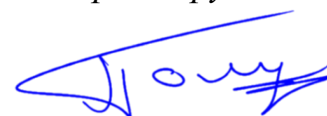


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Полуянов Андрей Михайлович

**Сравнительное изучение фенольного комплекса сырья некоторых
представителей рода *Rumex***

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук, доцент
Бобкова Наталья Владимировна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Общая характеристика представителей рода <i>Rumex</i>	16
1.2. Характеристика фармакопейного вида <i>Rumex Confertus</i> Willd. и близкородственных видов	18
1.3. Использование близкородственных видов в качестве источника лекарственного растительного сырья	26
1.4. Подходы к анализу антраценпроизводных, флавоноидов и дубильных веществ в оценке качества лекарственного растительного сырья	31
1.5. Химический состав растений рода <i>Rumex</i>	35
1.6. Оценка динамики накопления биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье	38
1.7. Биологическое действие соединений представителей рода <i>Rumex</i>	41
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	50
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	52
2.1. Объекты исследования	52
2.2. Оборудование и программное обеспечение	53
2.3. Реактивы и стандартные образцы.....	54
2.4. Морфолого-анатомическое изучение.....	56
2.5. Фитохимическое изучение	56
2.5.1. Антраценпроизводные	58
2.5.2. Флавоноиды	59
2.5.3. Дубильные вещества.....	60
2.5.4. Аминокислоты	62
2.6. Антирадикальная активность.....	63
2.7. Антибактериальная активность	64
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	65

3.1. Внешние признаки	65
3.2. Анатомо-диагностические признаки.....	69
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	77
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	78
4.1. Антраценпроизводные	78
4.2. Флавоноиды	82
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	86
ГЛАВА 5. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>RUMEX</i>	87
5.1. Антраценпроизводные	87
5.2. Флавоноиды	94
5.3. Дубильные вещества.....	98
5.4. Аминокислоты	107
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	111
ГЛАВА 6. АНТИРАДИКАЛЬНАЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>RUMEX</i>	113
6.1. Антирадикальная активность.....	113
6.2. Антибактериальная активность	116
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	125
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	126
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	127
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	130
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	131
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	132
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	133

Приложение А. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику учебной работы ФГБОУ ВО Первый Московский Государственный Медицинский Университет имени И.М. Сеченова Министерства Здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)	146
Приложение Б. Акт внедрения в научно-исследовательскую деятельность Общества с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики»	147
Приложение В. Акт внедрения в научно-исследовательскую деятельность Общества с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс»	148
Приложение Г. Проект нормативного документа по заготовке сырья <i>Rumex</i>	149
Приложение Д. Проект фармакопейной статьи для сырья «Корни щавеля»	154

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Одним из основных направлений современной отечественной фармации является создание эффективных и безопасных лекарственных субстанций, в том числе растительного происхождения. Исследование химических компонентов растений отечественной флоры, поиск новых источников биологически активных веществ, оценка спектра их фармакологической активности – актуальные задачи фармакогнозии. Решение этих задач позволит увеличить ассортимент лекарственных препаратов отечественного производства.

Растения из семейства Гречишных (*Polygonaceae*) занимают значительное место среди разрешенных растительных источников для фармацевтических субстанций. Среди них можно выделить такие роды, как *Polygonum*, *Persicaria*, *Rheum*, *Fagopyrum* и *Rumex*. В настоящее время в Российской Федерации (РФ) разрешен к медицинскому применению лишь один представитель рода щавель – щ. конский (*Rumex confertus* Willd.), изучен его химический состав и разработаны показатели качества. Сырье корни щавеля конского входит в состав противоопухолевого сбора М.Н. Здренко и различных биологических активных добавок (БАД), лекарственных препаратов, содержащих данное лекарственное растительное сырье (ЛРС) в составе в настоящее время в РФ не зарегистрировано.

Вместе с тем известно, что наряду с щ. конским схожие ареалы имеют другие представители этого рода: щ. водный (*Rumex aquaticus* L.), щ. курчавый (*Rumex crispus* L.), щ. туполистный (*Rumex obtusifolius* L.). Данные виды являются весьма перспективными для изучения с целью возможного расширения сырьевой базы, а также, как новые источники биологически активных соединений (БАС).

Особый интерес представляет исследование потенциальной антимикробной активности экстрактов из корней представителей рода *Rumex*, имеющих в составе ряд соединений полифенольной природы – антраценпроизводные, дубильные

вещества, стильбены. Эти результаты представляют особую актуальность в свете проблемы резистентности микроорганизмов к антибиотикам, озвученной в докладе Всемирной организации здравоохранения, опубликованном 13 октября 2020 г («Устойчивость к противомикробным препаратам»).

Степень разработанности темы исследования

В РФ корни щавеля конского (*Rumicis conferti radices*) являются официальным лекарственным растительным сырьём, которое включено в Государственную Фармакопею (ГФ) РФ. Для данного сырья определены нормы подлинности, чистоты и доброкачественности. Оно идентифицируется макро- и микроскопическими методами анализа и качественному определению БАС методом тонкослойной хроматографии. Количественно в корнях щавеля конского определяется сумма антраценпроизводных, методом является спектрофотометрия, а пересчёт содержания проводится на 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмодина. Недостатком статьи является отсутствие показателей качества для измельченного сырья и порошка.

