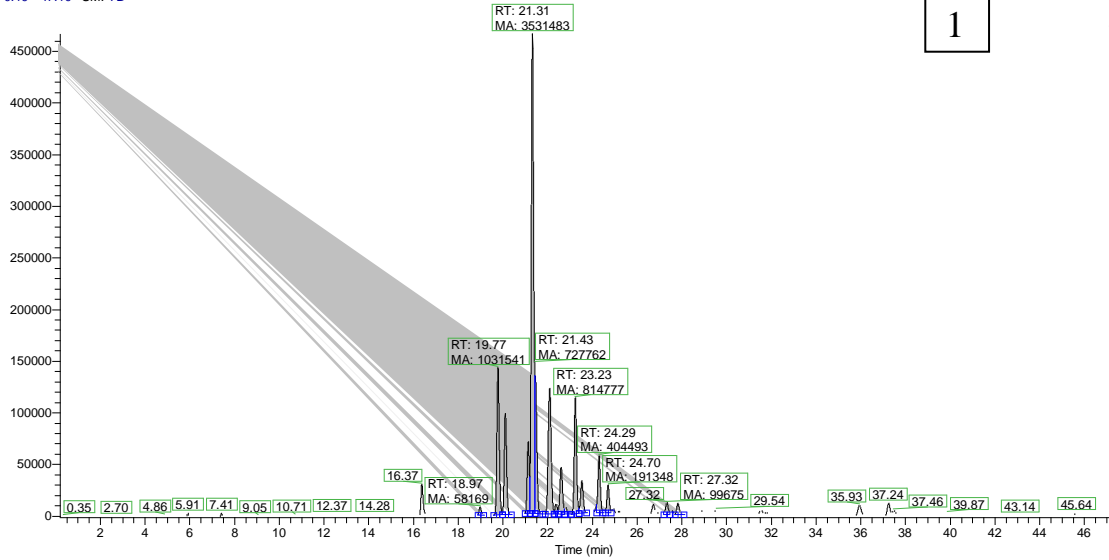


Рисунок 5 - Вид хроматограмм флавоноидов горца малого 1 - $\lambda=350$ нм, 2 - $\lambda=338$ нм, 3 - $\lambda=370$ нм

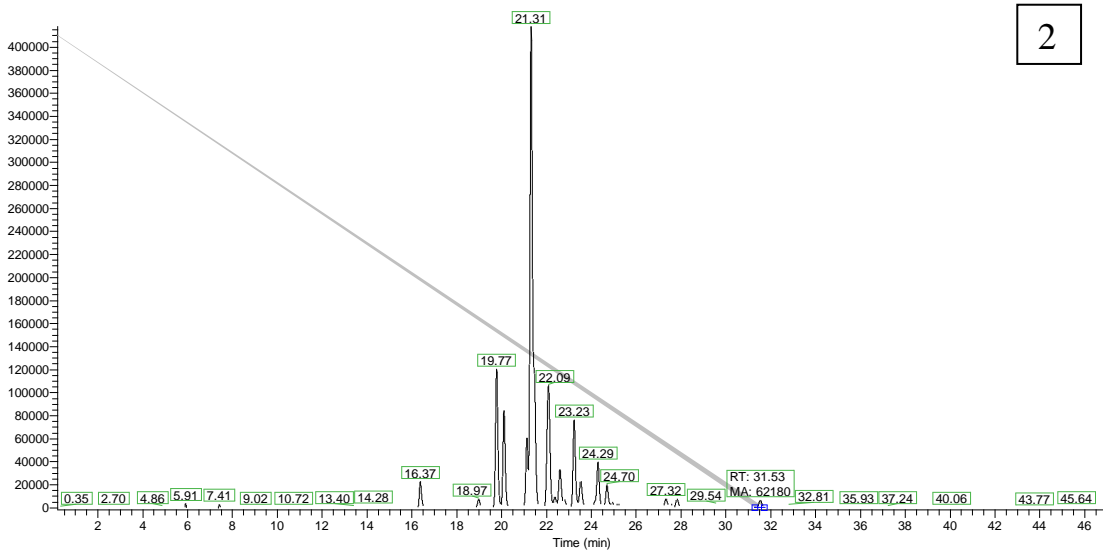
RT: 0.19 - 47.10 SM: 7B



1

NL:
4.67E5
UV_VIS_2
UV 4
P_tomentos
um_220119

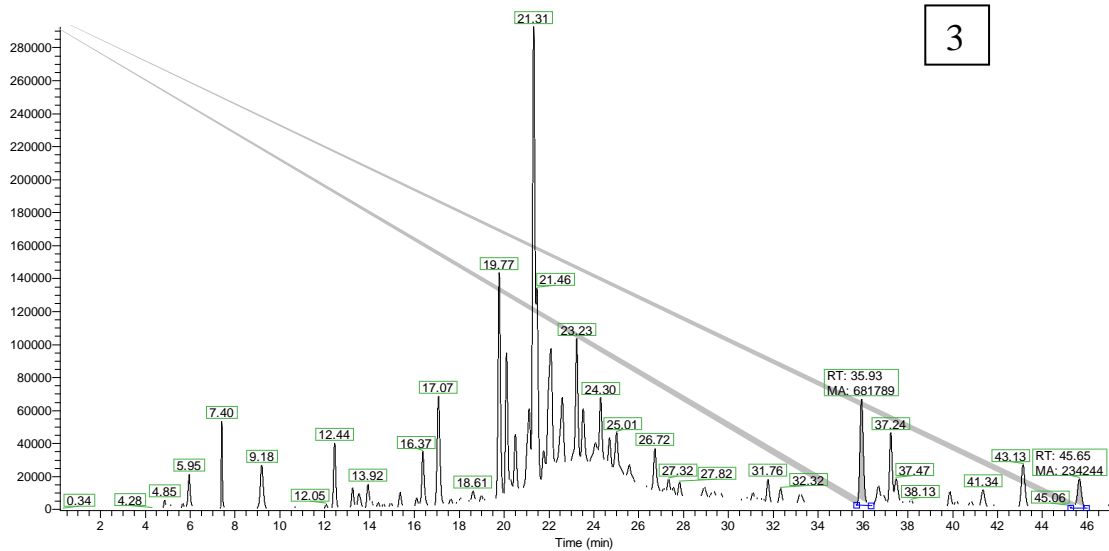
RT: 0.19 - 46.97 SM: 7B



2

NL:
4.18E5
UV_VIS_1
UV 3
P_tomentos
um_220119

RT: 0.19 - 46.97 SM: 7B

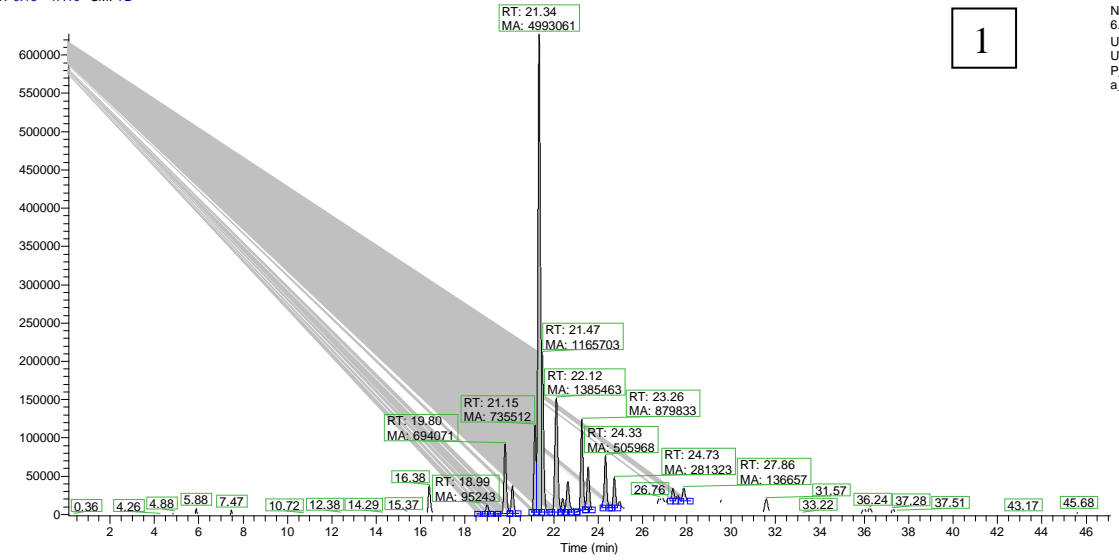


3

NL:
2.93E5
UV_VIS_4
UV 6
P_tomentos
um_220119

Рисунок 6 - Вид хроматограмм флавоноидов горца войлочного 1- $\lambda=350$ нм, 2 - $\lambda=370$ нм, 3- $\lambda=290$ нм

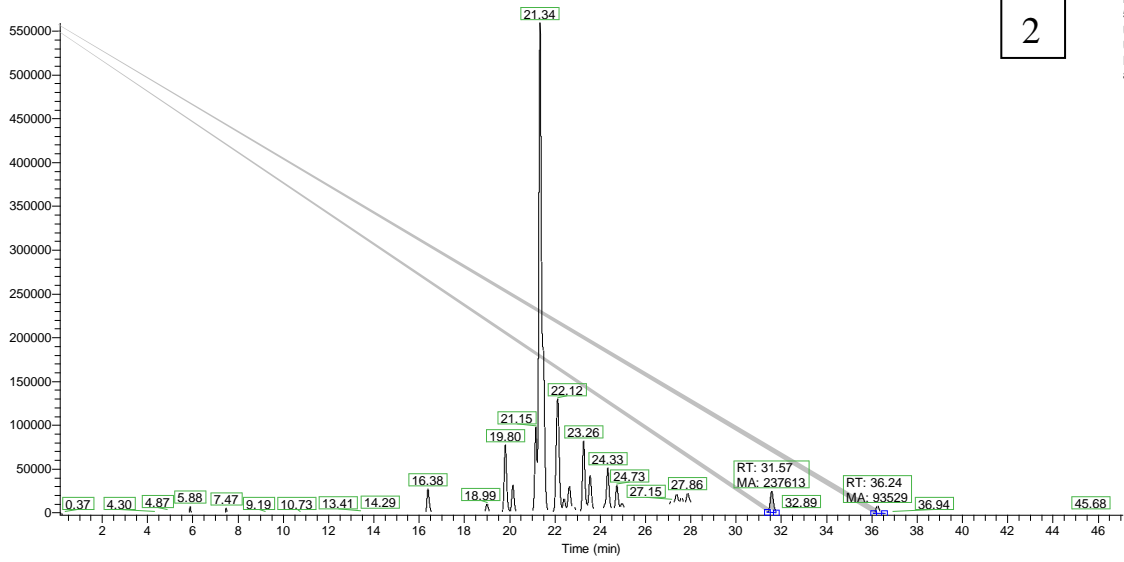
RT: 0.13 - 47.10 SM: 7B



1

NL:
6.28E5
UV_VIS_2
UV 4
P_lapathifoli
a_220119

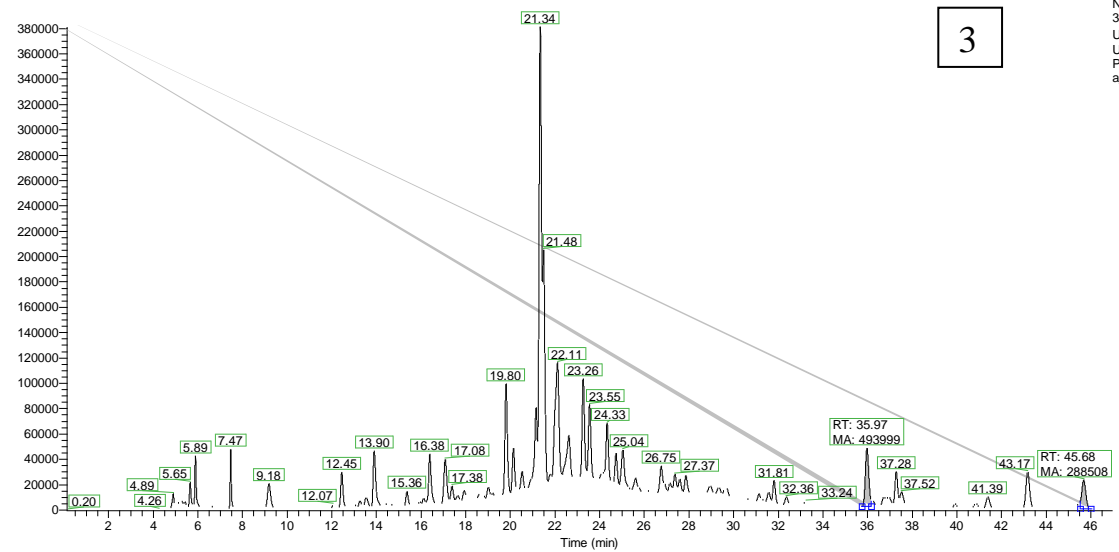
RT: 0.13 - 47.10 SM: 7B



2

NL:
5.59E5
UV_VIS_1
UV 3
P_lapathifoli
a_220119

RT: 0.13 - 46.97 SM: 7B



3

NL:
3.81E5
UV_VIS_4
UV 6
P_lapathifoli
a_220119

Рисунок 7 - Вид хроматограмм флавоноидов горца щавелелистного 1 - $\lambda=350$ нм, 2 - $\lambda=370$ нм, 3 - $\lambda=290$ нм

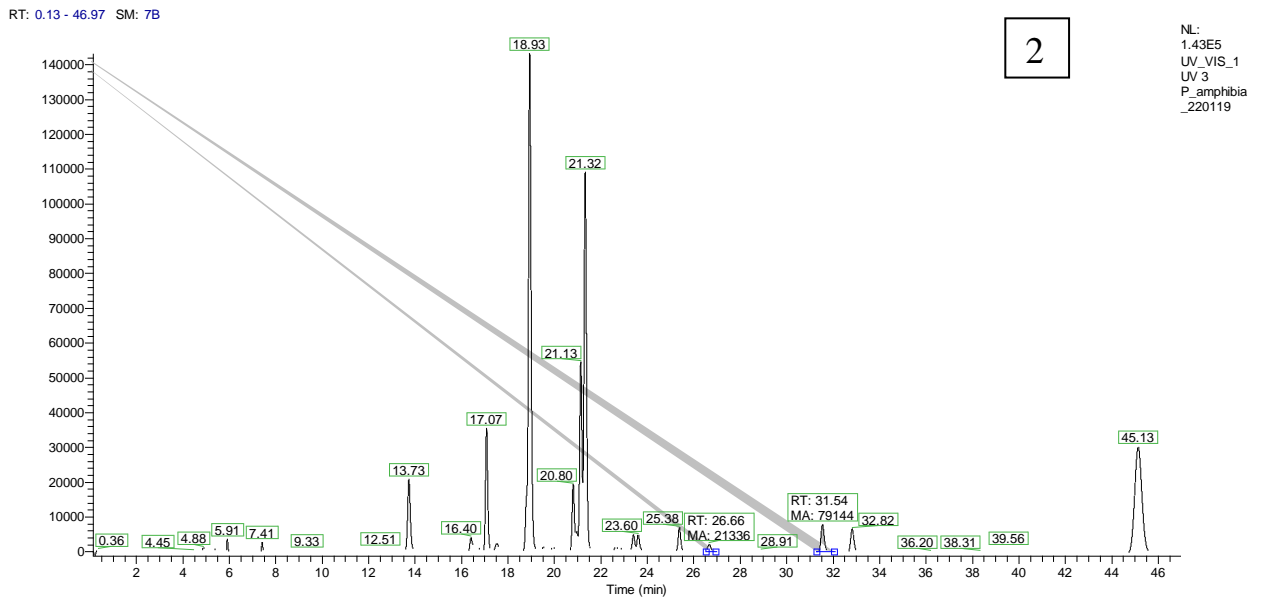
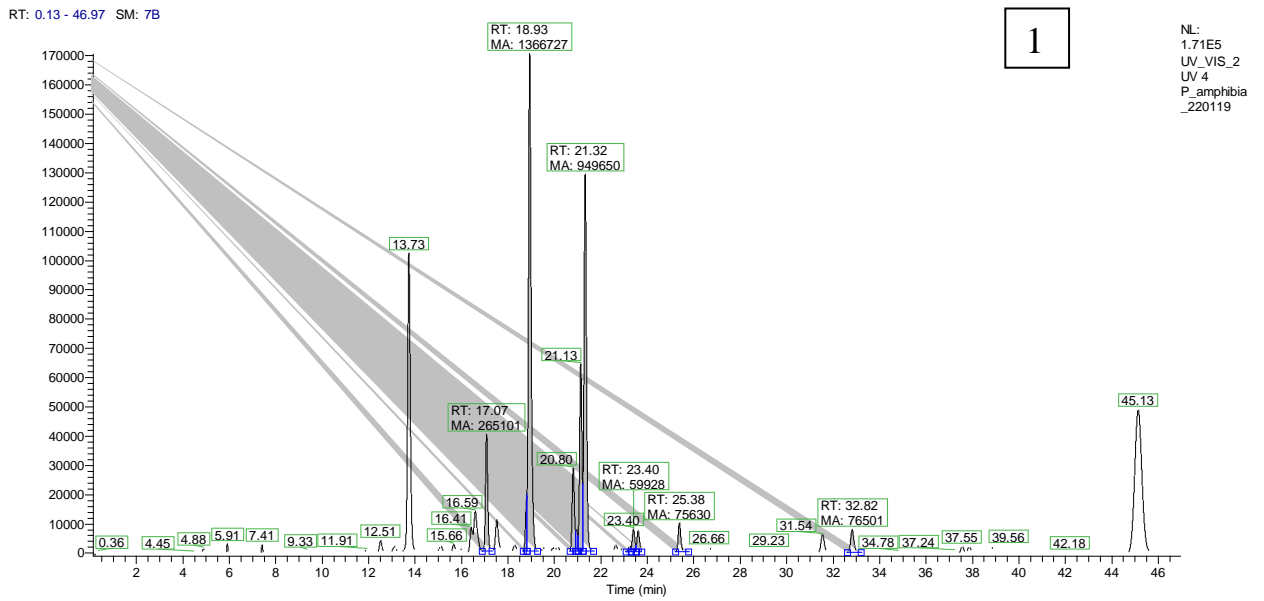
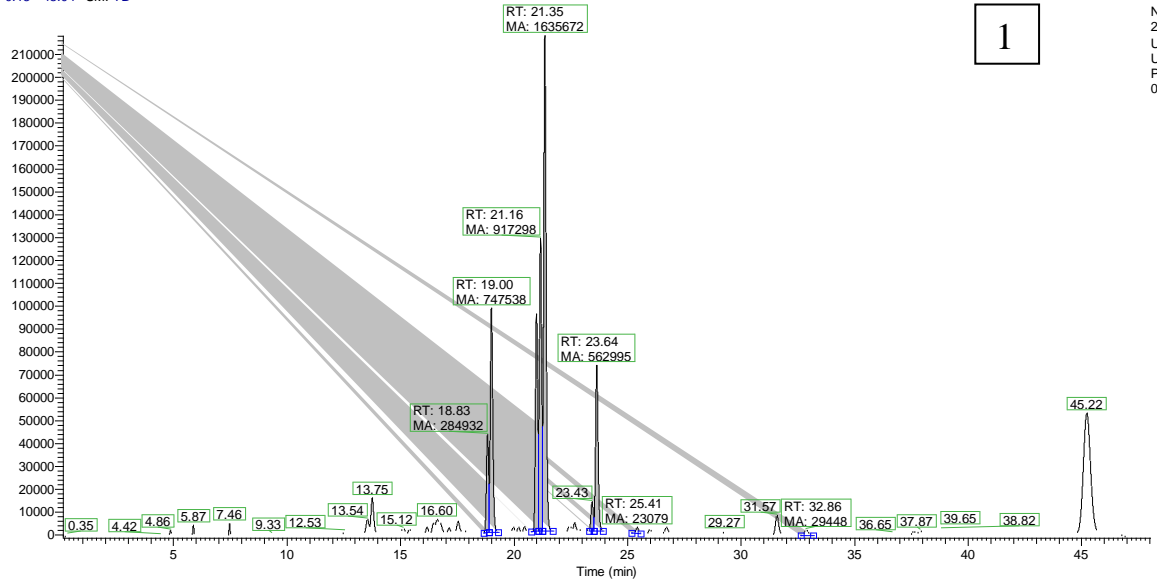


Рисунок 8 - Вид хроматограмм флавоноидов горца земноводного 1 - $\lambda=350$ нм, 2 - $\lambda=370$ нм

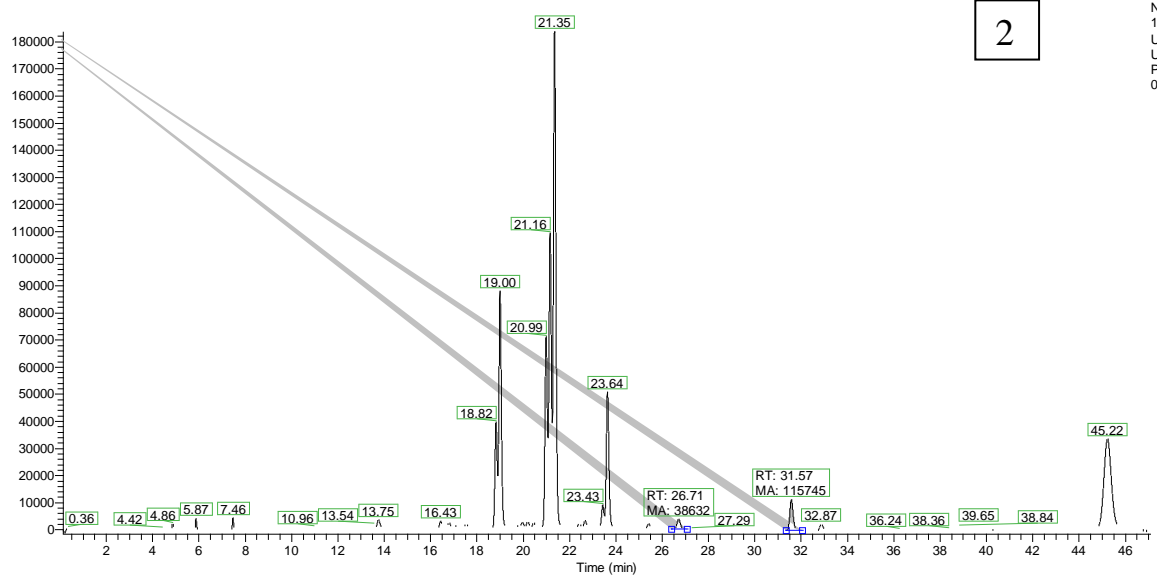
RT: 0.13 - 48.04 SM: 7B



1

NL:
2.18E5
UV_VIS_2
UV 4
P_vodnyi_22
0119

RT: 0.13 - 47.10 SM: 7B



2

NL:
1.84E5
UV_VIS_1
UV 3
P_vodnyi_22
0119

Рисунок 9 - Вид хроматограмм флавоноидов горца водного 1 - $\lambda=350$ нм (вверху), 2 - $\lambda=370$ нм

Изучение минерального состава видов рода горец *Persicaria* Mill.Таблица 1 - Элементный состав и Кбп минеральных веществ растениями рода *Persicaria* Mill. (мкг/г)

№ пп	Элемент	Горец войлочный	Почва	Кбп/п	Горец малый	Почва	Кбп/п	Горец почечуйный	Горец перечный	Почва	Кбп/п Горец почечуйный	Кбп/п Горец перечный
1	Литий (Li)	0,099	15	0,006	0,115	5,2	0,02	0,21	0,13	29	0,007	0,005
2	Бериллий (Be)	0,0263	0,72	0,036	0,031	0,22	0,14	<0,001	<0,001	1,51	0,0007	0,0007
3	Натрий (Na)	1348	2200	0,006	1670	980	0,017	1762	31,42	5520	0,0032	0,006
4	Магний (Mg)	9791	4100	2390	10987	660	16,65	5697	9161	7555	0,75	1,21
5	Алюминий (Al)	51,43	28500	0,002	62,63	7000	0,009	27,26	49,40	49200	0,0005	0,001
6	Фосфор (P)	5302,8	810	6,55	5815	330	17,6	6318	5008	549	11,51	9,12
7	Калий (K)	14046	9200	1,53	29637	2800	10,6	24357	17030	15400	1,58	1,106
8	Кальций (Ca)	20847	7800	2670	13958	4400	3170	8249	15445	14200	0,58	1,09
9	Титан (Ti)	3,3	2200	0,0015	3,77	980	0,004	1,71	5,66	4150	0,0004	0,001
10	Хром (Cr)	1,79	83	0,02	2,20	170	0,013	4,38	3,5	108	0,04	0,033
11	Марганец (Mn)	374,86	390	0,961	382,04	480	0,796	172,0	657,8	420	0,41	1,56
12	Железо (Fe)	236,57	24500	0,009	242,17	29900	0,008	183,3	253,4	27290	0,007	0,009
13	Кобальт (Co)	0,2	9,8	0,021	0,261	5,6	0,05	0,35	0,94	14	0,025	0,067
14	Никель (Ni)	0,82	13	0,063	0,9	2,7	0,33	0,51	0,38	19,5	0,026	0,019
15	Медь (Cu)	8,35	30	0,278	9,9	42	0,23	7,81	7,2	31,7	0,25	0,228
16	Цинк (Zn)	110,7	87	1,273	117	25	4,7	35,3	36,9	101	0,35	0,36
17	Галлий (Ga)	0,08	7,5	0,01	0,09	2,8	0,03	0,08	0,11	13,7	0,006	0,008
18	Германий (Ge)	0,0023	1,1	0,0021	0,0025	0,84	0,003	0,0021	0,008	1,73	0,001	0,005

Продолжение таблицы 1

18	Германий (Ge)	0,0023	1,1	0,0021	0,0025	0,84	0,003	0,0021	0,008	1,73	0,001	0,005
19	Мышьяк (As)	0,067	5,6	0,012	0,073	7,6	0,009	0,16260	0,22	6,6	0,025	0,033
20	Селен (Se)	0,106	5	0,021	0,115	5	0,023	3,52304	2,94	10	0,35	0,29
21	Рубидий (Rb)	21,83	44	0,49	24,32	13	1,8	38,76517	50,5	79	0,49	0,64
22	Стронций (Sr)	131,43	75	1,75	160,75	21	7,6	50,91316	64,78	107	0,476	0,60
23	Итрий (Y)	0,043	10	0,004	0,045	2,9	0,015 5	0,02121	0,05	18,9	0,001	0,003
24	Цирконий (Zr)	0,09	94	0,0009	0,098	40	0,002	0,04713	0,102	139	0,0003	0,0007
25	Ниобий (Nb)	0,0137	6,9	0,0019 9	0,016	2,6	0,006	0,00271	0,009	12,4	0,0002	0,0007
26	Молибден (Mo)	0,903	1,4	0,646	0,94	2,3	0,408	0,31224	0,71	0,98	0,32	0,72
27	Серебро (Ag)	0,007	2,5	0,003	0,008	1,6	0,005	0,01650	0,004	0,239	0,069	0,016
28	Кадмий (Cd)	0,08	0,14	0,60	0,095	0,16	0,59	0,03700	0,0153	0,167	0,221	0,09
29	Олово (Sn)	0,0183	2,4	0,007	0,021	4	0,005	0,05	0,06	2,16	0,022	0,026
30	Сурьма (Sb)	0,0105	0,74	0,014	0,012	0,62	0,02	0,009	0,01	0,83	0,011	0,01
31	Цезий (Cs)	0,015	2,2	0,007	0,02	0,44	0,045	0,035	0,041	4,1	0,008	0,01
32	Барий (Ba)	270,06	260	1,039	339,25	110	3,08	32,64	14,28	386,4	0,08	0,037
33	Лантан (La)	0,07	13	0,005	0,08	4,1	0,019	0,034	0,06	27,7	0,001	0,002
34	Церий (Ce)	0,14	28	0,005	0,15	9,7	0,015	0,07	0,144	59	0,001	0,002
35	Празеодим (Pr)	0,014	3,2	0,0043	0,017	0,9	0,018	0,0084	0,017	6,9	0,001	0,002
36	Неодим (Nd)	0,05	13	0,004	0,06	3,7	0,015	0,032	0,061	25,4	0,0012	0,002
37	Самарий (Sm)	0,0134	2,8	0,005	0,015	0,64	0,023	0,003	0,013	5,1	0,0007	0,002
38	Европий (Eu)	0,0025	0,59	0,004	0,003	0,12	0,025	0,0015	0,003	1,04	0,0015	0,003
39	Гадолиний (Gd)	0,0114	2,5	0,005	0,012	0,64	0,019	0,0052	0,015	5,4	0,0009	0,003

Продолжение таблицы 1

40	Тербий (Tb)	0,0017	0,35	0,005	0,002	0,096	0,018	0,0015	0,002	0,76	0,002	0,003
41	Диспрозий (Dy)	0,0075	2	0,004	0,008	0,49	0,017	0,0044	0,009	3,7	0,0012	0,0026
42	Гольмий (Ho)	0,0014	0,38	0,004	0,001	0,11	0,012	0,0009	0,002	0,69	0,0013	0,0026
43	Эрбий (Er)	0,004	1,1	0,003	0,0041	0,3	0,013	0,0015	0,003	2,36	0,0006	0,001
44	Тулий (Tm)	0,0006	0,17	0,003	0,0005	0,05	0,01	0,0002	0,0006	0,29	0,0006	0,002
45	Иттербий (Yb)	0,0032	1,1	0,003	0,003	0,32	0,01	0,0015	0,004	1,91	0,00080	0,0022
46	Лютеций (Lu)	0,0006	0,16	0,004	0,0005	0,059	0,009	0,0004	0,0002	0,288	0,001	0,0007
47	Гафний (Hf)	0,0017	2	0,0008	0,0022	0,84	0,003	0,001	0,002	3,2	0,0003	0,0008
48	Тантал (Ta)	0,0007	0,5	0,0013	0,0008	0,2	0,004	0,0007	0,0007	0,94	0,0007	0,0007
49	Вольфрам (W)	0,0583	1,4	0,042	0,0616	0,79	0,078	0,007	0,0152	1,5	0,005	0,01
50	Золото (Au)	0,0086	0,05	0,17	0,01	0,05	0,208	0,0052	0,001	0,01	0,52	0,11
51	Ртуть (Hg)	0,0013	0,3	0,004	0,0015	0,3	0,005	0,0052	0,01	0,0126	0,41	0,8
52	Таллий (Tl)	0,0066	0,24	0,03	0,008	0,072	0,116	0,0065	0,004	0,4	0,02	0,01
53	Свинец (Pb)	0,2286	32	0,007	0,27	11	0,025	0,206	0,224	17,4	0,012	0,013
54	Висмут (Bi)	0,0039	0,13	0,03	0,0042	0,07	0,059	0,0045	0,005	0,208	0,02	0,02
55	Торий (Th)	0,0126	4	0,003	0,0136	1,2	0,011	0,009	0,02	8,8	0,001	0,002
56	Уран (U)	0,0025	0,94	0,003	0,003	0,41	0,006	0,0032	0,008	1,58	0,002	0,005

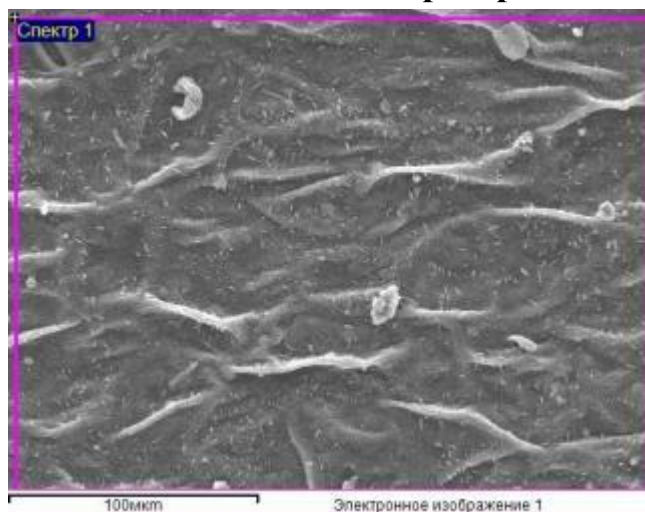
Метод анализа растений : масс-спектральный с индуктивно связанной плазмой.

Нормативная документация: МУК 4.1.1483-03

Метод анализа почвы : масс-спектральный с индуктивно связанной плазмой.

Нормативная документация: МВИ №002-ХМС-2009 (ФР.1.31.2010.06997).

**Протоколы элементного анализа листьев видов рода горец *Persicaria* Mill.
методом растровой электронной микроскопии**



Обработка спектра :

Вероятно пропущен пик : 2.150 keV

Параметры обработки : Все элементы
(Нормализован)

Количество итераций = 4

Эталон :

C CaCO₃ 1-июн-1999 12:00 AM

O SiO₂ 1-июн-1999 12:00 AM

Mg MgO 1-июн-1999 12:00 AM

K MAD-10 Feldspar 1-июн-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-июн-1999 12:00 AM

Элемент	Весовой %	Атомный %
C K	33.80	42.86
O K	54.61	51.99
Mg K	2.73	1.71
K K	7.74	3.01
Ca K	1.12	0.43
Итого	100.00	

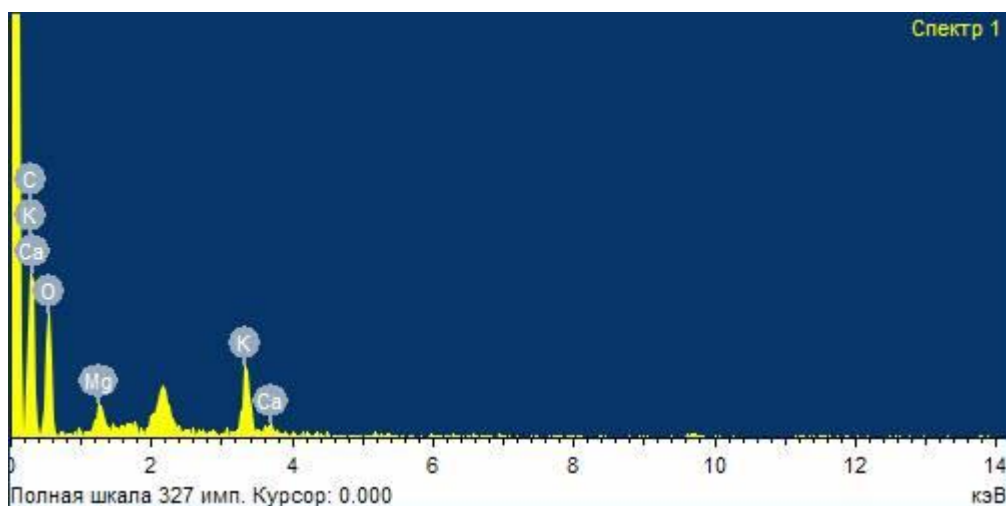
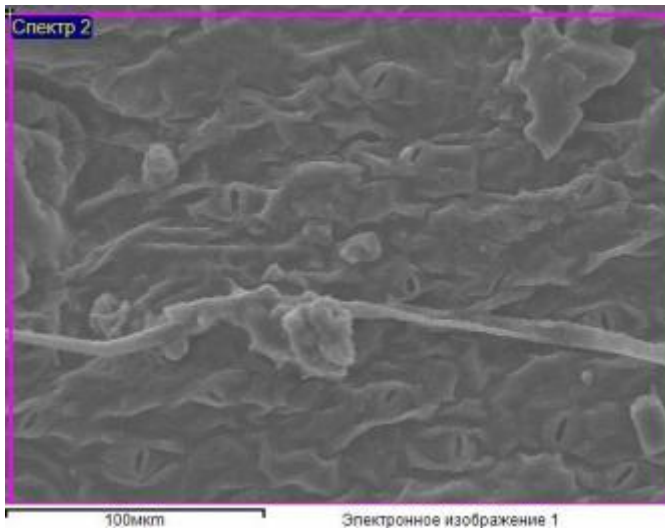


Рисунок 1 - Общий вид линий рентгеновского спектра, показывающих наличие элементов в точке 1 (лист горца почечуйного)



Обработка спектра :

Вероятно пропущен пик : 2.149 keV

Параметры обработки : Все элементы
(Нормализован)

Количество итераций = 3

Эталон :

C CaCO₃ 1-июн-1999 12:00 AM

O SiO₂ 1-июн-1999 12:00 AM

Mg MgO 1-июн-1999 12:00 AM

K MAD-10 Feldspar 1-июн-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-июн-1999 12:00 AM

Элемент	Весовой %	Атомный %
C K	46.37	55.01
O K	47.20	42.04
Mg K	2.78	1.63
K K	2.49	0.91
Ca K	1.16	0.41
Итого	100.00	