Комплексному фармакогностическому изучению корней щавеля конского была посвящена диссертация Зайцевой Н.В. (Самара, 2014). Учеными разных стран изучался химический состав растений других видов рода В основном эти исследования были направлены на сравнение содержания производных антрацена (Медицинский университет, Люблин, Польша, 2007; Корейский институт восточной медицины, Тэджон, Южная Корея, 2017).

Для отдельных видов – *Rumex crispus* L. и *Rumex obtusifolius* L. была изучена динамика накопления полифенолов, катехинов, лейкоантоцианов и антоцианов в зависимости от стадии жизненного цикла растения (Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия, 2017).

В публикациях встречаются сведения об антиоксидантном, противовоспалительном, противовирусном и антибактериальном свойствах

экстрактов из корней представителей рода *Rumex* (Университет Ольстера, Северная Ирландия, 2010; Южно-Центральный Национальный университет Китая, 2015; Фармацевтический колледж Университета Чунг Ан, Сеул, Южная Корея, 2016).

Однако комплексные сравнительные исследования состава соединений фенольной природы и изучение биологической активности самых распространенных видов рода *Rumex* – щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного Европейской части России не проводили.

Цель и задачи исследования

Целью исследования являлось сравнительное фармакогностическое изучение подземных органов четырех близкородственных представителей рода *Rumex*: щ. конский, щ. курчавый, щ. туполистный и щ. водный для расширения сырьевой базы источников лекарственного растительного сырья и совершенствования нормативной документации.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Провести информационно-аналитическое изучение научной литературы и нормативной документации, посвященной объектам исследования, их фитохимическому составу и биологической активности.
2. Сравнить анатомическое строение цельных, измельченных и порошкованных корней щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного, щ. водного, определить их диагностические признаки для установления критериев подлинности.
3. Разработать методику количественного определения индивидуальных фенольных соединений (антраценпроизводных и флавоноидов) в сырье щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного, щ. водного.
4. Провести сравнительное изучение качественного состава основных групп БАС фенольной природы (антрахинонов, флавоноидов и дубильных веществ) подземных органов четырех видов рода *Rumex*.

5. Выявить закономерности в динамике накопления фенольных соединений в сырье щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного, щ. водного, заготовленном в разные сроки вегетации.
6. Провести сравнительную оценку антирадикальной и антибактериальной активности извлечений из подземных органов объектов изучения.
7. Предложить дополнения к существующим нормативным документам: инструкции по заготовке сырья и фармакопейной статье.

Научная новизна

Впервые установлены морфолого-анатомические признаки цельного, измельченного сырья и порошка щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного. Выявлены и визуализированы диагностически значимые признаки, позволяющие установить подлинность сырья.

Разработаны методики количественного определения индивидуальных антраценпроизводных и флавоноидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в спирто-водных извлечениях из сырья щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного различных фаз заготовки.

Впервые проведен сравнительный фитохимический анализ и получены результаты качественного и количественного содержания соединений фенольной природы в подземных органах изучаемых видов различных фенологических фаз с использованием современных физико-химических методов анализа: тонкослойной хроматографии (ТСХ), спектрофотометрии (СФМ), ВЭЖХ. Впервые обнаружены закономерности в динамике накопления фенольных соединений в зависимости от фенологической фазы развития растения.

Выявлена высокая антирадикальная активность спирто-водных извлечений в отношении 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ). Экспериментально доказано наличие антибактериального действия в отношении 25 штаммов поли-

и панрезистентных бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные автором работы результаты изучения морфолого-анатомического строения, состава фенольных соединений и динамики их накопления использованы при разработке проектов: Инструкции по заготовке и сушке лекарственного растительного сырья и фармакопейной статьи на лекарственное растительное сырье «корни щавеля», которые были дополнены новыми производящими растениями.

Разработанные в ходе диссертационной работы методики анализа на базе метода ВЭЖХ позволили получить новую информацию о качественном и количественном составе индивидуальных соединений фенольной природы в подземных органах щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного различных фенологических фаз. Методики также могут служить основой для дальнейшего фитохимического анализа фенольного комплекса в ЛРС.

Результаты изучения антирадикальной активности и противомикробного действия спирто-водных извлечений позволяют расширить область применения растительного сырья щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного.

Методология и методы исследования

Методология диссертационного исследования основана на комплексном подходе, включающем: поиск, систематизацию и обработку научных данных о макро- и микроскопических внешних признаках, физико-химических и биологических свойствах соединений фенольной природы; обосновании выбора методов, способов пробоподготовки и условий хроматографического (ВЭЖХ

и ТСХ) и спектрофотометрического определения антраценпроизводных флавоноидов и дубильных веществ в сырье, с использованием фармакопейных и впервые разработанных методик анализа; определении антирадикальной и антибактериальной активности в подземных органах четырех представителей рода щавель: щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного, заготовленных в различные фенологические фазы.

Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с актуальными требованиями нормативной документации (ГФ XV, фармакопея ЕАЭС) и с применением программы MS Excel 2019. Первичные данные обрабатывали при помощи программного обеспечения LabSolutions, 5.91 (Shimadzu Corporation, Япония), Хроматэк Аналитик 3.1, (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия) и Концентрация 4.0 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Личный вклад автора

Автором была изучена литература, выбраны объекты исследования – фармакопейное сырье корни щ. конского (*Rumex confertus* Willd.) и сырье близкородственных видов: корни щ. курчавого (*Rumex crispus* L.), щ. туполистного (*Rumex obtusifolius* L.) и щ. водного (*Rumex aquaticus* L.). Автор лично осуществлял заготовку сырья в 2021-2022 году в Московском регионе, проводил сушку и все этапы пробоподготовки сырья, включая его измельчение и получение извлечений для последующего фитохимического и анатомо-морфологического изучения с использованием гистохимических реакций.

Разработка методик количественного анализа антраценпроизводных и флавоноидов методом ВЭЖХ, воспроизведение методик качественного и количественного определения дубильных веществ и аминокислот с использованием таких методов, как ТСХ и СФМ, выгрузка первичных данных и статистическая обработка результатов эксперимента исследования выполнялась лично автором исследования.

Постановка эксперимента по оценке антибактериальной активности осуществлялась автором диссертационной работы и включала этапы идентификации изучаемых бактерий, работу с культурой клеток и интерпретацию полученных результатов. Исследование антирадикальной активности в отношенииДФПГ выполнялись лично автором.

Диссертантом написаны главы диссертационной работы и автореферата. Результаты проведенных исследований были доложены в научных публикациях и внедрены в практику научно-практических и образовательных учреждений непосредственно автором.

Положения, выносимые на защиту

- Результаты морфолого-анатомического изучения цельного, измельченного сырья и порошка четырех представителей рода *Rumex*: щ. конского (*Rumex confertus* Willd.), щ. курчавого (*Rumex crispus* L.), щ. туполистного (*Rumex obtusifolius* L.) и щ. водного (*Rumex aquaticus* L.).
- Методика ВЭЖХ-УФ, разработанная для количественного определения 8-*O*- β -D-глюкозид эмолина, эмолина, хризофановой кислоты и фисциона в спирто-водных извлечениях, полученных из сырья щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного различных фенологических фаз.
- Результаты сравнительного изучения динамики накопления фенольных соединений на примере групп БАС – антраценпроизводные, флавоноиды и дубильные вещества для сырья щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного, трёх фенологических фаз развития.
- Результаты экспериментальной сравнительной оценки антирадикальной активности в отношении ДФПГ извлечений, полученных из сырья щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного, трёх фенологических фаз развития.
- Результаты экспериментальной сравнительной оценки антибактериальной активности в отношении *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*,

Klebsiella pneumoniae, *Pseudomonas aeruginosa* извлечений, полученных из сырья щ. конского, щавеля курчавого, щавеля туполистного и щ. водного, трёх фенологических фаз развития.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют п. 3 и п. 6 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности результатов диссертационной работы подтверждается применением современных физико-химических методов фитохимического анализа; использованием поверенного оборудования и реактивов надлежащего качества; достаточной выборкой экспериментального материала, такого как: сырье щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного, трёх фенологических фаз развития (отрастания надземной части, цветения и отмирания надземной части); актом проверки первичной документации; изучением и использованием в качестве теоретической базы трудов зарубежных и отечественных ученых; выводы по диссертационной работе согласуются с результатами проведенных исследований.

Основные положения диссертационного исследования были доложены на IX Международном молодёжном научном медицинском форуме «Белые цветы» в Казанском государственном медицинском университете (Казань, 2022), на XI Международной научной конференции «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» в Южно-Казахстанской медицинской академии (Шымкент, Республика Казахстан, 2022), на XXIV Международном Съезде ФИТОФАРМ в Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете

(Санкт-Петербург, 2023), на научной конференции «Достижения и перспективы создания новых лекарственных средств растительного происхождения» на базе Всероссийского института лекарственных и ароматических растений ВИЛАР (Москва, 2024), на II международной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии – 2024» в Институте фармации им. А. П. Нелюбина Сеченовского Университета (Москва, 2024). Доклад, посвященный количественной оценке содержания суммы соединений из группы антраценпроизводные в подземных органах щавелей: «накопление антраценпроизводных в подземных органах некоторых представителей рода *Rumex*», отмечен дипломом лауреата конкурса научных работ молодых ученых в рамках 28-й Международной научно-практической конференции молодых ученых (Казань, 2022).

Апробация работы прошла на заседании кафедры фармацевтического естествознания имени А.П. Арзамасцева института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 2 от 19.09.2025).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 6 работ, в том числе 4 научные статьи в журналах, включенных в международные, индексируемые базы данных Scopus, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Внедрение результатов в практику