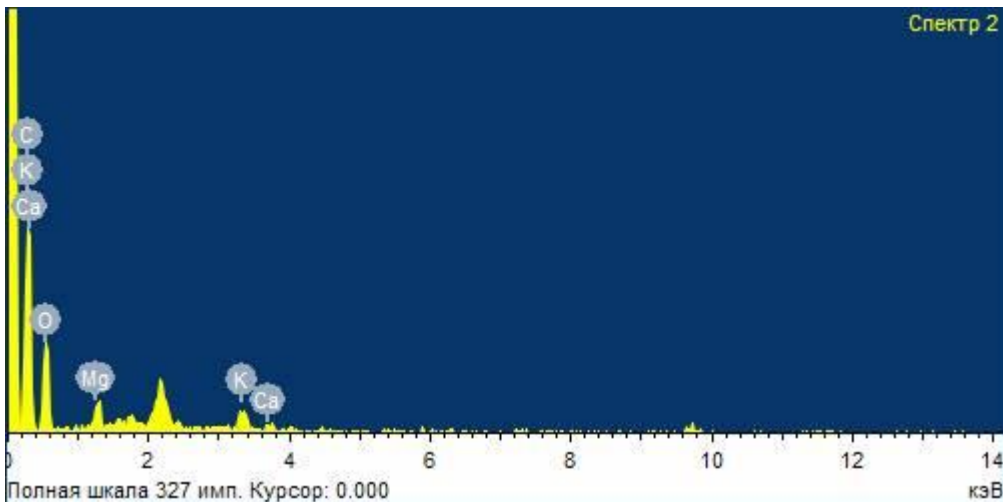
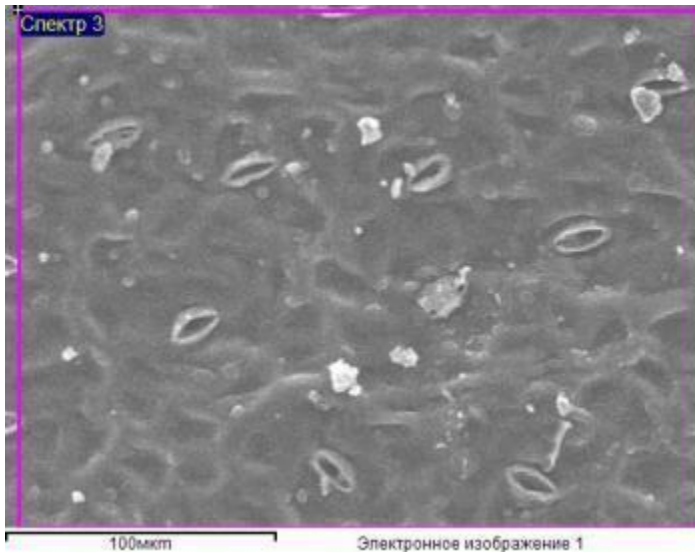


Рисунок 2 - Общий вид линий рентгеновского спектра, показывающих наличие элементов в точке 2 (лист горца войлочного)



Обработка спектра :

Вероятно пропущены пики : 2.141, 9.710 keV

Параметры обработки : Все элементы
(Нормализован)
Количество итераций = 3

Эталон :

C CaCO₃ 1-июн-1999 12:00 AM

O SiO₂ 1-июн-1999 12:00 AM

Mg MgO 1-июн-1999 12:00 AM

K MAD-10 Feldspar 1-июн-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-июн-1999 12:00 AM

Элемент	Весовой %	Атомный %
C K	46.17	54.60
O K	48.79	43.31
Mg K	1.23	0.72
K K	2.29	0.83
Ca K	1.53	0.54
Итого	100.00	

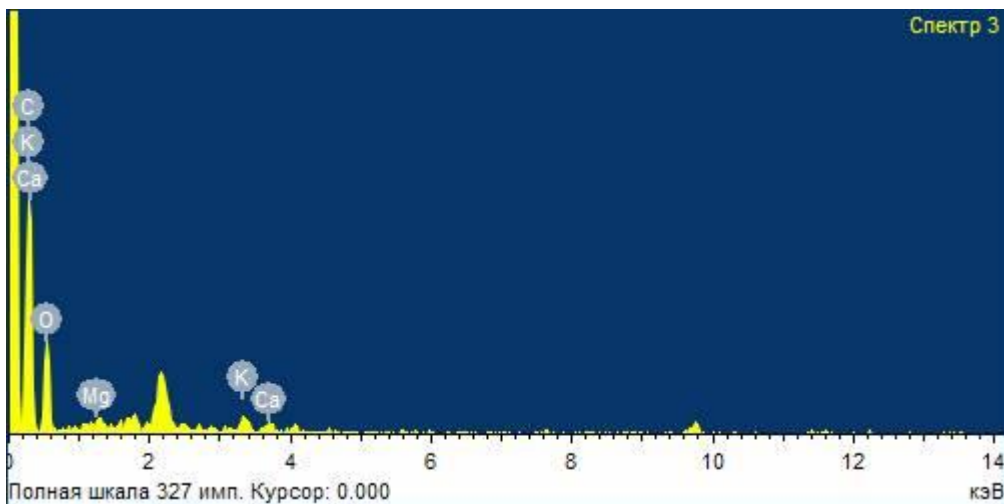
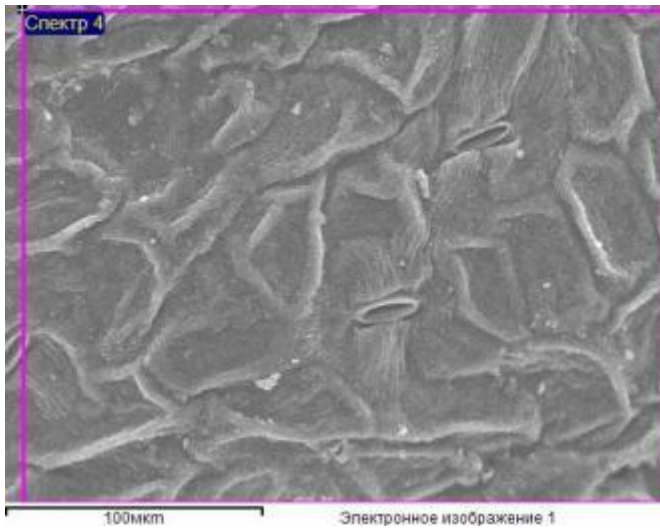


Рисунок 3 - Общий вид линий рентгеновского спектра, показывающих наличие элементов в точке 3 (лист горца земноводного (ВФ))



Обработка спектра :

Вероятно пропущен пик : 2.139 keV

Параметры обработки : Все элементы
(Нормализован)

Количество итераций = 3

Эталон :

C CaCO₃ 1-июн-1999 12:00 AM

O SiO₂ 1-июн-1999 12:00 AM

Mg MgO 1-июн-1999 12:00 AM

K MAD-10 Feldspar 1-июн-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-июн-1999 12:00 AM

Элемент	Весовой %	Атомный %
C K	48.43	57.23
O K	45.10	40.00
Mg K	1.93	1.13
K K	3.34	1.21
Ca K	1.20	0.42
Итоги	100.00	

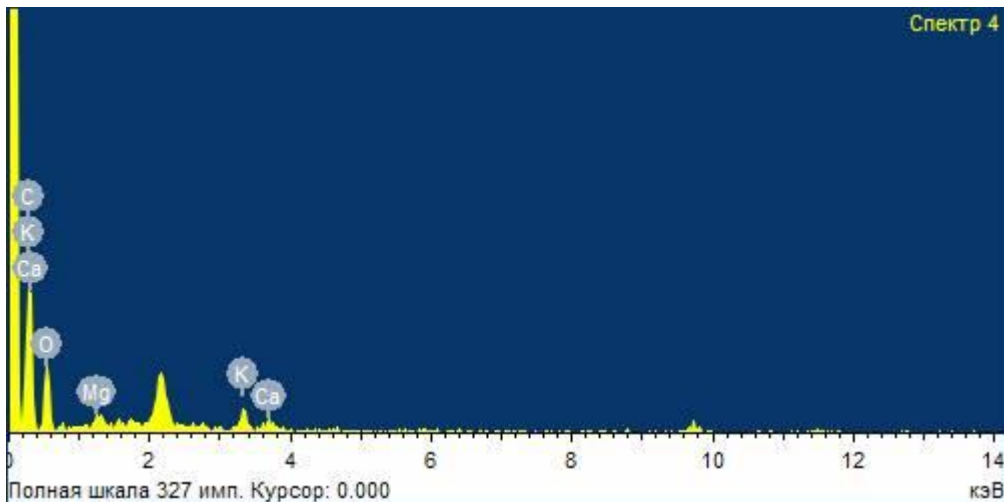
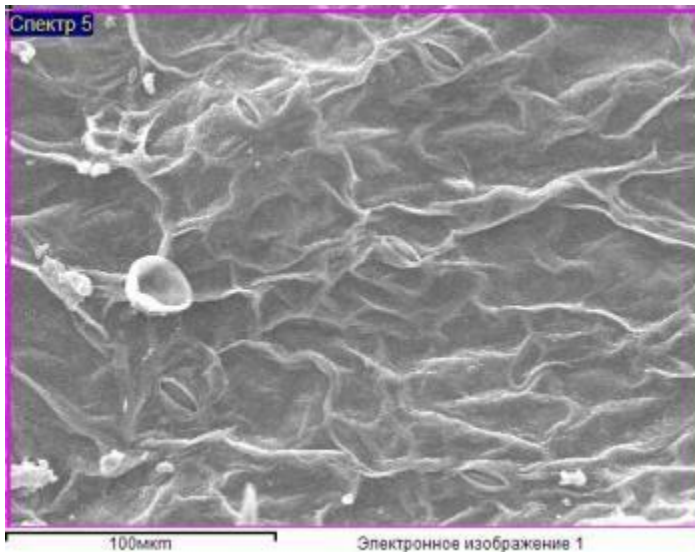


Рисунок 4 -Общий вид линий рентгеновского спектра, показывающих наличие элементов в точке 4 (лист горца земноводного (НФ))



Обработка спектра :

Вероятно пропущен пик : 2.130 keV

Параметры обработки : Все элементы
(Нормализован)

Количество итераций = 4

Эталон :

C CaCO₃ 1-июн-1999 12:00 AM

O SiO₂ 1-июн-1999 12:00 AM

Mg MgO 1-июн-1999 12:00 AM

K MAD-10 Feldspar 1-июн-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-июн-1999 12:00 AM

Элемент	Весовой %	Атомный %
C K	29.96	38.65
O K	57.10	55.30
Mg K	3.97	2.53
K K	5.81	2.30
Ca K	3.17	1.23
Итого	100.00	

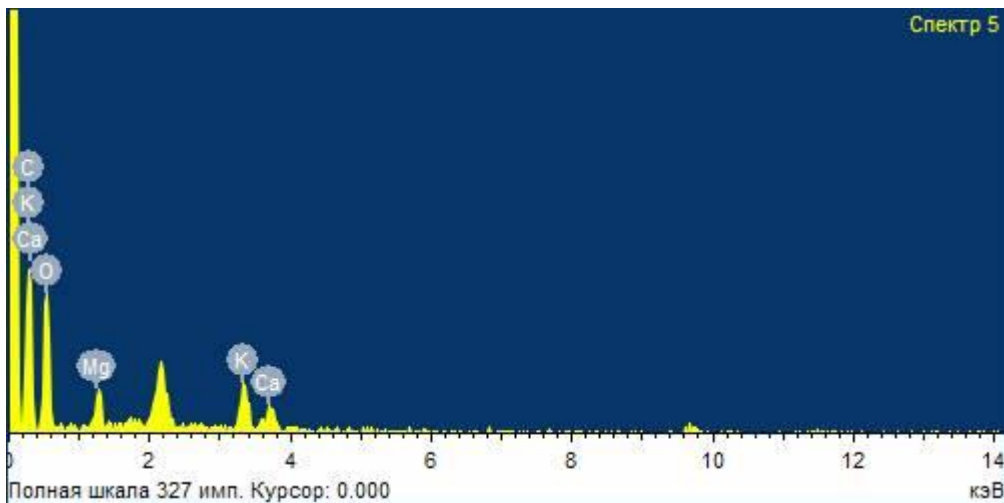
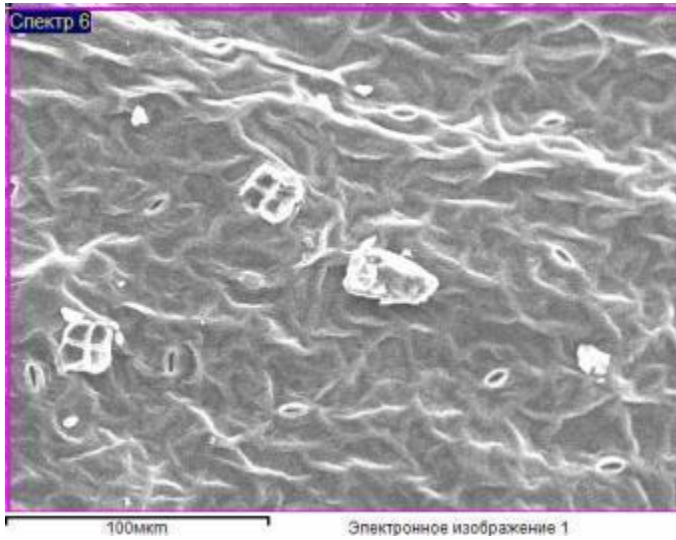


Рисунок 5 - Общий вид линий рентгеновского спектра, показывающих наличие элементов в точке 5 (лист горца малого)



Обработка спектра :

Вероятно пропущены пики : 2.138, 9.700 keV

Параметры обработки : Все элементы
(Нормализован)
Количество итераций = 5

Эталон :

C CaCO₃ 1-июн-1999 12:00 AM

O SiO₂ 1-июн-1999 12:00 AM

Mg MgO 1-июн-1999 12:00 AM

K MAD-10 Feldspar 1-июн-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-июн-1999 12:00 AM

Элемент	Весовой %	Атомный %
C K	16.56	22.23
O K	72.11	72.69
Mg K	1.75	1.16
K K	5.85	2.41
Ca K	3.73	1.50
Итого	100.00	

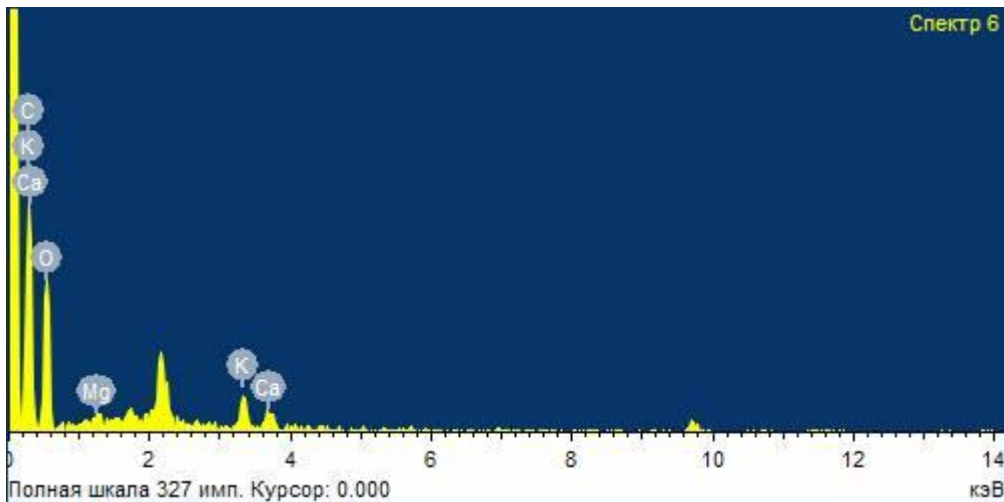


Рисунок 6 - Общий вид линий рентгеновского спектра, показывающих наличие элементов в точке 6 (лист горца перечного)

Таблица 1 - Возможные виды фармакологической активности некоторых биологически активных соединений, содержащихся в траве видов рода горец *Persicaria* Mill. ($P_a > 0,7$)

Фармакологическая активность	Кверцетин		Мирицетин		Гиперозид		Кверцитрин		Кемпферол		Витексин		Изорамнетин	
	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i
Ингибитор хлордеконредуктазы	0,976	0,001	0,971	0,001	0,867	0,009	0,83	0,015	0,978	0,001	0,827	0,015	0,986	0,001
Агонист целостности мембран	0,962	0,003	0,956	0,003	0,974	0,002	0,957	0,003	0,966	0,002	0,966	0,002	0,965	0,003
Ингибитор арилспиртдегидрогеназы (НАДФ ⁺)	0,955	0,001	0,946	0,001	-	-	-	-	0,959	0,001	-	-	0,938	0,001
Ингибитор п-бензохинонредуктазы (НАДФН)	0,952	0,001	0,94	0,001	0,779	0,004	0,711	0,005	0,956	0,001	0,705	0,005	0,933	0,001
Ингибитор проницаемости мембран	0,952	0,002	0,948	0,002	0,965	0,001	0,923	0,003	0,954	0,002	0,963	0,002	0,962	0,002
Ингибитор киназы	0,951	0,002	0,951	0,002	-	-	0,836	0,004	0,95	0,002	0,829	0,005	0,945	0,002
Ингибитор 2-дегидропантоата 2-редуктазы	0,948	0,002	0,941	0,002	0,802	0,007	0,719	0,014	0,953	0,002	0,739	0,012	0,944	0,002
Ингибитор пероксидазы	0,947	0,002	0,953	0,001	-	-	-	-	0,953	0,001	-	-	0,955	0,001
Стимулятор MAP киназы	0,942	0,001	0,926	0,001	-	-	-	-	0,949	0,001	-	-	0,963	0,001
Антимутагенный	0,933	0,002	0,936	0,002	0,734	0,029	-	-	0,943	0,001	0,791	0,004	0,961	0,001
Ингибитор НАДФН-феррихемопротеинредуктазы	0,923	0,001	-	-	0,715	0,006	-	-	0,929	0,001	-	-	0,929	0,001
Ингибитор кверцетин 2,3-диоксигеназы	0,907	0,001	0,881	0,001	-	-	-	-	0,916	0,001	-	-	0,853	0,002
Ингибитор глицеролдегидрогеназы (НАДФ ⁺)	0,897	0,001	0,874	0,001	-	-	-	-	0,907	0,001	0,878	0,003	0,892	0,001

Усилитель экспрессии TP53	0,901	0,005	0,753	0,017	-	-	0,707	0,025	0,912	0,005	0,774	0,014	0,944	0,004
2-дегидропантолактонредуктаза (α-специфический) ингибитор	0,897	0,001	-	-	-	-	-	-	0,906	0,001	-	-	0,886	0,001
Ингибитор цистатионин-β-синазы	0,894	0,001	-	-	-	-	-	-	0,903	0,001	-	-	0,879	0,001
Ингибитор спиртдегидрогеназы (НАДФ+)	0,894	0,002	0,869	0,003	-	-	-	-	0,902	0,002	-	-	0,96	0,002
Ингибитор β-каротина 15,15' - монооксигеназы	0,881	0,002	0,888	0,002	-	-	-	-	0,892	0,002	-	-	0,936	0,001
Ингибитор 4-Нитрофенол 2-монооксигеназы	0,871	0,003	0,853	0,003	-	-	-	-	0,853	0,003	-	-	0,71	0,008
Ингибитор диметилаллилтрансферазы аспульвинона	0,873	0,014	0,844	0,022	-	-	-	-	0,856	0,018	-	-	0,839	0,023
27-Гидроксихолестерол 7α-монооксигеназный ингибитор	0,862	0,004	0,843	0,004	-	-	-	-	0,842	0,004	-	-	-	-
Агонист апоптоза	0,859	0,005	0,889	0,004	0,745	0,011	0,728	0,012	0,856	0,005	0,763	0,01	0,88	0,005
Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,863	0,013	0,853	0,016	-	-	-	-	0,844	0,019	-	-	0,896	0,006
Ингибитор 2-Еноатредуктазы	0,85	0,002	0,812	0,002	-	-	-	-	0,865	0,002	-	-	0,808	0,002
Ингибитор экспрессии AR	0,842	0,002	0,849	0,002	-	-	-	-	0,858	0,002	-	-	0,901	0,002
Антагонист рецептора анафилатоксина	0,846	0,008	-	-	0,937	0,003	0,861	0,006	0,832	0,009	0,95	0,002	0,82	0,01
Ингибитор холестантриол-26-монооксигеназы	0,841	0,003	0,837	0,003	-	-	-	-	0,817	0,004	-	-	-	-
Антигеморрагическое средство	0,837	0,002	0,835	0,002	0,819	0,002	-	-	0,841	0,002	0,802	0,002	0,816	0,002
Ингибитор НАДФН-оксидазы	0,833	0,002	0,863	0,002	-	-	-	-	0,873	0,002	0,904	0,002	0,946	0,001