Разработанная методика и результаты количественного определения групп антраценпроизводные и флавоноиды в ЛРС использованы в учебном процессе кафедры фармацевтического естествознания ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Акт № 530 от 01.11.2024, Приложение А. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику учебной работы ФГБОУ ВО Первый Московский Государственный Медицинский Университет имени И.М. Сеченова Министерства Здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)). Методика количественного определения флавоноидов методом ВЭЖХ-УФ в спиртовых извлечениях из растительных объектов внедрена в научно-исследовательскую деятельность Общества с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (Акт от 21.11.2024, Приложение Б. Акт внедрения в научно-исследовательскую деятельность Общества с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики»). Методика количественного определения соединений из группы антраценпроизводных методом ВЭЖХ-УФ в спиртовых извлечениях из растительных объектов внедрена в научно-исследовательскую деятельность Общества с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс» (Акт № 40–24 от 14.11.2024, Приложение В. Акт внедрения в научно-исследовательскую деятельность Общества с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс»). На основании проведенных исследований по фитохимическому изучению перспективного растительного сырья разработан проект нормативного документа по заготовке сырья (Приложение Г. Проект нормативного документа по заготовке сырья *Rumex*) и проект фармакопейной статьи (Приложение Д. Проект фармакопейной статьи для сырья «Корни щавеля»).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки

Диссертационная работа была выполнена в рамках плана и в соответствии с тематикой научно-исследовательской работы кафедры фармацевтического естествознания Института Фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по теме: «Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья, лекарственных сборов, лекарственных форм из сырья и разработка методов их стандартизации с учетом влияния антропогенных факторов, оценки качества и сертификации» (номер государственной регистрации 01.2.006 06352).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 166 страницах печатного текста, включает в себя разделы: «Введение», «Литературный обзор», «Объекты и методы», четыре отдельные главы, содержащие основные результаты исследовательской работы, обобщенные выводы по работе, список сокращений и условных обозначений, список литературы и 4 приложения. Работа иллюстрирована 89 рисунками, содержит 32 таблицы, библиография включает 109 источников, в том числе 74 зарубежных и 35 отечественных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая характеристика представителей рода *Rumex*

Семейство гречишные (*Polygonaceae*), включает более 50 родов и около 1000 видов. Распространенность этих двудольных растений повсеместная, но часто они произрастают в умеренных зонах Северного полушария. Среди основных представителей – многолетние и однолетние травы, хотя встречаются также и древесные формы [1,2].

Род **щавель** (*Rumex*) широко распространённый представитель семейства Гречишные (*Polygonaceae*) в мире, и, в частности, на территории Российской Федерации. Этот род впервые был описан Карлом Линнеем в 1753 году. Согласно таксономической характеристике по данным на март 2025 года, род *Rumex* объединяет 152 принятых вида [3]. Глобальный информационный фонд по биоразнообразию отмечает 514 подтвержденных видов растений рода *Rumex* [4].

Систематика Рода *Rumex*, согласно современной базе данных «Плантариум»: род *Rumex* Щавель, отдел *Magnoliophyta*, класс *Magnoliopsida*, порядок *Polygonales*, семейство *Polygonaceae*, род: *Rumex* [5].

Род *Rumex* в пособии «Флора средней полосы европейской части России» П.Ф. Маевского (11-е издание, 2014) описан следующим образом: травянистые многолетние, реже однолетние растения. Листья очередные, цельные, часто со стреловидным или копьевидным основанием. Цветки мелкие, зеленоватые или красноватые, собраны в метельчатые или кистевидные соцветия. Околоцветник простой, 6-листный, 3 наружных мельче и уже, 3 внутренних после цветения увеличены, нередко с мозолистым овальным желвачком, иногда зубчатые по краю и скрывают плод — трёхгранный орешек, окружённый разросшимися внутренними листочками околоцветника (так называемыми «крыльями»), тычинок 6, рыльца перистые [6]. В сумме определитель описывает **21 таксон**, среди которых: 5 однолетних (*R. bucephalophorus*, *R. dentatus*, *R. marschallianus*, *R. maritimus*,

R. ucranicus), 16 многолетних (*R. acetosella*, *R. acetoselloides* – подвид/близкая форма, *R. thyrsoflorus*, *R. tuberosus*, *R. acetosa*, *R. rugosus* – культурная форма *R. acetosa*, *R. fontano-paludosus* – болотная форма *R. acetosa*, *R. confertus*, *R. aquaticus*, *R. longifolius*, *R. pseudonatronatus*, *R. obtusifolius*, *R. stenophyllus*, *R. hydrolapathum*, *R. salicifolius*, *R. patientia*, *R. crispus*). Также приведён 1 гибрид – *R. × fallacinus* Hausskn. (*R. crispus* × *R. maritimus*). Все приведенные виды можно сгруппировать по типу строения подземных органов, приведенному в Таблице 1.

Таблица 1 – виды строения подземных органов щавелей, произрастающих в средней полосе России

Классификация	Примеры
Виды с корневыми отпрысками (корневищные и корнеотпрысковые формы)	<i>R. acetosella</i> (щ. кисленький) и <i>R. acetoselloides</i> (щ. кисловатый) – корнеотпрысковые многолетники, <i>R. acetosa</i> (щ. кислый) – с косым корневищем и мочковатой корневой системой, у культурной формы (<i>R. rugosus</i>) – короткое толстое корневище (до 5–10 мм в диаметре), у болотной формы (<i>R. fontano-paludosus</i>) – длинное тонкое корневище, <i>R. confertus</i> (щ. конский) – мощный многолетник, с развитой корневой системой.
Виды с мочковатой корневой системой	<i>R. tuberosus</i> (щ. клубненосный) – мочковатая корневая система с веретеновидными утолщениями, <i>R. longifolius</i> (щ. длиннолистный) – многолетник, вероятно, с мочковатыми корнями (по экологии сырых лугов).
Виды со стержневым корнем (однолетние и некоторые многолетние)	<i>R. dentatus</i> (щ. зубчатый) – однолетник со стержневым корнем, <i>R. maritimus</i> (щ. морской) – однолетник со стержневым корнем, <i>R. ucranicus</i> (щ. украинский) – однолетник со стержневым корнем, <i>R. aquaticus</i> (щ. водный) и <i>Rumex obtusifolius</i> (щавель туполистный) – многолетники со стержневым корнем.
Виды с клубневидными утолщениями на корнях	<i>R. tuberosus</i> (щ. клубненосный) – корни с веретеновидными утолщениями.
Виды с длинными корневищами	<i>R. hydrolapathum</i> (щ. прибрежный) – мощный многолетник, с длинными корневищами (по экологии прибрежных зон), <i>R. patientia</i> (щ. шпинатный) – крупный многолетник, с развитым корневищем, <i>R. pseudonatronatus</i> (щ. ложносолончаковый) характеризуется вертикальным веретеновидным корневищем.

Обобщая Таблицу 1, приведенную выше – подземные органы у щавелей варьируют в зависимости от жизненной формы и экологии: корневища (горизонтальные или косые) – у многолетних луговых и болотных видов: *R. acetosa* и *R. confertus*, корневые отпрыски – у сорных и луговых видов, например, *R. acetosella*, стержневой корень – у однолетников: *R. maritimus* и *R. dentatus*, клубневидные утолщения – у *R. tuberosus*.

Представители рода встречаются на всех континентах, фактически это растение-космополит. Предпочитает селиться в умеренных широтах северного полушария, типичный мезофит. Обычно произрастает на опушках леса и склонах оврагов, по берегам рек, ручьёв и озёр, у болот, на лугах. Расселяется в сельскохозяйственных угодьях как сорняк, у жилья человека — как рудеральное растение. Некоторые виды щавеля выращиваются как овощные, кормовые, лекарственные и декоративные растения. Листья щавеля используют в кулинарии, а корни многих видов содержат дубильные вещества и служат сырьём для дубления кож [7, 8, 9].

1.2. Характеристика фармакопейного вида *Rumex Confertus* Willd. и близкородственных видов

Щавель конский (*Rumex confertus* Willd.) – многолетнее травянистое растение, Рисунок 1.

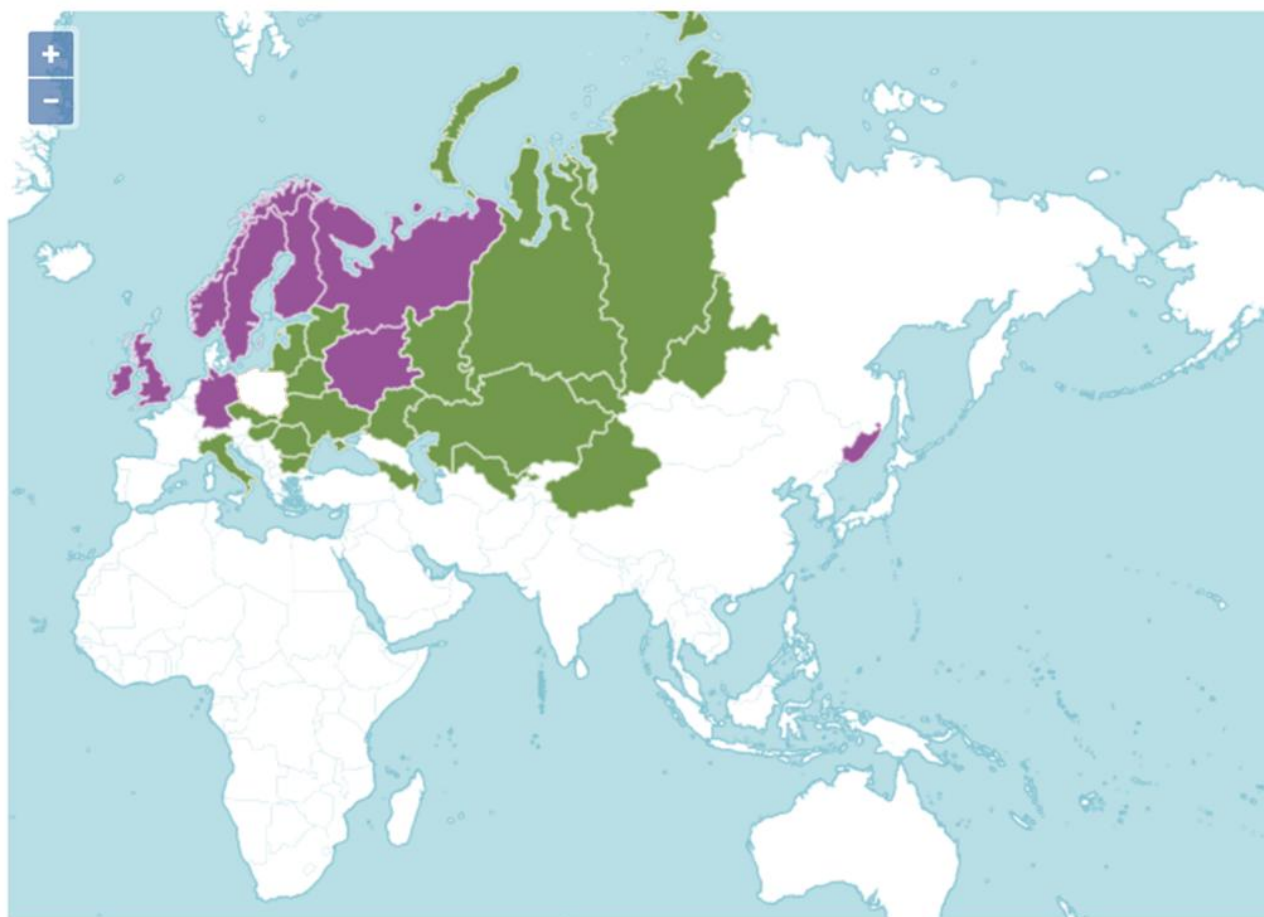
Стебель прямостоячий, высотой 60-120 см, бороздчатый, ветвистый в верхней части. Прикорневые листья с длинными черешками; их пластинки сердцевидно-яйцевидные или широко-яйцевидные, длиной 10-30 см и шириной 2-20 см, тупые, по краям несколько волнистые; стеблевые листья более узкие, при основании тупые или слабосердцевидные; листья снизу по жилкам, как и все растение, с сосочками, переходящими в волоски. Соцветие узкометельчатое, довольно густое. Внутренние листочки околоцветника округлые, длиной 6-7 мм, слегка сердцевидные в основании, на верхушке немного оттянутые, по краю