Ингибитор альдегидоксидазы	0,831	0,008	0,761	0,012	-	-	-	-	0,858	0,006	-	-	0,912	0,004
Ингибитор экспрессии JAK2	0,816	0,007	0,767	0,011	-	-	-	-	0,833	0,006	-	-	0,84	0,005
Субстрат УДФ- глюкуронозилтрансферазы	0,814	0,005	0,818	0,005	0,883	0,003	0,823	0,005	0,827	0,005	0,919	0,003	0,855	0,004
Ингибитор АТФазы, транспортирующей ксенобиотики	0,809	0,003	0,85	0,002	-	-	-	-	0,809	0,003	-	-	0,852	0,002
Антисеборейное средство	0,819	0,015	0,81	0,003	-	-	-	-	0,838	0,012	-	-	0,755	0,027
Ингибитор йодидной пероксидазы	0,804	0,001	0,82	0,001	-	-	-	-	0,838	0,001	0,829	0,001	0,739	0,001
Антиоксидант	0,79	0,003	0,874	0,003	0,897	0,003	0,729	0,004	0,803	0,007	0,909	0,003	0,814	0,003
Ингибитор тестостерона 17бета-дегидрогеназы	0,781	0,001	0,714	0,002	-	-	-	-	0,809	0,001	0,71	0,011	0,775	0,002
Ингибитор лейкотриен-В4 20-монооксигеназы	0,774	0,003	-	-	-	-	-	-	0,753	0,003	-	-	-	-
Ингибитор о- ацетилтрансферазы 1- Алкилглицерофосфохолина	0,771	0,002	0,784	0,002	-	-	-	-	0,78	0,002	-	-	0,785	0,002
Ингибитор тестостерона 17бета-дегидрогеназы (NADP+)	0,795	0,027	0,817	0,021	-	-	-	-	0,77	0,033	-	-	-	-
Ингибитор CYP19	0,767	0,002	0,786	0,002	-	-	-	-	0,807	0,002	-	-	-	-
Вазопротектор	0,768	0,006	0,732	0,009	0,868	0,004	-	-	0,725	0,009	0,865	0,004	0,806	0,005
Ингибитор спиртдегидрогеназы [NAD (P)+]	0,754	0,002	-	-	-	-	-	-	0,761	0,002	-	-	0,734	0,002
Ингибитор глюконат 2- дегидрогеназы (акцептор)	0,775	0,023	0,717	0,047	-	-	-	-	0,755	0,03	-	-	0,759	0,028
Ингибитор дегидро-L- гулонатдекарбоксилазы	0,759	0,014	0,703	0,022	-	-	-	-	0,727	0,019	-	-	0,777	0,004
Мукомебранозный протектор	0,768	0,028	0,747	0,036	-	-	-	-	0,768	0,028	-	-	-	-
Ингибитор оксидоредуктазы	0,745	0,01	0,717	0,013	0,748	0,01	0,701	0,015	0,748	0,01	0,775	0,008	0,749	0,003

Ингибитор гистидинкиназы	0,738	0,006	0,713	0,007	-	-	-	-	0,768	0,005	-	-	0,855	0,003
Удаляет свободные радикалы	0,735	0,004	-	-	0,918	0,002	0,777	0,003	0,753	0,003	0,939	0,001	0,886	0,002
Ингибитор Алкан-1-монооксигеназы	0,743	0,011	-	-	-	-	-	-	0,709	0,015	-	-	-	-
Ингибитор липопероксидазы	0,732	0,004	0,756	0,004	0,843	0,003	-	-	0,754	0,004	0,868	0,003	0,841	0,003
Кардиопротектор	0,728	0,004	0,789	0,004	0,849	0,003	-	-	0,775	0,004	0,894	0,003	0,869	0,003
Ингибитор инсулинолизина	0,722	0,006	-	-	-	-	-	-	0,722	0,006	-	-	-	-
Ингибитор ферулоилэстеразы	0,73	0,019	0,702	0,021	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор глутатионтиолэстеразы	0,726	0,015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор 8-монооксигеназы 2-Гидроксихинолина	0,72	0,012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Противоопухолевый	0,726	0,022	0,794	0,013	0,846	0,007	0,836	0,008	0,729	0,021	0,849	0,007	0,804	0,011
Ингибитор изомеразы халкона	0,705	0,001	-	-	-	-	-	-	0,842	0,001	-	-	0,936	0,001
Ингибитор экдизона 20-монооксигеназы	0,707	0,008	0,719	0,007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор глюкоанэндо-1,6-бета-глюкозидазы	0,713	0,018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор метилентетрагидрофолатредуктазы (НАДФН)	0,706	0,029	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Вяжущий	-	-	0,704	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гемостатический	-	-	-	-	0,941	0,002	0,755	0,003	-	-	0,964	0,001	0,792	0,002
Гепатопротекторное средство	-	-	-	-	0,86	0,003	0,774	0,005	-	-	0,881	0,003	0,74	0,006
Стимулятор высвобождения гистамина	-	-	-	-	0,806	0,003	-	-	-	-	0,744	0,004	0,791	0,003
Антиканцерогенный	-	-	-	-	0,791	0,005	-	-	-	-	0,828	0,004	0,779	0,006

Химиопревентив	-	-	-	-	0,788	0,004	0,701	0,007	-	-	0,829	0,003	0,772	0,004
Ингибитор лактазы	-	-	-	-	0,787	0,004	-	-	-	-	0,782	0,004	-	-
Лечение хрупкости капилляров	-	-	-	-	0,771	0,001	-	-	-	-	0,769	0,001	0,738	0,001
Противовоспалительный	-	-	-	-	0,762	0,009	0,706	0,015	-	-	0,754	0,01	-	-
Лечение печеночных расстройств	-	-	-	-	0,726	0,004	-	-	-	-	0,735	0,004	-	-

Продолжение таблицы 1

	Лютеолин		Апигенин		Астрагалин		Рутин		Галлатанин		Эллаготанин		Хлорогеновая кислота	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
Фармакологическая активность														
Ингибитор хлордеконредуктазы	0,949	0,002	0,973	0,001	0,972	0,001	0,978	0,001	0,744	0,031	0,877	0,007	-	-
Ингибитор экспрессии HIF1A	0,926	0,004	-	-	0,981	0,001	0,967	0,002	-	-	0,883	0,007	-	-
Агонист целостности мембран	0,952	0,003	0,967	0,002	0,924	0,004	-	-	0,835	0,028	0,983	0,001	-	-
Ингибитор арилспиртде гидрогеназы (НАДФ+)	0,82	0,003	-	-	0,776	0,003	-	-	-	-	-	-	0,95	0,004
Ингибитор п-бензохинон-редуктазы (НАДФН)	0,852	0,003	-	-	0,843	0,003	0,751	0,004	-	-	0,787	0,004	-	-
Ингибитор проницаемости мембран	0,912	0,003	0,946	0,002	-	-	-	-	0,816	0,008	0,79	0,011	0,896	0,004
Ингибитор киназы	0,88	0,003	0,941	0,002	0,882	0,003	0,774	0,007	-	-	0,743	0,009	-	-
Ингибитор 2-дегидропантоата 2-редуктазы	0,867	0,004	0,942	0,002	0,889	0,003	0,706	0,015	-	-	-	-	-	-
Ингибитор пероксидазы	0,865	0,003	-	-	0,755	0,007	-	-	-	-	0,814	0,006	-	-
Стимулятор MAP киназы	0,886	0,002	0,862	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антимутагенный	0,884	0,002	0,921	0,002	0,817	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор НАДФН-феррихемопротеинредуктазы	0,807	0,004	-	-	0,825	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор кверцетин 2,3-диоксигеназы	0,831	0,003	0,911	0,005	0,912	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор глицеролдегидрогеназы (НАДФ+)	0,718	0,002	0,885	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Дегидропантолактонредуктаза (α-специфический) ингибитор	0,736	0,002	-	-	0,812	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор цистатионин-β-синтазы	-	-	0,89	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ингибитор спиртдегидрогеназы (НАДФ+)	-	-	0,88	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор бета-каротина 15,15' - монооксигеназы	0,855	0,002	0,895	0,002	0,749	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор 4-Нитрофенол 2-монооксигеназы	0,807	0,004	0,931	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор диметилаллилтрансферазы аспульвинона	0,817	0,029	0,886	0,002	-	-	-	-	0,725	0,056	0,705	0,062	-	-
27-Гидроксихолестерол 7альфа-монооксигеназный ингибитор	0,823	0,004	0,879	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Агонист апоптоза	0,733	0,012	0,847	0,005	0,82	0,007	-	-	0,818	0,007	-	-	0,767	0,01
Ингибитор убихинол-цитохром-с редуктазы	0,772	0,043	0,902	0,005	-	-	-	-	-	-	0,732	0,057	-	-
Ингибитор 2-Еноатредуктазы	-	-	0,914	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор экспрессии AR	0,766	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антагонист рецептора анафилатоксина	0,852	0,007	0,931	0,003	0,939	0,003	0,909	0,004	0,795	0,012	-	-	0,78	0,014
Ингибитор холестантриол-26-монооксигеназы	0,774	0,005	0,861	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антигеморрагическое средство	-	-	0,827	0,002	0,874	0,002	0,83	0,002	-	-	-	-	-	-
Ингибитор НАДФН-оксидазы	-	-	0,884	0,001	0,934	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор альдегидоксидазы	0,899	0,004	0,936	0,001	-	-	-	-	-	-	0,795	0,01	-	-
Ингибитор экспрессии JAK2	0,845	0,005	0,798	0,008	-	-	-	-	-	-	0,785	0,009	0,78	0,01
Субстрат УДФ-глюкуронозилтрансферазы	0,778	0,009	0,801	0,007	0,944	0,002	0,954	0,002	-	-	0,875	0,004	0,838	0,004

Ингибитор АТФазы, транспортирующей ксенобиотики	-	-	0,755	0,003	0,744	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-
Антисеборейное средство	0,847	0,01	0,885	0,005	-	-	-	-	-	-	0,737	0,031	-	-
Ингибитор йодидной пероксидазы	-	-	0,726	0,002	0,919	0,001	0,785	0,001	-	-	-	-	-	-
Антиоксидант	-	-	0,732	0,004	0,929	0,003	0,844	0,003	0,752	0,004	-	-	0,75	0,004
Ингибитор тестостерона 17бета-дегидрогеназы	-	-	0,818	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор лейкотриен-В4 20-монооксигеназы	0,715	0,004	0,795	0,003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор о-ацетилтрансферазы 1-Алкилглицерофосфохолина	0,72	0,003	0,782	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор тестостерона 17бета-дегидрогеназы (NADP+)	0,76	0,036	0,778	0,031	-	-	-	-	0,831	0,018	0,716	0,05	-	-
Вазопротектор	0,835	0,004	0,891	0,003	0,899	0,003	0,937	0,002	-	-	-	-	0,835	0,004
Ингибитор спиртдегидрогеназы [NAD(P)+]	-	-	0,739	0,002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор глюконат 2-дегидрогеназы (акцептор)	0,726	0,043	0,741	0,036	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор дегидро-L-гулонатдекарбоксилазы	-	-	0,787	0,011	-	-	-	-	0,737	0,017	-	-	-	-
Мукомембранозный протектор	0,751	0,034	0,797	0,019	-	-	-	-	-	-	0,962	0,003	-	-
Ингибитор оксидоредуктазы	0,749	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор гистидинкиназы	0,724	0,007	-	-	0,822	0,004	-	-	-	-	0,848	0,003	-	-
Очиститель свободных радикалов	0,743	0,003	0,719	0,004	0,956	0,001	0,968	0,001	0,761	0,003	0,842	0,002	0,879	0,002
Ингибитор Алкан-1-монооксигеназы	0,849	0,004	0,82	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор липопероксидазы	0,771	0,004	-	-	0,926	0,002	0,925	0,002	0,789	0,004	0,888	0,003	0,798	0,004

Кардиопротектор	-	-	-	-	0,921	0,002	0,93	0,002	-	-	-	-	-	-
Ингибитор инсулинолизина	0,786	0,004	0,73	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор ферулоилэстеразы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,865	0,006
Ингибитор глутатионтиолэстеразы	-	-	0,758	0,011	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Противоопухолевый	-	-	0,774	0,015	0,87	0,005	0,88	0,005	0,793	0,013	0,81	0,003	0,874	0,005
Ингибитор экдизона 20-монооксигеназы	-	-	0,711	0,008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ингибитор глюкоанэндо-1,6-бета-глюкозидазы	-	-	0,75	0,013	-	-	-	-	0,744	0,014	-	-	-	-
Гемостатический	-	-	-	-	0,983	0,001	0,983	0,001	-	-	-	-	-	-
Гепатопротекторное средство	-	-	-	-	0,899	0,002	0,931	0,002	-	-	-	-	0,756	0,005
Ингибитор высвобождения гистамина	0,743	0,004	0,791	0,003	-	-	-	-	-	-	0,791	0,003	-	-
Стимулятор высвобождения гистамина	-	-	-	-	0,858	0,002	0,868	0,002	-	-	-	-	-	-
Антиканцерогенный	-	-	-	-	0,852	0,004	0,903	0,002	-	-	0,795	0,005	-	-
Химиопреентив	-	-	-	-	0,849	0,003	0,894	0,002	0,712	0,006	0,788	0,004	-	-
Ингибитор лактазы	-	-	-	-	0,795	0,004	0,775	0,004	-	-	-	-	-	-
Лечение хрупкости капилляров	-	-	-	-	0,816	0	0,815	0	-	-	-	-	-	-
Противовоспалительный	-	-	-	-	0,778	0,008	-	-	0,733	0,012	-	-	0,723	0,013
Лечение печеночных расстройств	-	-	-	-	0,74	0,004	-	-	-	-	-	-	-	-
Желчегонный	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,847	0,002
Антигипоксическое средство	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,808	0,004
Антагонист холестерина	-	-	-	-	-	-	-	-	0,738	0,006	-	-	0,735	0,006
Антисептический	0,76	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Лечение пролиферативных заболеваний	-	-	-	-	0,732	0,005	0,831	0,003	-	-	-	-	-	-

Антипротозойный (Лейшмания)	-	-	-	-	-	-	0,781	0,005	-	-	-	-	-	-
Противогрибковый	-	-	-	-	-	-	0,738	0,008	-	-	-	-	-	-
Кальцевый регулятор	-	-	-	-	-	-	-	-	0,75	0,002	-	-	-	-
Иммунодепрессант	-	-	-	-	-	-	-	-	0,715	0,015	-	-	-	-
Фибринолитический	-	-	-	-	-	-	-	-	0,771	0,006	-	-	-	-

Таблица 2 - Вероятные побочные эффекты некоторых биологически активных соединений, содержащихся в траве видов рода горец *Persicaria* Mill. ($P_a > 0,7$)

Эффект	Кверцетин		Мирицетин		Гиперозид		Кверцитрин		Кемпферол		Витексин		Изорамнетин		Лютеолин	
	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i	P_a	P_i
Дрожание	0,806	0,035	0,781	0,045	-	-	-	-	0,823	0,028	-	-	-	-	0,776	0,047
Язвенная болезнь, афтозная язва	0,75	0,03	0,744	0,031	-	-	-	-	0,713	0,039	-	-	-	-	0,79	0,02
Генотоксический	0,723	0,004	0,705	0,004	-	-	-	-	0,761	0,004	-	-	0,857	0,003	0,745	0,004
Токсичные, сосудистые	0,732	0,03	-	-	-	-	-	-	0,755	0,026	0,727	0,03	0,809	0,016	0,82	0,013
Абстинентный синдром	0,706	0,017	-	-	-	-	-	-	0,716	0,015			-	-	-	-
Гемотоксин	-	-	0,718	0,039	0,884	0,014	0,824	0,022	-	-	0,887	0,013	-	-	-	-
Гипергликемический	-	-	-	-	0,741	0,019	0,72	0,024	-	-	0,707	0,028	-	-	-	-
Воспаление	-	-	-	-	0,722	0,023	-	-	-	-	0,734	0,021	0,743	0,021	-	-
Токсический	-	-	-	-	0,735	0,038	-	-	-	-	0,747	0,036	-	-	-	-

Нефротоксичный	-	-	-	-	-	-	-	-	0,74	0,022	-	-
Паника	-	-	-	-	-	-	-	-	0,769	0,011	-	-
Диарея	-	-	-	-	-	-	0,844	0,018	0,791	0,026	-	-
Гипертония	-	-	-	-	-	-	-	-	0,786	0,017	-	-
Мышечная слабость	-	-	-	-	-	-	0,935	0,005	-	-	-	-
Слабость	-	-	-	-	-	-	0,916	0,007	-	-	-	-
Токсично, дыхание	-	-	-	-	-	-	0,762	0,029	-	-	-	-
Одышка	-	-	-	-	-	-	0,74	0,017	-	-	-	-
Некроз	-	-	-	-	-	-	0,705	0,025	-	-	-	-



МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего
образования
«Воронежский государственный
университет»
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

Университетская пл., 1, Воронеж, 394018.
Тел. (473) 220-75-21. Факс (473) 220-87-55.
E-mail: office@main.vsu.ru
http://www.vsu.ru
ОКПО 02068120, ОГРН 1023601560510
ИНН КПП 3666029505/366601001

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по науке и инновациям
ФГБОУ ВО Воронежский
государственный университет
д.хим.н. доцент
Козадеров О.А.



О.А. Козадеров

№ 05 от 19 20
На № _____ от _____ 20

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

- 1. Наименование для предложения:** Материалы диссертационного исследования «Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*Persicaria* Mill.) как перспективного источника получения лекарственных препаратов».
- 2. Кем предложен, адрес исполнителя:** доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет к.фарм.н. Гудкова Алевтина Алексеевна
- 3. Где и когда внедрено:** ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, фармацевтический факультет, курсы повышения квалификации для работников фармацевтических организаций по направлению «Фармацевтическая химия и фармакогнозия».
- 4. Эффективность внедрения:** внедряемые материалы полезны для проведения учебных занятий на курсах повышения квалификации для фармацевтических работников, а также научно – исследовательских работ по стандартизации и оценке качества растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

Декан фармацевтического факультета
Воронежского государственного
университета
д.фарм.н., профессор

А.И. Сливкин

Сливкин А.И.

Заведующий кафедрой управления
и экономики фармации и фармакогнозии
фармацевтического факультета
Воронежского государственного
университета
д.фарм.н., профессор

Е.А. Чупандина

Чупандина Е.А.

к.биол.н., ассистент кафедры фармацевтической
химии и фармацевтической технологии
фармацевтического факультета
Воронежского государственного
университета

А.С. Беленова

Беленова А.С.

«УТВЕРЖДАЮ»
 Зав. каф. управления и
 экономики фармации и фармакогнозии
 ФГБОУ ВО Воронежский
 государственный университет
 д.фарм.н. профессор
 Чупандина Е.Е.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ № _____

г. Воронеж

03. сентября. 2018

1. **Наименование для предложения:** Материалы диссертационного исследования «Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*Persicaria* Mill.) как перспективного источника получения лекарственных препаратов».
2. **Кем предложен, адрес исполнителя:** доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет к.фарм.н. Гудкова Алевтина Алексеевна
3. **Где и когда внедрено:** ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, фармацевтический факультет
4. **Эффективность внедрения:** внедряемые материалы будут использованы в учебном процессе на дисциплине «Фармакогнозия» и в рамках учебной практики по фармакогнозии, а также научно – исследовательском процессе, касающимся оценки качества и стандартизации лекарственного растительного сырья.

к.фарм.н., доцент
 фармацевтического факультета
 Воронежского государственного
 университета

Коренская И.М.

«УТВЕРЖДАЮ»
 Заведующий кафедрой ботаники и микологии
 ФГБОУ ВО Воронежский
 государственный университет
 д.биол.н. профессор
 Агафонов В.А.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ № _____

г.Воронеж

24. июля 2019

1. **Наименование для предложения:** Материалы диссертационного исследования «Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*Persicaria* Mill.) как перспективного источника получения лекарственных препаратов».
2. **Кем предложен, адрес исполнителя:** доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет к.фарм.н. Гудкова Алевтина Алексеевна
3. **Где и когда внедрено:** ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, кафедра ботаники и микологии
4. **Эффективность внедрения:** предлагаемое внедрение полезно для проведения учебных занятий и научно – исследовательских работ в области идентификации близкородственных видов на примере рода горец (*Persicaria* Mill.), что может быть использовано в курсе «Ботаника», «Учебная практика по ботанике», «Лекарственные растения в Центральном Черноземье», которые реализуются для студентов фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ, «Лекарственные растения», «Медицинская ботаника», реализуемые для студентов медико – биологического факультета ФГБОУ ВО ВГУ, и отражено в монографии «Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.».

к.биол.н., доцент
 медико-биологического факультета
 Воронежского государственного
 университета

Нергобов В.В.

к.биол.н., доцент
 медико-биологического факультета
 Воронежского государственного
 университета

Барабаш Г.И.

«УТВЕРЖДАЮ»
 Декан фармацевтического факультета
 ФГБОУ ВО Воронежский
 государственный университет
 д.фарм.н. профессор
 Сливкин А.И.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ № _____

г.Воронеж

24.04.2017

1. **Наименование для предложения:** Методические рекомендации по количественному определению кальция и магния в растительном сырье с помощью комплексонометрического титрования.
2. **Кем предложен, адрес исполнителя:** доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет к.фарм.н. Гудкова Алевтина Алексеевна.
3. **Где и когда внедрено:** ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, фармацевтический факультет
4. **Эффективность внедрения:** предлагаемое внедрение полезно для проведения учебных занятий и научно – исследовательских работ по оценке качества растительного сырья и лекарственных растительных препаратов в курсах «Фармакогнозия», «Фитохимический анализ и стандартизация лекарственного растительного сырья» и «Фармацевтическая химия».

д.фарм.н., доцент
 фармацевтического факультета
 Воронежского государственного
 университета



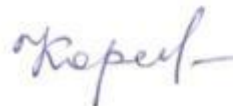
Тринеева О.В.

к.фарм.н., доцент
 фармацевтического факультета
 Воронежского государственного
 университета



Карлов П.М.

к.фарм.н., доцент
 фармацевтического факультета
 Воронежского государственного
 университета



Коренская И.М.



МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего
образования
«Воронежский государственный
университет»
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

Университетская пл., 1, Воронеж, 394018.
 Тел. (473) 220-75-21. Факс (473) 220-87-55.
 E-mail: office@main.vsu.ru
 http://www.vsu.ru
 ОКПО 02068120. ОГРН 1023601560510
 ИНН/КПП 3666029505/366601001

03.07.2018 № 120-Н7
 На № _____ от _____ 20__

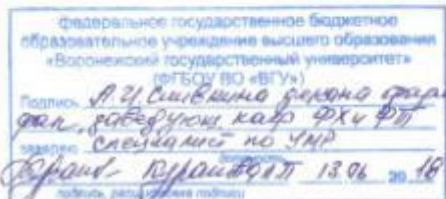
Генеральному директору ФГБУ
 «НЦЭСМП» Минздрава России
 д.мед.н. Олефиру Юрию Витальевичу

Фармацевтический факультет направляет проекты фармакопейных статей «Горца почечуйного трава свежая» и «Polygoni persicariae L. herba (Persicaria) настойка гомеопатическая матричная» для рассмотрения на предмет их включения в нормативную документацию. Проекты данных документов были разработаны совместно сотрудниками фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ, доцентом кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии, к.фарм.н. Гудковой А.А. и ассистентом кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, к.фарм.н. Чистяковой А.С. в результате проведения научных исследований.

Декан
 фармацевтического факультета
 ФГБОУ ВО ВГУ,
 заведующий кафедрой фармацевтической химии
 и фармацевтической технологии,
 д.фарм.н., профессор



А.И. Сливкин





МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего
образования
«Воронежский государственный
университет»
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

Университетская пл., 1, Воронеж, 394018.
Тел. (473) 220-75-21. Факс (473) 220-87-55.
E-mail: office@main.vsu.ru
http://www.vsu.ru
ОКПО 02068120. ОГРН 1023601560510
ИНН/КПП 3666029505/366601001

11.11.2019 № 1520-229
На № _____ от _____ 20__

Генеральному директору ФГБУ
«НЦЭСМП» Минздрава России
д.мед.н. Олефиру Юрию Витальевичу

Фармацевтический факультет направляет проекты фармакопейных статей «Горца щавелелистного трава», «Горца щавелелистного травы экстракт жидкий 1:1» и «Горца почечуйного травы экстракт жидкий 1:1» для рассмотрения на предмет их включения в нормативную документацию. Проекты документов были разработаны совместно сотрудниками фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ, доцентом кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии, к.фарм.н. Гудковой А.А. и ассистентом кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, к.фарм.н. Чистяковой А.С. в результате проведения научных исследований.

Декан
фармацевтического факультета
ФГБОУ ВО ВГУ,
заведующий кафедрой фармацевтической химии
и фармацевтической технологии,
д.фарм.н., профессор



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Воронежский государственный университет»
(ФГБОУ ВО «ВГУ»)

Сливкина А.И.

начальник отдела кадров

З.И. Зверева 11.11.19

д.фарм.н. Зверева Ольга Ивановна

А.И. Сливкин А.И. Сливкин

КАНЦЕЛЯРИЯ
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

22 НОЯ 2019

Вх. № *21784*



МИНОБРНАУКИ РОССИИ
 федеральное государственное
 бюджетное образовательное
 учреждение высшего
 образования
 «Воронежский государственный
 университет»
 (ФГБОУ ВО «ВГУ»)

Университетская пл., 1, Воронеж, 394018.
 Тел. (473) 220-75-21. Факс (473) 220-87-55.
 E-mail: office@main.vsu.ru
 http://www.vsu.ru
 ОКПО 02068120, ОГРН 1023601560510
 ИНН/КПП 3666029505/366601001

11.11.2019 № 1500-229
 На № _____ от _____ 20__

Генеральному директору ФГБУ
 «НЦЭСМП» Минздрава России
 д.мед.н. Олефиру Юрию Витальевичу

Фармацевтический факультет направляет проект дополнения к
 ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования
 лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»
 для рассмотрения на предмет включения в нормативную документацию. Проект был
 разработан совместно сотрудниками фармацевтического факультета ФГБОУ ВО
 ВГУ, доцентом кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии,
 к.фарм.н. Гудковой А.А. и ассистентом кафедры фармацевтической химии и
 фармацевтической технологии, к.фарм.н. Чистяковой А.С. в результате проведения
 научных исследований.

Декан
 фармацевтического факультета
 ФГБОУ ВО ВГУ,
 заведующий кафедрой фармацевтической химии
 и фармацевтической технологии,
 д.фарм.н., профессор



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2605855

СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

Патентообладатель(и): *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Воронежский государственный университет" (ФГБОУ ВПО "ВГУ") (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2015102880

Приоритет изобретения 28 января 2015 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 06 декабря 2016 г.

Срок действия патента истекает 28 января 2035 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

 Г.И. Нестеров



Гудкова А.А., Чистякова А.С.,
Сорокина А.А.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО – ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ
ПОДХОД К ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ РОДА
PERSICARIA MILL.**



Воронеж
2020

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ПРОЕКТ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Горца почечуйного трава

ФС

Polygoni persicariae herba

Взамен ГФ XI, вып. 2, ст. 58

Собранная в фазу цветения и высушенная трава дикорастущего однолетнего травянистого растения горца почечуйного *Polygonum persicaria* L., сем. гречишных - *Polygonaceae*.

Подлинность

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Цельные или частично измельченные цветоносные олиственные побеги длиной до 40 см без грубых нижних частей, с плодами разной степени зрелости. Стебли ветвистые или простые, продольно - бороздчатые, со вздутым узлами. Листья очередные, короткочерешковые, ланцетные, длинно - заостренные с клиновидным основанием, на верхней стороне с темным пятном или без него, цельнокрайние, длиной до 16 см, шириной до 2,5 см. Находящиеся при основании черешков листьев пленчатые раструбы покрыты прижатыми волосками и плотно охватывают стебли, по верхнему краю с ресничками длиной от 0,2 до 4,5 мм. Соцветия верхушечные, густые колосовидные кисти. Цветки мелкие, с простым глубоко 4-5 - рассеченным околоцветником, длиной около 2-3, 5 мм. Доли околоцветника и цветонос с единичными железками (под лупой). Плоды трехгранные, чечевицеобразные или плоские с одной или с обеих сторон, орешки длиной 2,2-2,9 мм, шириной 1,6-2 мм, блестящие, черные или темно - коричневые. Цвет стеблей зеленый, иногда с буроватым оттенком; листьев с верхней стороны зеленый, с нижней - серовато - зеленый; околоцветника - розовый, реже белый, при основании зеленоватый. Запах отсутствует. Вкус горьковатый.

Измельченное сырье. Различной формы кусочки стеблей, листьев, соцветий различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм.

Цвет от серовато - или желтовато-зеленого до темно-зеленого, с зеленовато-желтыми, желтыми, зеленовато-коричневыми, редко – розовато-фиолетовыми и коричневыми вкраплениями.

При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны: кусочки цветоносов и стеблей, чаще в продольном сечении, желтоватые в изломе,

снаружи – от светло-зеленого до коричневого цвета; кусочки листьев от серовато-зеленого до коричневого цвета; части бутонов желтовато-коричневого цвета; лепестки, их кусочки желтого, беловато-желтого и желто-коричневого цвета; отдельные чашелистики и их части, изредка – незрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

Порошок. Кусочки стеблей, листьев, соцветий, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При рассмотрении порошка под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны: кусочки цветоносов и стеблей, чаще в продольном сечении, беловатые в изломе, снаружи – от светло-зеленого до коричневого цвета; кусочки листьев от серовато-зеленого до коричневого цвета; части бутонов желтовато-коричневого цвета; лепестки, их кусочки желтого, беловато-желтого и желто-коричневого цвета; отдельные чашелистики и их части, изредка – незрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

Цвет от серовато-зеленого до темно-зеленого и зеленовато-коричневого с многочисленными белыми, желтовато-белыми, желтыми и коричневыми вкраплениями. Запах слабый, вкус водного извлечения горьковатый, слегка вяжущий.

Микроскопические признаки. *Цельное сырье, измельченное сырье.* При рассмотрении листа с поверхности видны клетки верхнего эпидермиса с прямыми стенками, нижнего - с извилистыми. Устьица с 2-4 околоустьичными клетками, иногда они окружены 2 клетками, расположенными вдоль устьичной щели (аномоцитный тип). На обеих поверхностях листа имеются железки на 2-4-клеточной ножке с головкой из 8 (12-16) клеток, реже с 2-4 – клеточной головкой с бурым содержимым или бесцветные. По всей пластинке листа и по краю встречаются пучковые волоски, образованные 2-5 сросшимися клетками, которые на верхушке волоска часто слегка расходятся. В мезофилле листа крупные друзы оксалата кальция. На эпидермисе стебля и раструба, кроме вышперечисленных признаков, встречаются пленчатые волоски, состоящие из нескольких рядов клеток и имеющие 2-клеточное основание. В ткани околоцветника - призматические кристаллы оксалата кальция.

Порошок. При исследовании микропрепаратов должны быть видны: фрагменты листовой пластинки с верхним эпидермисом с прямыми стенками, нижним - с извилистыми и устьицами, с 2-4 околоустьичными клетками, иногда они окружены 2 клетками, расположенными вдоль устьичной щели (аномоцитный тип). На поверхности листа имеются железки на 2-4-клеточной ножке с головкой из 8 (12-16) клеток, реже с 2-4 – клеточной головкой с бурым содержимым или бесцветные. По всей поверхности фрагмента пластинки листа и по краю встречаются пучковые волоски, образованные 2-5 сросшимися клетками, которые на верхушке волоска часто слегка расходятся. В мезофилле листа крупные друзы оксалата кальция. Встречаются фрагменты эпидермиса стебля и раструба, которые, кроме

вышеперечисленных признаков, имеют пленчатые волоски, состоящие из нескольких рядов клеток и имеющие 2-клеточное основание. Встречаются фрагменты ткани околоцветника с призматическими кристаллами оксалата кальция.

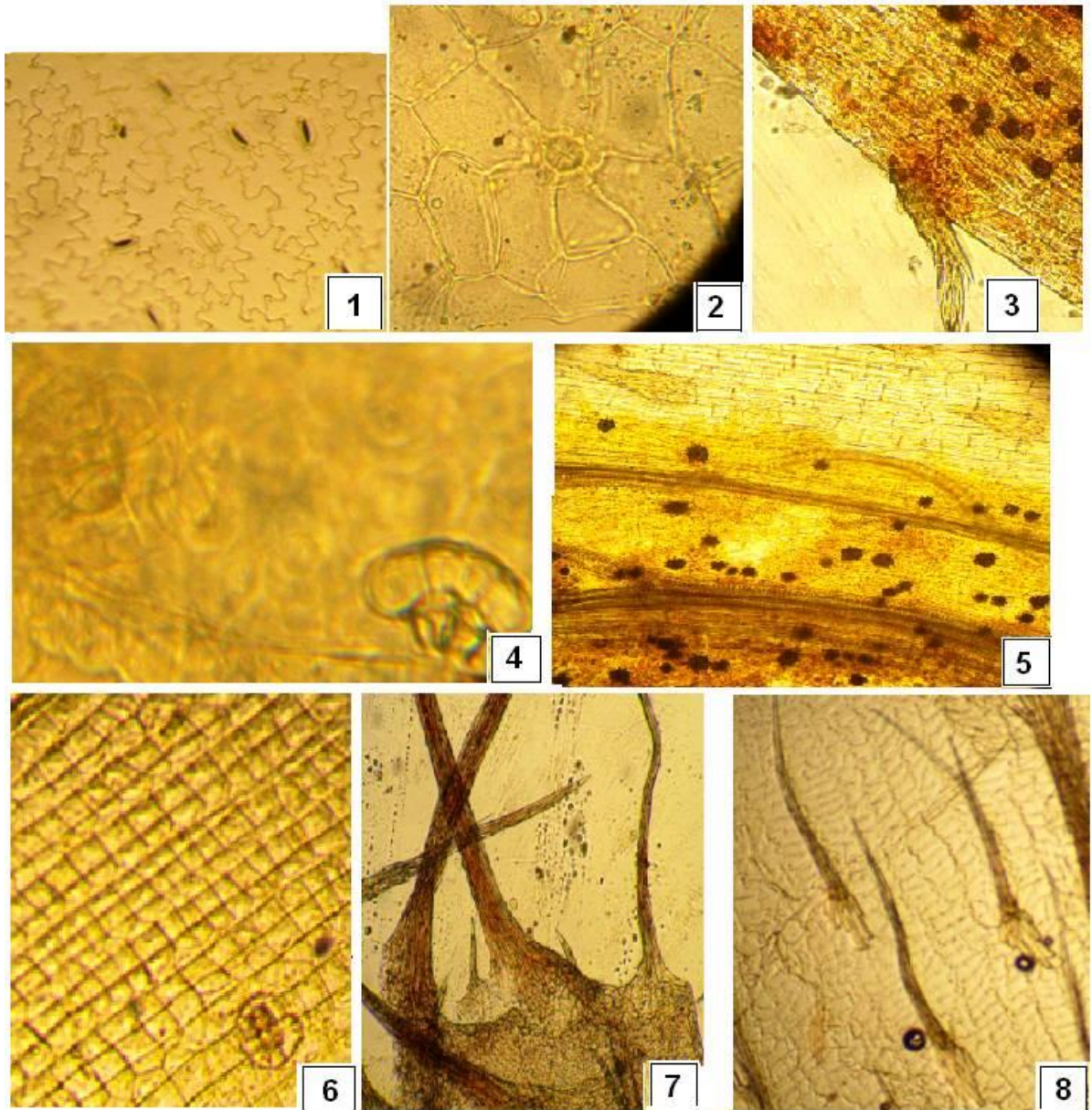


Рисунок 1 – Горца почечуйного трава

1 - фрагмент эпидермиса листа (нижняя сторона): извилистые клетки и устьица аномоцитного типа (ув. $\times 100$), 2 - фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона) крупные клетки эпидермиса, с железкой, имеющей 2 клеточную ножку с головкой из 8 клеток (ув. $\times 400$), 3 - фрагмент листовой пластинки: пучковый волосок и друзы оксалата кальция (ув. $\times 100$), 4 - фрагмент листовой пластинки с железкой, имеющей 2 клеточную ножку с головкой из 8 клеток (ув. $\times 400$), 5 - фрагмент листовой пластинки: пучковые волоски на поверхности и друзы оксалата кальция (ув. $\times 100$), 6 - фрагмент эпидермиса стебля с четковидными утолщениями стенок клеток и железка (ув. $\times 100$), 7 - фрагмент раструба: реснитчатые волоски на верхушке раструба (ув. $\times 100$), 8 - фрагмент раструба: пучковые и пленчатые волоски (ув. $\times 100$)

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 5 мкл раствора А (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов»), рядом - 5 мкл раствора стандартного образца (PCO) рутина (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов»). Пластинку с нанесенными пробами высушивают, помещают в камеру с системой растворителей (без предварительного насыщения) этилацетат-кислота муравьиная безводная-вода (10:2:3) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, высушивают до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм. На хроматограмме PCO рутина должна обнаруживаться зона адсорбции темно-коричневого цвета.