туповато-зубчатые, один листочек с желвачком, плоды длиной 3,5-4,2 мм и шириной около 2 мм, красновато-бурые. Цветет с июня до августа, плоды созревают в июле-сентябре.



Рисунок 1 – Внешний вид цветущего растения щ. конского

Ареал вида располагается в пределах Европы и северной Азии; занесен в Северную Америку и во многие другие страны. В России распространен по всей территории европейской части и Сибири (кроме арктических районов), а также на юге Дальнего Востока. Обыкновенное растение во всех среднерусских областях [10]. Растет по берегам водоемов, лугам, дорогам, в поселках, на пустырях. На Рисунке 2 представлен ареал произрастания щ. конского на мировой карте.



- Местный вид
- Интродуцированный вид

Рисунок 2 – Ареал распространения щ. конского (*Rumex confertus* Willd)
Изображение из открытого источника: <https://powo.science.kew.org/>

Щавель курчавый (*Rumex crispus* L.) – многолетник с прямостоячим, неглубокобороздчатым стеблем высотой до 100-120 см, в соцветии прижатого-волосистым, Рисунок 3.

Листовые пластинки длиной 6-30 см и шириной 1,5-4 см, ланцетные, линейно-ланцетные или продолговатые, длиннозаостренные, в основании закругленные или тупые, по краям сильно волнистые, курчавые. Соцветие узкометельчатое, густое. Цветоножки с утолщенными сочленениями в средней и нижней части. Внутренние листочки околоцветника при плодах почти округло-яйцевидные, длиной 5-6 мм и 4-10 мм шириной, при основании сердцевидные или как бы обрубленные, почти цельнокрайние, все или только один с желвачком. Плоды 2-2,5 мм длиной и 1,2-1,5 мм шириной, красно-бурые. Цветет в июне-июле, плоды созревают в июле-августе.



Рисунок 3 – Внешний вид цветущего растения щ. курчавого

Широко распространен в северном полушарии. В России встречается почти по всей территории европейской части, а также преимущественно в южных районах Сибири и Дальнего Востока. В средней России обычен во всех областях [11]. Растет на лугах, по берегам водоемов, обочинам дорог, на пустырях и в поселках. На Рисунке 4 представлен ареал произрастания щ. курчавого на мировой карте.