На хроматограмме раствора А должна обнаруживаться темно-коричневая зона адсорбции на уровне зоны на хроматограмме PCO рутина, одна зона адсорбции темно-коричневого цвета ниже зоны рутина, две зоны адсорбции темно-коричневого цвета выше зоны рутина (флавоноиды).

2. К 5 мл раствора А (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов») прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 5 % в спирте 70 %, раствор окрашивается в желто-зеленый цвет (флавоноиды).

3. 2,5 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 100 мл, заливают 50 мл кипящей воды и кипятят на плитке в течение 5 минут, полученное извлечение фильтруют через складчатый фильтр. К 1-3 мл фильтрата прибавляют 1 мл железа (III) аммония сульфата 1 % раствора, должно наблюдаться черно-синее окрашивание (дубильные вещества).

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина. Около 0,005 г СО рутина (рутина тригидрата) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 месяцев при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

5% раствор алюминия хлорида. 5 г алюминия хлорида А-1 – безводного х.ч. (ТУ 6-01-2-88) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 95%, взбалтывают до растворения, доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

Железа (III) аммония сульфата раствор 1 %. 1,0 г железа (III) аммония сульфата растворяют в воде очищенной и доводят тем же растворителем до 100 мл.

Испытания

Влажность. *Цельное сырье* - не более 13 %; *измельченное сырье* – не более 13 %; *порошок* – не более 13 %.

Зола общая. *Цельное сырье* - не более 10 %; *измельченное сырье* – не более 10 %; *порошок* – не более 10 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* - не более 1 %; *измельченное сырье* – не более 1 %; *порошок* – не более 1 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм – не более 10 %. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, - не более 10 %. *Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, - не более 10 %.

Посторонние примеси

Сырье, изменившее окраску *Цельное сырье* - не более 3%; *измельченное сырье* – не более 3%.

Стеблей (в том числе отделенных при анализе). *Цельное сырье* - не более 50%.

Кусочки стеблей. *Измельченное сырье* – не более 50 %.

Органическая примесь. *Цельное сырье* - не более 3 %; *измельченное сырье* – не более 3 %.

Минеральная примесь. *Цельное сырье* - не более 1 %; *измельченное сырье* – не более 1 %; *порошок* - не более 1 %.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,9 %; экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом этиловым не менее 19,0%; *Измельченное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,9 %;

экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом этиловым не менее 19,0%; *Порошок*. Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,9 %; экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом этиловым не менее 19,0%.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутин. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутин, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Раствор должен быть свежеприготовленным.

2% раствор алюминия хлорида. 2 г алюминия хлорида А-1 – безводного х.ч. (ТУ 6-01-2-88) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 95%, взбалтывают до растворения, доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 %. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. После охлаждения объем извлечения доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 1 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 40 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора Б СО рутин, 1 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутин, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность РСО рутина; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; P – содержание основного вещества в СО рутина, %, W – влажность сырья, %.

Допускается расчет содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье проводить с использованием величины удельного показателя поглощения комплекса алюминия хлоридом с рутином с при длине волны 415 нм по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_{1\%}^{1\%} \cdot a \cdot 1 \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

$A_{1\%}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия

хлорида при длине волны 415 нм, равный 248; a – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1 из навески 1,00 г сырья, измельченного до размера частиц 1 мм, экстрагент спирт 50 %).

Примечание. Определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводят в сырье, предназначенном для производства лекарственных растительных препаратов (пачки, фильтр-пакеты); определение экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 50 %, проводят для сырья, предназначенного для производства экстрактов.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». **Срок годности.** 2 года.

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Горца почечуйного трава свежая	ФС
<i>Polygoni persicariae herba recens</i>	Вводится впервые

Собранная в фазу цветения трава дикорастущего однолетнего травянистого растения горца почечуйного *Polygonum persicaria* L., сем. гречишных – *Polygonaceae* L.

Подлинность

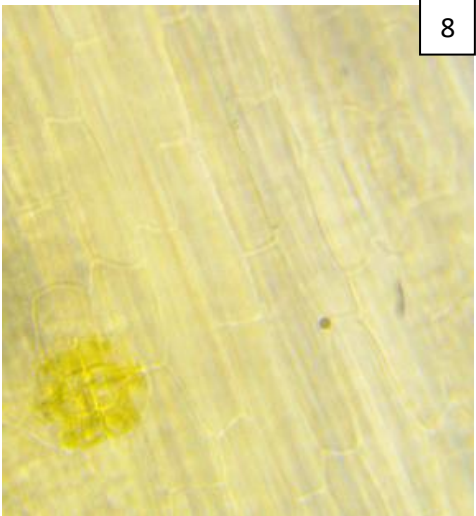
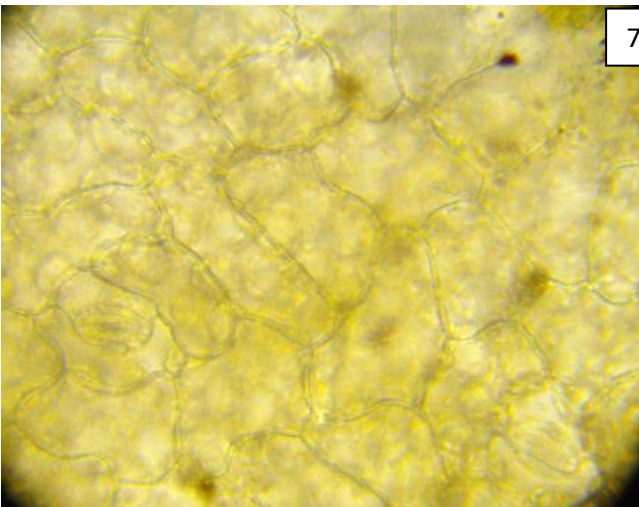
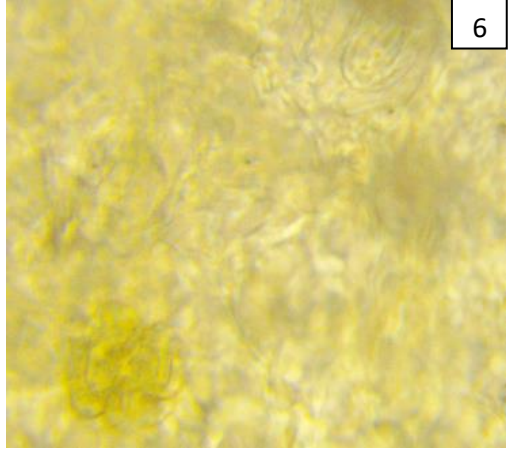
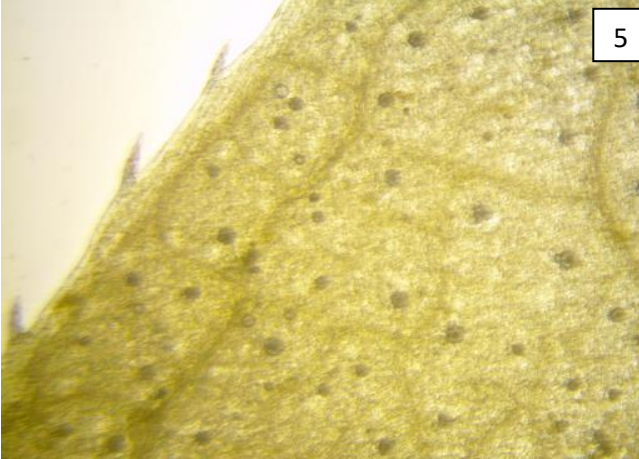
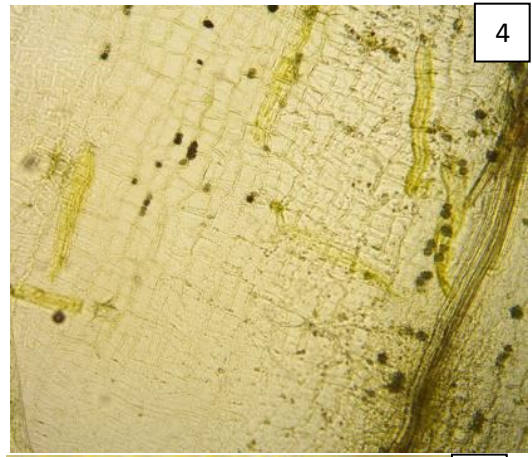
Внешние признаки. *Цельное сырье.* Олиственные верхушки цветоносных частей стеблей длиной до 30 см без грубых нижних частей, с плодами разной степени зрелости. Стебли ветвистые реже простые, округлые, со вздутым узлами. Листья очередные, короткочерешковые, ланцетно - заостренные с клиновидным основанием, на верхней стороне с темным пятном, цельнокрайние, длиной от 3 до 16 см, шириной до 2,5 см. Находящиеся при основании черешков листьев пленчатые раструбы покрыты прижатыми волосками и плотно охватывают стебли, по верхнему краю с ресничками длиной от 0,2 до 4,5 мм. Соцветия верхушечные, густые колосовидные кисти. Цветки мелкие, с простым глубоко 4-5 - рассеченным околоцветником, длиной около 2-3, 5 мм. Доли околоцветника и цветонос с единичными железками (под лупой). Плоды чечевицеобразные или плоские с одной или с обеих сторон, орешки длиной 2,2-2,9 мм, шириной 1,6-2 мм, блестящие, зеленовато - коричневые. Цвет стеблей зеленый, иногда с буроватым оттенком; листьев с верхней стороны зеленый, с нижней - светло - зеленый; околоцветника - розовый, реже белый, при основании зеленоватый. Запах отсутствует. Вкус горьковатый.

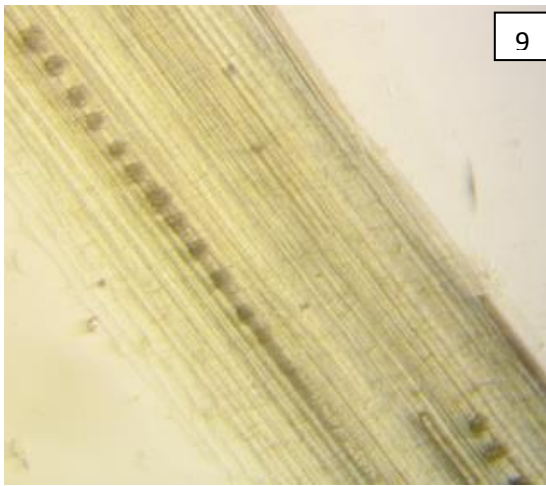
Измельченное сырье. Различной формы кусочки стеблей, листьев, соцветий различной формы. Цвет темно-зеленый, с зеленовато-коричневыми, редко – розовато-фиолетовыми и коричневыми вкраплениями.

При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны: кусочки цветоносов и стеблей, светло-зеленые в изломе, снаружи – от светло-зеленого до темно - зеленого цвета; кусочки листьев темно – зеленого цвета; части бутонов розоватого или белого цвета; лепестки, их кусочки розового, беловато-розового цвета; отдельные чашелистики и их части, изредка – незрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

Микроскопические признаки. *Цельное сырье, измельченное сырье.* При рассмотрении листа с поверхности видны клетки верхнего эпидермиса с прямыми стенками, нижнего - с извилистыми. Стенки клеток верхнего и нижнего эпидермиса часто четковидноутолщенные. Устьица с 2-4 околоустьичными клетками, иногда они окружены 2 клетками, расположенными вдоль устьичной щели (аномоцитный тип), расположены с обеих сторон листа. Устьица овальной формы, с чечевицевидными устьичными клетками. На обеих поверхностях листа имеются железки на 2-4-клеточной ножке с головкой из 8 (12-16) клеток, реже с 2-4 – клеточной головкой с бурым содержимым или бесцветные. По всей пластинке листа и по краю встречаются пучковые волоски, образованные 2-7 сросшимися клетками, которые на верхушке волоска часто расходятся. В мезофилле листа, эпидермиса стебля, раструба имеются крупные друзы оксалата кальция. На эпидермисе стебля и раструба, кроме вышеперечисленных признаков, встречаются пленчатые волоски, состоящие из нескольких рядов клеток и имеющие 2-клеточное основание. Клетки эпидермиса раструба мелкие, плотно прилегают друг к другу, более или менее правильной, прямоугольной формы, устьичный аппарат аномоцитного типа. По краю раструба располагаются длинные реснитчатые волоски. Железки на поверхности раструба могут отсутствовать или очень редкие, состоят из 2-4 выделительных клеток и 1-2 клеточной ножки. Клетки эпидермиса лепестков венчика крупные, вытянутые по длине лепестка, на поверхности имеются мелкие 2-6 клеточные железки, кроме того встречаются редкие одиночные друзы оксалата кальция, пучковые волоски и одноклеточные волоски (на внутренней поверхности лепестка венчика). Проводящая система имеет спиральный тип утолщения. На тычинках присутствуют мелкие округлые трехпоровые пыльцевые зерна желтого цвета.



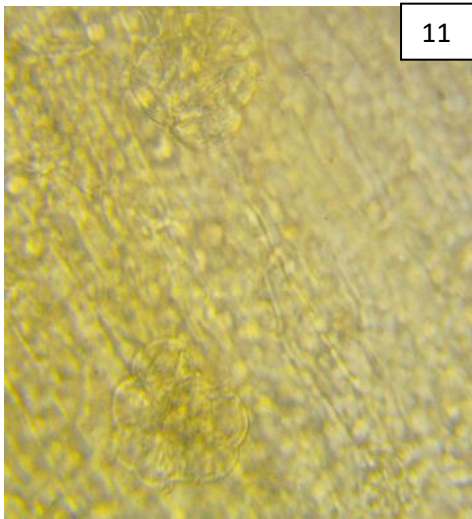




9



10



11

Рисунок 1 – Горца почечуйного трава свежая

1 - фрагмент раструба: реснитчатые волоски на верхушке раструба (ув. $\times 40$), 2 – фрагмент раструба: пучковые и 3 - пленчатые волоски (ув. $\times 400$), 4 – фрагмент раструба: пучковые, пленчатые волоски, друзы оксалата кальция (ув. $\times 100$), 5 - фрагмент листовой пластинки: пучковый волосок и друзы оксалата кальция (ув. $\times 100$), 6 - фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона) крупные клетки эпидермиса, с железкой, имеющей 2 клеточную ножку с головкой из 8 клеток (ув. $\times 400$), 7 - фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона): крупные клетки и устьица аномоцитного типа (ув. $\times 400$), 8 - фрагмент эпидермиса стебля с четковидными утолщениями стенок клеток и железка (ув. $\times 400$), 9 - фрагмент эпидермиса стебля с друзами оксалата кальция (ув. $\times 100$), 10 - фрагмент венчика (ув. $\times 100$), 11 – фрагмент венчика с железкой (ув. $\times 400$)

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 5 мкл раствора А (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов»), рядом - 5 мкл РСО рутин (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов»). Пластинку с нанесенными пробами высушивают, помещают в камеру с системой растворителей (без предварительного насыщения) этилацетат-кислота муравьиная безводная-вода (10:2:3) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 - 90 % длины пластинки от

линии старта, ее вынимают из камеры, высушивают до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме РСО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции темно-коричневого цвета.

На хроматограмме раствора А должна обнаруживаться темно-коричневая зона адсорбции на уровне зоны на хроматограмме РСО рутина, одна зона адсорбции темно-коричневого цвета ниже зоны рутина, две зоны адсорбции темно-коричневого цвета выше зоны рутина (флавоноиды).

2. К 5 мл раствора А (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов») прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 5 % в спирте 70%, раствор окрашивается в желто-зеленый цвет (флавоноиды).

3. 5,0 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 100 мл, заливают 50 мл кипящей воды и кипятят на плитке в течение 5 минут, полученное извлечение фильтруют через складчатый фильтр. К 1-3 мл фильтрата прибавляют 1 мл железа (III) аммония сульфата 1 % раствора, должно наблюдаться черно-синее окрашивание (дубильные вещества).

Испытания

Влажность. *Цельное сырье* - не менее 60 %.

Зола общая. *Цельное сырье* - не более 10 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* - не более 1 %.

Посторонние примеси

Сырье, изменившее окраску. *Цельное сырье* - не более 3%.

Грубых стеблей (в том числе отделенных при анализе). *Цельное сырье* - не более 50%.

Плоды. *Цельное сырье* - не более 10%.

Органическая примесь. *Цельное сырье* - не более 3%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье* - не более 1 %.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное и измельченное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,0 %; экстрактивных веществ извлекаемых 70% спиртом не менее 15,0%.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутин. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутин, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Раствор должен быть свежеприготовленным.

2% раствор алюминия хлорида. 2 г алюминия хлорида А-1 – безводного х.ч. (ТУ 6-01-2-88) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 95%, взбалтывают до растворения, доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.

Около 10,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 %. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. После охлаждения объем извлечения доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл раствора А, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 20 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора Б СО рутин, 1 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутин, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 2 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где: A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность стандартного раствора; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; W – влажность сырья, %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1 из навески 10,00 г сырья, измельченного до размера частиц 10 мм).

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Сырье подлежит переработке в течение 24 часов с момента заготовки.

На хроматограмме РСО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции темно-коричневого цвета.

На хроматограмме настойки должна обнаруживаться темно-коричневая зона адсорбции на уровне зоны на хроматограмме РСО рутина, одна зона адсорбции темно-коричневого цвета ниже зоны рутина, две зоны адсорбции темно-коричневого цвета выше зоны рутина (флавоноиды).

2. К 5 мл настойки прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 5 % в спирте 70%, раствор окрашивается в желто-зеленый цвет (флавоноиды).

Плотность. От 0,895 до 0,916 (ОФС ГФ XIV «Плотность»).

Спирт этиловый. ГФ XIII ОФС «Определение спирта этилового в жидких фармацевтических препаратах».

Метанол и 2-пропанол. ГФ XIV ОФС «Остаточные органические растворители».

Сухой остаток. Не менее 1 % (ОФС ГФ XIV «Настойки»).

Тяжелые металлы. Не более 0,001% (ГФ XIV ОФС «Тяжелые металлы»).

Микробиологическая чистота. По микробиологической чистоте должна соответствовать категории 3,2. Испытания проводят в соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота» ГФ XIV.

Количественное определение

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают. Раствор должен быть свежеприготовленным.

2% раствор алюминия хлорида. 2 г алюминия хлорида А-1 – безводного х.ч. (ТУ 6-01-2-88) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 95%, взбалтывают до растворения, доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2 мл настойки, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 20 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл настойки, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора СО рутина, 1 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутина, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке (X , г/мл) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 25 \cdot 1,0}{A_0 \cdot V \cdot 100 \cdot 25}$$

где A – оптическая плотность комплекса суммы флавоноидов испытуемого раствора с алюминия хлоридом;

A_0 – оптическая плотность поглощения РСО рутина с алюминия хлоридом;

a_0 – навеска стандартного образца рутина, г;

V – аликвота экстракта, мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке должно быть не менее 0,1 г/мл.

Упаковка. В соответствии с требованиями ОФС «Гомеопатические лекарственные формы».

Упаковка должна обеспечивать стабильность при транспортировании и хранении в течение установленного срока годности.

Маркировка. В соответствии с требованиями ОФС «Настойки гомеопатические матричные».

Хранение. В защищенном от света месте при температуре от 15 до 25 °С.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОЕКТ

Горца почечуйного	ФС
экстракт жидкий	Вводится впервые

Горца почечуйного экстракт жидкий, получаемый из травы однолетнего травянистого растения горца почечуйного – *Polygonum persicaria L.* сем. гречишных – *Polygonaceae*, применяемый в качестве лекарственного растительного препарата.

Для получения препарата необходимо:

Горца почечуйного травы - 1000 г;
(ФС.2.5.0068.18)

Этанола (спирта этилового) 70 % - достаточное количество для
получения 1000 мл.

Описание. Прозрачная жидкость зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом.

Подлинность.

1. Тонкослойная хроматография

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 3 мкл жидкого экстракта, рядом - 5 мкл РСО рутина. Пластинку с нанесенными пробами высушивают, помещают в камеру с системой растворителей (без предварительного насыщения) этилацетат-кислота муравьиная безводная-вода (10:2:3) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, высушивают до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме РСО рутина должна обнаруживаться зона адсорбции темно-коричневого цвета.

На хроматограмме жидкого экстракта должна обнаруживаться темно-коричневая зона адсорбции на уровне зоны на хроматограмме РСО рутина, одна зона адсорбции темно-коричневого цвета ниже зоны рутина, две зоны адсорбции темно-коричневого цвета выше зоны рутина (флавоноиды).

2. К 3 мл жидкого экстракта прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 5 % в спирте 96%, раствор окрашивается в желто-зеленый цвет (флавоноиды).

Спирт этиловый. Не менее 64 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

Метанол и 2-пропанол. Не более 0,05% метанола и не более 0,05% 2 – пропанола. В соответствии с требованиями ОФС «В соответствии с требованиями ОФС «Определение метанола и 2-пропанола» (контролируется на стадии технологического процесса) .

Сухой остаток. Не менее 2 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Тяжелые металлы. Не более 0,01 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

К 1 мл препарата прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной, осторожно сжигают и прокаливают. Полученный остаток обрабатывают при нагревании 5 мл аммония ацетатом насыщенным раствором. Фильтруют через беззольный фильтр, промывают 5 мл воды и доводят объем фильтрата водой до 100 мл.

10 мл полученного раствора должны выдерживать испытания на тяжелые металлы.

«Объем содержимого упаковки». В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают. Раствор должен быть свежеприготовленным.

2% раствор алюминия хлорида. 2 г алюминия хлорида А-1 – безводного х.ч. (ТУ 6-01-2-88) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 96%, взбалтывают до растворения, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,5 мл жидкого экстракта, добавляют 1 мл 2% раствора алюминия хлорида в 96% спирте, 0,5 мл разведенной кислоты уксусной и доводят объем раствора 96% спиртом до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 40 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 0,5 мл жидкого экстракта, 0,5 мл разведенной кислоты уксусной, доведенного спиртом этиловым 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора СО рутина, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, 0,5 мл разведенной кислоты уксусной доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутина, 0,5 мл разведенной кислоты уксусной, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в мг/мл вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot a \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100}{D_0 \cdot 0,5 \cdot 100 \cdot 25} = \frac{D_1 \cdot a}{D_0 \cdot 0,5 \cdot 100}$$

где D_1 – оптическая плотность комплекса суммы флавоноидов испытуемого раствора с алюминия хлоридом;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО рутина с алюминия хлоридом;

a – навеска СО рутина в граммах, г.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 5 мг/мл.

Хранение. В защищенном от света месте при температуре от 8 до 15 °С.

ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ И СУШКЕ ГОРЦА ПОЧЕЧУЙНОГО ТРАВЫ

Горец почечуйный – *Persicaria maculosa* Gray (*Polygonum persicaria* L.), однолетнее травянистое растение семейства гречишных *Polygonaceae* Juss.. Стебель ветвистый 40 (60), голый или покрытым редким прижатым опушением, зелёного или фиолетово-красного цвета. Листья короткочерешковые, ланцетные 5 (8) см длиной и 0,7 (1,5) см шириной, острые, в основании клиновидные, сверху часто с темным пятном, по краям и снизу по жилкам волосистые. Раструбы снаружи волосистые, по краю с ресничками длиной до 2 мм. Цветки в густых, компактных, прямостоячих, колосовидных кистях длиной 1 – 3 см, шириной 0,5-0,8 см, цветоносы голые. Плод двугранный, плоско – выпуклый, отчасти трехгранный, черный, блестящий орешек 2,2 (2,5) мм. Цветет в июле – сентябре, плодоносит в августе - октябре.

Широко распространённое в Северном полушарии растение, ареал охватывает Кавказ, Западную и Восточную Сибирь, Дальний Восток. Встречается по влажным местам по берегам рек и озёр, у канав, является сорным растением.

Горца почечуйного траву заготавливают во время цветения, срезая облиственные цветущие части растения серпом или ножом на высоте до 5 см от поверхности почвы, оставляя грубые нижние части стеблей. Для возобновления зарослей горца почечуйного необходимо оставлять несколько хорошо развитых экземпляров на каждый 1 м² заросли.

Собранную траву очищают от земли, примесей (случайно попавших частей других растений), пожелтевших, пораженных вредителями и болезнями частей горца почечуйного. Примесями к горца почечуйного траве являются горцы щавелелистный, узловатый, Бриттингера, войлочный.

Сырье сушат, разложив тонким слоем, в хорошо проветриваемом помещении или в тени на открытом воздухе. Предпочтительнее сушить сырье в сушилках с искусственным обогревом при температуре не выше 40-50°C. Сушка считается законченной, если стебли и черешки листьев при сгибании ломаются.

Влажность. *Цельное сырье* - не более 13 %; *измельченное сырье* – не более 13 %; *порошок* – не более 13 %. **Зола общая.** *Цельное сырье* - не более 10 %; *измельченное сырье* – не более 10 %; *порошок* – не более 10 %. **Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье* - не более 1 %; *измельченное сырье* – не более 1 %; *порошок* – не более 1 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм – не более 10 %. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, - не более 10 %. *Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, - не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, - не более 10 %.

Посторонние примеси

Сырье, изменившее окраску Цельное сырье - не более 3%; измельченное сырье – не более 3%. **Стеблей (в том числе отделенных при анализе).** Цельное сырье - не более 50%. **Кусочки стеблей.** Измельченное сырье – не более 50 %. **Органическая примесь.** Цельное сырье - не более 3 %; измельченное сырье – не более 3 %. **Минеральная примесь.** Цельное сырье - не более 1 %; измельченное сырье – не более 1 %; порошок - не более 1 %.

Также лекарственное растительное сырье горца почечуйного трава должно выдерживать испытания на примеси тяжелых металлов и сырья, радионуклидов, остаточных количеств пестицидов, микробиологическую чистоту, что регламентируется соответствующими ОФС ГФ РФ XIV.

Количественное определение. *Цельное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,9 %; экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом этиловым не менее 19,0%; *Измельченное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,9 %; экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом этиловым не менее 19,0%; *Порошок.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 0,9 %; экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом этиловым не менее 19,0%.

Готовое сырье упаковывают в мешки или тюки. Хранят на стеллажах, в сухом, защищенном от прямого солнечного света, хорошо проветриваемом помещении. Срок годности 2 года.



Рис.1. Горец почечуйный *Persicaria maculosa* Gray.

ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ И СУШКЕ ГОРЦА ЩАВЕЛЕЛИСТНОГО ТРАВЫ

Горец щавелелистный – *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre, однолетнее травянистое растение семейства гречишных *Polygonaceae* Juss.. Стебель ветвистый до 80—100 и даже 150—180 см высотой, голым или покрытым редким прижатым опушением, зелёного или фиолетово-красного цвета, часто с красными пятнами.

Листья яйцевидно-продолговатые до яйцевидно-ланцетных или ланцетных, 3—15(24) см длиной и 0,5—3(7) см шириной, с заострённой верхушкой, клиновидно суженные в черешок 1—3 см длиной. Край листовой пластинки, жилки с обеих сторон и черешок с жестковатыми прижатыми щетинками. На верхней поверхности листа часто заметно тёмно-коричневое пятно. Раструбы в узлах прозрачные, красно-коричневатые, с тёмно-коричневыми или фиолетово-красными жилками, голые, по краю с редкими ресничками около 0,5 мм длиной.

Цветки собраны в густые цилиндрические колосовидные кисти 2—8 см длиной и 6—12 мм толщиной, изогнутые, обыкновенно поникающие, на цветоносах 1—4 см длиной. Цветонос и ось соцветия покрыты железками. Цветки на коротких цветоножках не более 2,3 мм длиной, околоцветник 2—3 мм длиной, почти до основания разделён на четыре доли (редко на пять), розовый, красноватый, белый или зеленоватый, обыкновенно покрыт железками по крайней мере по трубке и по внутренним листочкам. Тычинки обычно в числе 6, короче околоцветника.

Плод — орешек 1,8—2,5 мм длиной и 1,5—2,1 мм шириной, сплюснутый с двух сторон, редко трёхгранный, округло-эллиптический тёмно-коричневый до черноватого.

Цветет с июля по сентябрь.

Широко распространённое в Северном полушарии растение, ареал охватывает Кавказ, Западную и Восточную Сибирь, Дальний Восток. Встречается по влажным местам по берегам рек и озёр, у канав, является сорным растением.

Горца щавелелистного траву заготавливают во время цветения, срезая облиственные цветущие части растения серпом или ножом на высоте до 5 см от поверхность почвы, оставляя грубые нижние части стеблей. Для возобновления зарослей горца щавелелистного необходимо оставлять несколько хорошо развитых экземпляров на каждый 1 м² заросли. Собранную траву очищают от земли, примесей (случайно попавших частей других растений), пожелтевших, пораженных вредителями и болезнями частей горца щавелелистного. Сырье сушат, разложив тонким слоем, в хорошо проветриваемом помещении или в тени на открытом воздухе. Предпочтительнее сушить сырье в сушилках с искусственным обогревом при температуре не выше 40-50°C. Сушка считается законченной, если стебли и черешки листьев при сгибании ломаются.

Испытания. Влажность. *Цельное сырье* - не более 13 %. Зола общая. *Цельное сырье* - не

более 10 %. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* - не более 1 %. Измельченность сырья. *Цельное сырье*: частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм – не более 5%; *Измельченное сырье*: частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм – не более 5%; *Порошок*: частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм – не более 5%, частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,18 мм – не более 5%.

Посторонние примеси. Сырье, изменившее окраску. *Цельное сырье* - не более 3%. Грубых стеблей (в том числе отделенных при анализе). *Цельное сырье* - не более 50%. Плоды. *Цельное сырье* - не более 10%. Органическая примесь. *Цельное сырье* - не более 3%. Минеральная примесь. *Цельное сырье* - не более 1 %. *Измельченное сырье* – не более 1%.

Также растительное сырье горца щавелелистного трава должно выдерживать испытания на примеси тяжелых металлов и мышьяка, пестицидов, радионуклидов, микробиологическую чистоту, что регламентируется соответствующими ОФС ГФ РФ XIV. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Количественное определение. *Цельное и измельченное сырье*. Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %; экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом не менее 15,0%.

Готовое сырье упаковывают в мешки или тюки. Хранят на стеллажах, в сухом, защищенном от прямого солнечного света, хорошо проветриваемом помещении. Срок годности 2 года.



Рис.1. Горец щавелелистный *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Горца щавелелистного трава

ФС

Persicariae lapathifoliae herba

Вводится впервые

Собранная в фазу цветения трава дикорастущего однолетнего травянистого растения горца щавелелистного (раскидистого) *Persicaria lapathifolia*, (L.) Delarbre сем. гречишных – *Polygonaceae* L.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Олиственные верхушки цветоносных частей стеблей длиной до 30 см без грубых нижних частей, с плодами разной степени зрелости. Стебли ветвистые реже простые, округлые, со вздутым узлами, голые или покрыты редким прижатым опушением, зелёного или фиолетово-красного цвета, часто с красными пятнами. Листья очередные, короткочерешковые, от яйцевидно-продолговатые до яйцевидно-ланцетных, от 3 до 15 см длиной и от 0,5 до 3 см шириной, с заострённой верхушкой, клиновидно суженные в черешок 1 - 3 см длиной. Край листовой пластинки, жилки с обеих сторон и черешок с жестковатыми прижатыми щетинками. На верхней поверхности листа часто присутствует тёмно-коричневое пятно. Раструбы в узлах прозрачные, отходящие от стебля, красно-коричневатые, с тёмно-коричневыми или фиолетово-красными жилками, голые, по краю с редкими ресничками около 0,5 мм длиной.

Цветки в густых цилиндрических колосовидных кистях 2 - 8 см длиной и 6 - 12 мм толщиной, изогнутые, поникающие. Цветонос и ось соцветия покрыты железками. Цветки на коротких цветоножках не более 2,3 мм длиной, околоцветник разделён на четыре доли, розовый, красноватый, белый или зеленоватый, покрыт железками. Тычинок 6, короче околоцветника. Плод - орешек 1,8-2,5 мм длиной и 1,5-2,1 мм шириной, сплюснутый с двух сторон, округлый, тёмно-коричневый. Запах слабый. Вкус горьковатый.

Измельченное сырье. Различной формы кусочки стеблей, листьев, соцветий различной формы. Цвет темно-зеленый, с зеленовато-коричневыми, редко – розовато-фиолетовыми и коричневыми вкраплениями.

При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны: кусочки стеблей, светло-зеленые в изломе, снаружи – от светло-зеленого до коричневатого - зеленого цвета; кусочки листьев темно – зеленого цвета, сверху покрыты

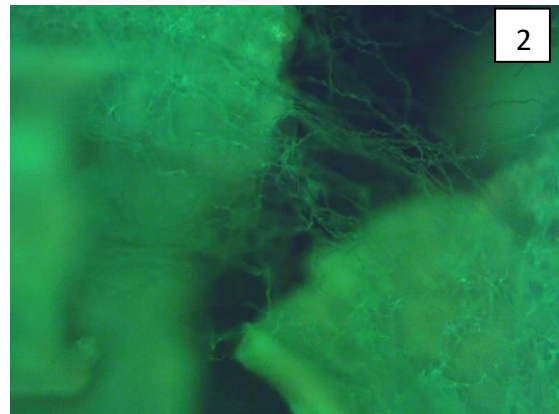
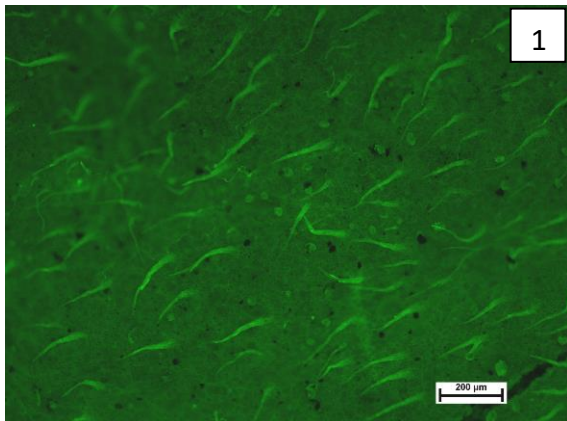
редкими жесткими волосками, снизу имеется войлочное опушение из большого количества нитевидных волосков и желтоватые блестящие железки; части цветоносов покрыты многочисленными желтоватыми железками; части бутонов розоватого, белого или зеленоватого цвета; лепестки, их кусочки розового, белого или зеленоватого цвета с желтоватыми железками. Запах слабый, вкус водного извлечения горьковатый.

Порошок. Кусочки стеблей, листьев, соцветий, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При рассмотрении порошка под лупой (10х) или стереомикроскопом (16х) видны: кусочки цветоносов и стеблей, чаще в продольном сечении, беловатые в изломе, снаружи - от светло-зеленого до коричневого цвета; кусочки листьев от серовато-зеленого до коричневого цвета; части бутонов желтовато-коричневого или беловато-зеленого цвета; листочки околоцветника, их кусочки желтого, беловато-желтого и желто-коричневого цвета и их части, изредка - незрелые плоды зеленовато-коричневого цвета.

Цвет от серовато-зеленого до темно-зеленого и зеленовато-коричневого с многочисленными белыми, желтовато-белыми, желтыми и коричневыми вкраплениями. Запах слабый, вкус водного извлечения горьковатый.

Люминесцентная микроскопия. Четко визуализированы пучковые волоски на поверхности и черешке, имеющие зеленовато-желтую флуоресценцию, железки, расположенные на околоцветнике не обладают свечением, пыльцевые зерна светятся желтоватым цветом.



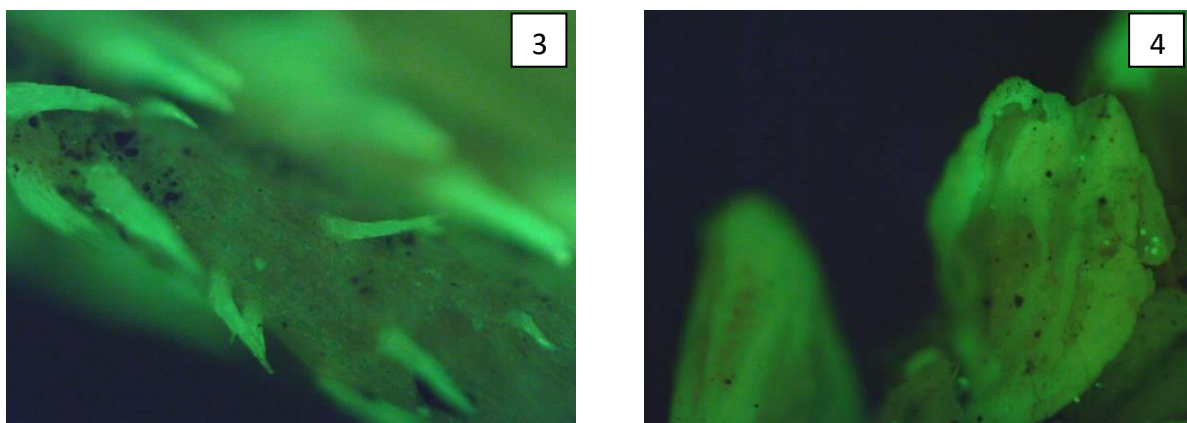


Рисунок 1 – Горца щавелелистного трава (люминесцентная микроскопия)

1 – фрагмент листовой пластинки: верхняя сторона листа, пучковые волоски и железки (ув. \times 100); 2 – фрагмент листовой пластинки: нижняя сторона листа: нитевидные волоски (ув. \times 400); 3 - фрагмент черешка листа (ув. \times 400); 4 – фрагмент цветка с пыльцевыми зёрнами (ув. \times 40)

Микроскопические признаки. Цельное сырье, измельченное сырье.