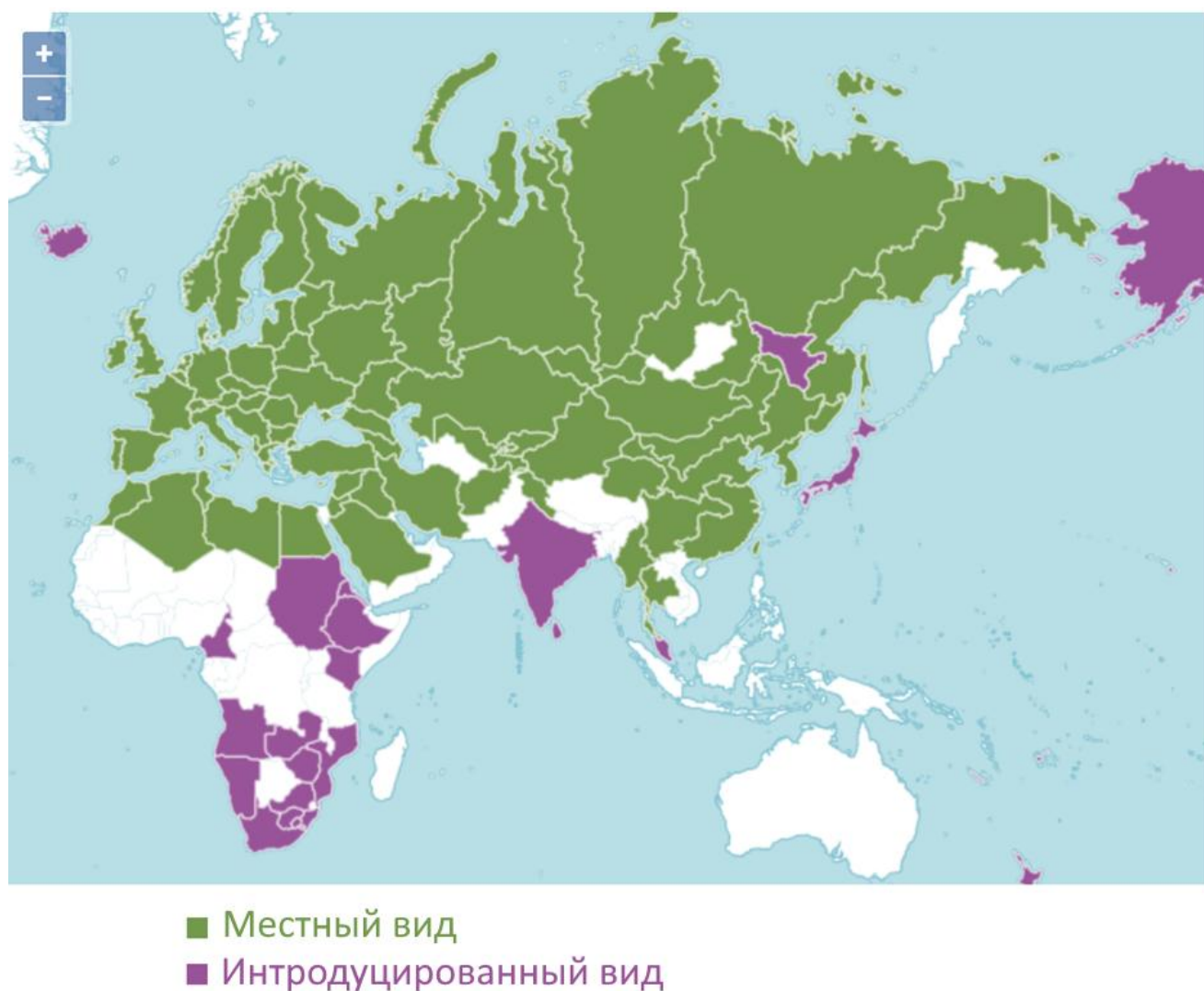


Рисунок 4 – Ареал распространения щ. курчавого (*Rumex crispus* L.)
Изображение из открытого источника: <https://powo.science.kew.org/>

Щавель туполистный (*Rumex obtusifolius* L.) – многолетнее растение с прямым, бороздчатым, ветвящимся в верхней половине стеблем высотой до 120 см, Рисунок 5.

Пластинки прикорневых листьев длиной до 25 см и шириной до 12 см, темно-зеленые, блестящие, продолговато-яйцевидные, тонкие, нежные, плоские, на верхушке туповатые, в основании сердцевидные, голые или слабо опушенные, на длинных тонких черешках; верхние стеблевые листья мельче, овально-ланцетные, с сердцевидным основанием и туповатой верхушкой, короткочерешковые. Соцветие метельчатое с отклоненными и поникающими веточками, олиственное, с расставленными рыхлыми мутовками цветков. Цветки зеленые. Внутренние листочки околоцветника при плодах длиной 2-3 мм

и шириной 1,5-2 мм, овально- или яйцевидно-треугольные, в нижней части по краям зазубренные, темно-бурые; один из листочков или все с желвачками, которые к созреванию плода становятся темно-красными, редко листочки околоцветника без желвачков. Цветет в июне-июле, плодоносит в июле-августе.



Рисунок 5 – Внешний вид цветущего растения щ. туполистного

Распространен в Европе, Малой Азии, на Кавказе, в Иране. В России встречается во многих районах европейской части и на Северном Кавказе. Обыкновенное растение во всех областях Средней России. Растет по сорным местам, в сырых лесах, среди кустарников, в парках и садах, по обочинам дорог, на пустырях [11]. На Рисунке 6 представлен ареал произрастания щ. курчавого на мировой карте.