Раструб на верхушке имеет редкие не длинные реснитчатые волоски, расположенные как продолжение жилки и как отдельная структура. По всей поверхности раструба и по жилкам разбросаны не большие, конической формы с широким основанием пучковые волоски. Пленчатые волоски не многочисленные, мелкие, часто отламывающиеся, визуализируются редкие нитевидные волоски. На месте слома остаются следы в виде двухклеточной ножки. Клетки эпидермиса раструба сильно вытянутые, боковые места сочленения клеток извилистые. Устьица крупные, хорошо заметные. У основания раструба присутствует большое количество друз оксалата кальция, которые почти отсутствуют по его поверхности.

Клетки с верхней стороны листа крупные, слабо извилистые, на нижней стороне клетки вытянутые с сильно извилистыми стенками. Устьица многочисленные, с 2-4 околоустьичными клетками (аномоцитного типа). Край листа имеет крупные, вытянутые и слегка оттопыренные пучковые волоски, которые также встречаются на всей поверхности листа, но они меньше в размерах, чем по краю. На нижней стороне визуализируются редкие нитевидные волоски. Также по всей поверхности наблюдается наличие крупных друз оксалата кальция, вместилищ с темным и светлым содержимым, редких желтоватых железок с 2-4 клеточной ножкой и 8-16 выделительными клетками.

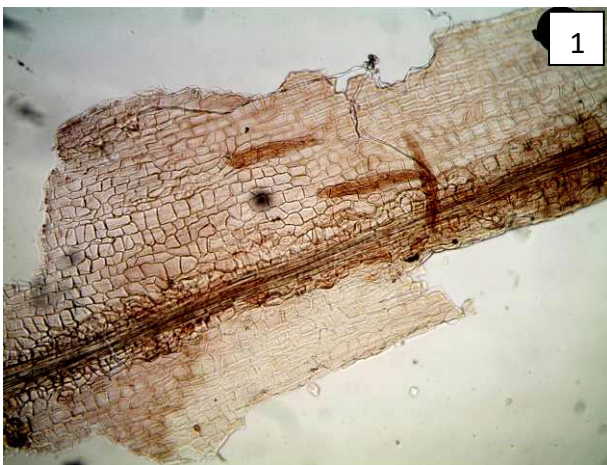
Эпидермис стебля имеет сильно вытянутые клетки с толстыми оболочками. Пучковые и пленчатые волоски очень редкие, могут отсутствовать. По всему препарату отчетливо видны многочисленные железки с 1-2 клеточной ножкой и 10-16 выделительными клетками. Кроме того, присутствует большое количество вместилищ с желтовато-коричневым содержимым. Друзы оксалата кальция не многочисленные, присутствуют вдоль проводящих пучков.

Листочков околоцветника четыре, эпидермис лепестков имеет сильно вытянутые клетки с извилистыми стенками, у основания лепестка клетки с ровными краями, ромбовидные. На внутренней поверхности лепестка в нижней части наблюдается большое количество одноклеточных волосков. Друзы оксалата кальция в большом количестве располагаются у основания лепестков. Железки очень крупные, почти бесцветные, имеют от 6-10 выделительных клеток и короткую ножку. Пыльцевые зерна крупные, бледно желтого цвета.

Плод черный или буровато-коричневый, обратно-яйцевидной формы, с сильно расширенным основанием и заостренной верхушкой. На обеих сторонах плод вдавленный.

Порошок. При исследовании микропрепаратов должны быть видны: фрагменты листовой пластинки верхнего эпидермиса с прямыми стенками, нижнего - с извилистыми стенками и устьицами, с 2-4 околоустьичными клетками, иногда окруженных 2 клетками, расположенными вдоль устьичной щели (аномоцитный тип).

На поверхности фрагментов листа должны быть железки на 2-4- клеточной ножке с головкой из 8 (12-16) клеток, реже с 2-4 - клеточной головкой с бурым содержимым или бесцветные. По поверхности фрагмента пластинки листа и по краю должны встречаться пучковые волоски, образованные 2-5 сросшимися клетками, которые на верхушке волоска часто слегка расходятся. В мезофилле фрагментов листа должны быть крупные друзы оксалата кальция. На фрагментах эпидермиса стебля визуализируются крупные клетки, друзы оксалата кальция, расположенные тяжами и пленчатые волоски. Фрагменты раструбов кроме вышеперечисленных признаков, должны быть редкие реснитчатые волоски, пучковые, нитевидные и пленчатые волоски, состоящие из нескольких рядов клеток и имеющие 2-клеточное основание. Встречаются части раструба с друзами оксалата кальция. На фрагментах ткани околоцветника должны быть крупные железки и друзы оксалата кальция.



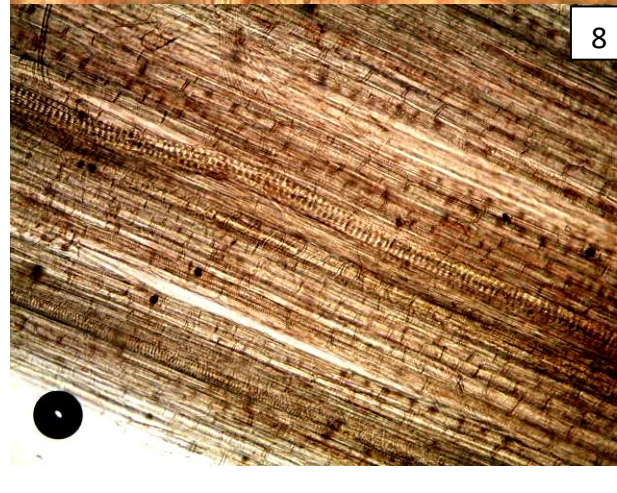
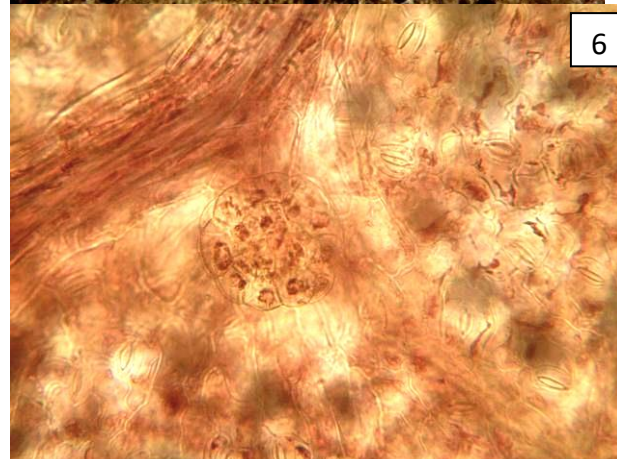
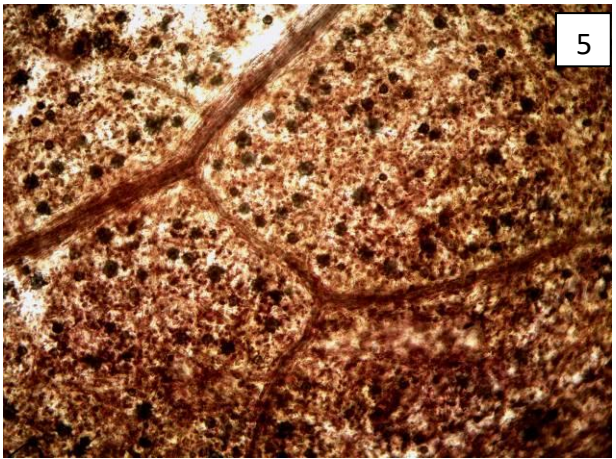
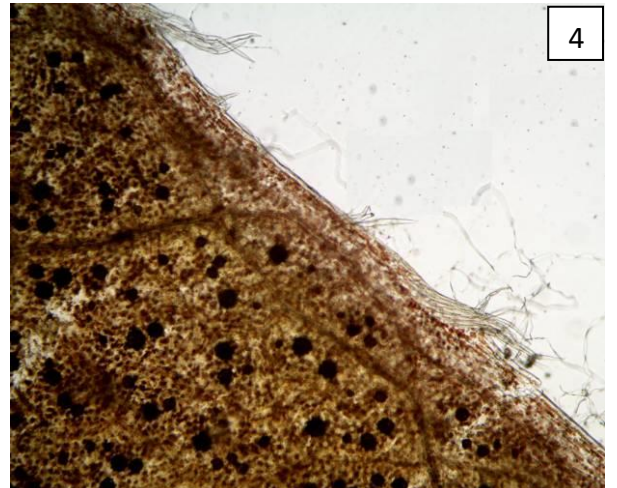
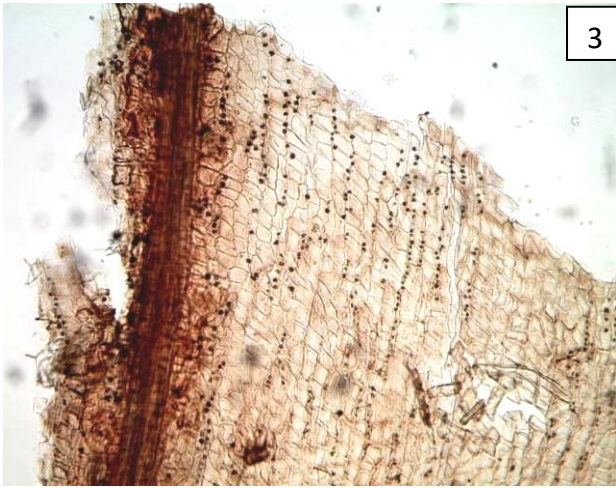


Рисунок 2 – Горца щавелелистного трава

1 - фрагмент раструба: пленчатые волоски (ув. $\times 100$), 2 - нитевидные волоски (ув. $\times 100$), 3 – фрагмент раструба: друзы оксалата кальция (ув. $\times 100$), 4 - фрагмент листовой пластинки: пучковые волоски по краю листа, нитевидные волоски и друзы оксалата кальция (ув. $\times 100$), 5 - фрагмент эпидермиса листа (верхняя сторона) крупные друзы оксалата кальция, 6 - клетки эпидермиса, с железкой, имеющей 2 клеточную ножку с головкой из 14 клеток (ув. $\times 400$), 7 – фрагмент венчика с железками (ув. $\times 100$), 8 - фрагмент эпидермиса стебля с четковидными утолщениями стенок клеток, тяжи друз оксалата кальция вдоль проводящих пучков (ув. $\times 400$), 9 - фрагмент эпидермиса стебля с друзами оксалата кальция и пленчатыми волосками (ув. $\times 100$), 10 - фрагмент эпидермиса стебля с пленчатыми волосками (ув. $\times 400$)

Определение основных групп биологически активных веществ

1. Тонкослойная хроматография

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 5 мкл раствора А (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов»). Пластинку с нанесенной пробой высушивают, помещают в камеру с системой растворителей (без предварительного насыщения) этилацетат-кислота муравьиная безводная-вода (10:2:3) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, высушивают до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме исследуемого раствора должны обнаруживаться минимум пять зон адсорбции, одна зона адсорбции темно-коричневого цвета (R_f 0,96), две зоны адсорбции желтого цвета (R_f 0,68 и 0,59) и две зоны голубого цвета (R_f 0,75 и 0,49) (флавоноиды).

2. К 5 мл раствора А (см. раздел «Количественное определение. Сумма флавоноидов») прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 5 % в спирте 70%, раствор окрашивается в желто-зеленый цвет (флавоноиды).

3. 5,0 г измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 100 мл, заливают 50 мл кипящей воды и кипятят на плитке в течение 5 минут, полученное извлечение фильтруют через складчатый фильтр. К 1-3 мл фильтрата прибавляют 1 мл железа (III) аммония сульфата 1 % раствора, должно наблюдаться черно-синее окрашивание (дубильные вещества).

Испытания

Влажность. *Цельное сырье* - не более 13 %.

Зола общая. *Цельное сырье* - не более 10 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* - не более 1 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм – не более 5%; *Измельченное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм – не более 5%; *Порошок:* частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм – не более 5%, частиц, проходящих сквозь сито с диаметром

отверстий 0,18 мм – не более 5%.

Посторонние примеси

Сырье, изменившее окраску. *Цельное сырье* - не более 3%.

Грубых стеблей (в том числе отделенных при анализе). *Цельное сырье* - не более 50%.

Плоды. *Цельное сырье* - не более 10%.

Органическая примесь. *Цельное сырье* - не более 3%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье* - не более 1 %.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное и измельченное сырье.* Сумма флавоноидов в пересчете на рутин не менее 1,5 %; экстрактивных веществ извлекаемых 50% спиртом не менее 15,0%.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96 % в колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Раствор должен быть свежеприготовленным.

2% раствор алюминия хлорида. 2 г алюминия хлорида А-1 – безводного х.ч. (ТУ 6-01-2-88) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 95%, взбалтывают до растворения, доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта 70 %. Колбу присоединяют к обратному

холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. Экстракцию повторяют еще дважды, добавляя по 10 мл экстрагента. После охлаждения объем извлечения доводят спиртом 70% до метки и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, 0,5 мл раствора уксусной кислоты, разведенной и доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 40 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А, 0,5 мл раствора уксусной кислоты разведенной, и доводят спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора Б СО рутина, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, 0,5 мл раствора уксусной кислоты разведенной, и доводят спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутина, 0,5 мл раствора уксусной кислоты разведенной и доведут спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где: А – оптическая плотность комплекса суммы флавоноидов испытуемого раствора с алюминия хлоридом; A_0 – оптическая плотность РСО рутина с алюминия хлоридом; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; W – влажность сырья, %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1 из навески 10,00 г сырья, измельченного до размера частиц 10 мм).

Примечание. Определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводят в сырье, предназначенном для производства лекарственных растительных препаратов (пачки, фильтр-пакеты); определение экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 50 %, проводят для сырья, предназначенного для производства экстрактов.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

ПРОЕКТ

**Горца щавелелистного
экстракт жидкий**

**ФС
Вводится впервые**

Горца щавелелистного экстракт жидкий, получаемый из травы однолетнего травянистого растения горца щавелелистного – *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre сем. гречишных – *Polygonaceae*, применяемый в качестве лекарственного растительного препарата.

Для получения препарата необходимо:

Горца щавелелистного травы - 1000 г;

Этанола (спирта этилового) 70 % - достаточное количество для получения 1000 мл.

Описание. Прозрачная жидкость зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом.

Подлинность.**1. Тонкослойная хроматография**

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля с флуоресцентным индикатором на алюминиевой подложке размером 10×10 см наносят 3 мкл жидкого экстракта. Пластинку с нанесенными пробами высушивают, помещают в камеру с системой растворителей (без предварительного насыщения) этилацетат-кислота муравьиная безводная-вода (10:2:3) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 80 - 90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, высушивают до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме жидкого экстракта должно обнаруживаться 5 зон адсорбции с R_f 0,57 – 0,96 с желтоватой и голубой флуоресценцией (флавоноиды).

2. К 3 мл жидкого экстракта прибавляют 3 мл алюминия хлорида раствора 5 % в спирте 96%, раствор окрашивается в желто-зеленый цвет (флавоноиды).

Спирт этиловый. Не менее 64 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

Метанол и 2-пропанол. Не более 0,05% метанола и не более 0,05% 2 – пропанола. В соответствии с требованиями ОФС «В соответствии с требованиями ОФС «Определение метанола и 2-пропанола» (контролируется на стадии технологического процесса).

Сухой остаток. Не менее 3 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Тяжелые металлы. Не более 0,01 %. В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

К 1 мл препарата прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной, осторожно сжигают и прокаливают. Полученный остаток обрабатывают при нагревании 5 мл аммония ацетатом насыщенным раствором. Фильтруют через беззольный фильтр, промывают 5 мл воды и доводят объем фильтрата водой до 100 мл.

10 мл полученного раствора должны выдерживать испытания на тяжелые металлы.

«Объем содержимого упаковки». В соответствии с требованиями ОФС «Экстракты».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130-135°C в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают. Раствор должен быть свежеприготовленным.

2% раствор алюминия хлорида. 2 г алюминия хлорида А-1 – безводного х.ч. (ТУ 6-01-2-88) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 96%, взбалтывают до растворения, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 месяца.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,5 мл жидкого экстракта, добавляют 1 мл 2% раствора алюминия хлорида в 96% спирте, 0,5 мл разведенной кислоты уксусной, доводят объем раствора 96% спиртом до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 40 минут измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 0,5 мл жидкого экстракта, 0,5 мл разведенной кислоты уксусной, доведенного спиртом этиловым 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора, состоящего из 1 мл 0,05% раствора СО рутина, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 %, 0,5 мл

разведенной кислоты уксусной, доведенного спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора Б СО рутина, 0,5 мл разведенной кислоты уксусной, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в мг/мл вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot a \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100}{D_0 \cdot 0,5 \cdot 100 \cdot 25} = \frac{D_1 \cdot a}{D_0 \cdot 0,5 \cdot 100}$$

где D_1 – оптическая плотность комплекса суммы флавоноидов испытуемого раствора с алюминия хлоридом; D_0 – оптическая плотность раствора РСО рутина; a – навеска СО рутина, г.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 5 мг/мл.

Хранение. В защищенном от света месте при температуре от 8 до 15 °С.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОЕКТ

Дополнения к ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» Государственной Фармакопеи XIV издания в части микроскопического анализа свежего лекарственного растительного сырья

1. Стр. 4 ОФС, после 4 абзаца сверху, дополнение касательно определения подлинности свежего лекарственного растительного сырья:

Определение подлинности свежего лекарственного растительного сырья проводят в соответствии с ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

2. Стр.14 ОФС после 2 абзаца сверху, дополнение по проведению пробоподготовки свежего лекарственного растительного сырья к микроскопическому анализу:

Определение подлинности свежего лекарственного растительного сырья

Для микроскопирования свежего лекарственного растительного сырья объекты подлежат консервированию в спирте этиловом 95%. Необходимое количество свежего растительного сырья помещают в герметично закрывающуюся тару, заливают 96% спиртом этиловым так, чтобы фрагменты растений были скрыты под слоем жидкости («до зеркала»), количество экстрагента зависит от формы и размера исследуемых объектов. Небольшие листья, цветки используются в цельном виде, крупные части растений, такие как стебли, длинные листья частично измельчают. После обесцвечивания объект извлекают из спиртового раствора и подвергают микроскопированию с помощью светового микроскопа. В случае исследования тонких листьев и цветков, готовят препарат с поверхности. При изучении плотных листьев, черешков и стеблей, после извлечения объекта из спиртового раствора, делают поперечные срезы, которые помещают в каплю хлоралгидрата на предметном стекле и микроскопируют. При необходимости на поперечных срезах проводят гистохимические реакции.

Примечание. Для микроскопического анализа одревесневающих черешков и стеблей для придания им мягкости и эластичности допускается добавление небольшого количества глицерина (на 2 части спирта 1 часть глицерина).