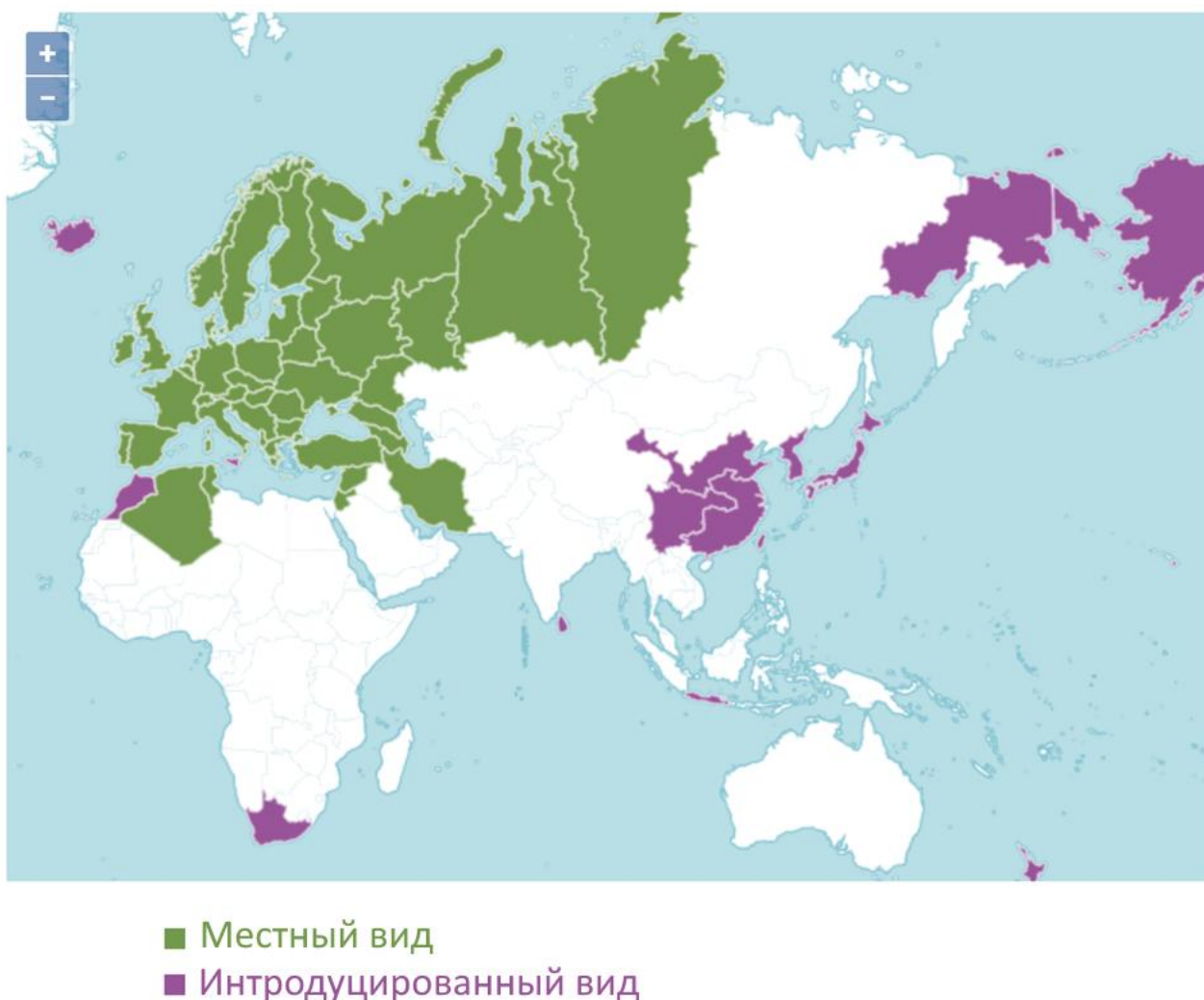


Рисунок 6 – Ареал распространения щ. туполистного (*Rumex obtusifolius* L.)
Изображение из открытого источника: <https://powo.science.kew.org/>

Щавель водный (*Rumex aquaticus* L.) Многолетник с прямостоячим бороздчатым стеблем высотой 30–120 см, Рисунок 7.

Пластинки прикорневых листьев длиной 10-30 см и шириной 4-12 см, яйцевидные, продолговато-яйцевидные или ланцетные, при основании сердцевидные, с вниз направленными базальными лопастями; стеблевые листья более мелкие, короткочерешковые. Соцветие метельчатое, с прижатыми веточками и немногими прицветными листьями в нижней части; боковые веточки в нижней части соцветия отходят от оси обычно по три. Внутренние листочки околоцветника при плодах широкояйцевидные, длиной 5-6 мм, цельнокрайние или внизу туповато-зубчатые, все без желвачков. Плоды длиной 3-3,5 мм и шириной 1,5-1,7 мм, темно-бурые. Цветет в июне-июле, плодоносит в июле-августе [11].



Рисунок 7 – Внешний вид цветущего растения щ. водного

Ареал вида охватывает Европу и северную Азию. Распространен в России во многих районах европейской части, Сибири и Дальнего Востока. В средней России встречается во всех областях. Растет на болотах, болотистых лугах, по берегам водоемов, на прибрежных песках и галечниках. На Рисунке 8 представлен ареал произрастания щ. водного на мировой карте.



■ Местный вид
■ Вымерший вид

Рисунок 8 – Ареал распространения щ. водного (*Rumex aquaticus* L.)
Изображение из открытого источника: <https://powo.science.kew.org/>

1.3. Использование близкородственных видов в качестве источника лекарственного растительного сырья

Изучение филогенетически близких видов растений – одна из актуальных задач современной фармакогнозии. Источником получения лекарственного растительного сырья может служить как единственный вид производящего растения, так и несколько близкородственных видов.

Сходство или различие химического состава является определяющим при выборе производящих растений, отнесении объекта к допустимым или недопустимым примесям, и как следствие – необходимость объективных

фармакопейных методов оценки чистоты сырья при проведении контроля качества [12].

Существует два подхода при формировании фармакопейных статей на лекарственное растительное сырье: заготовка одного наименования сырья из различных видов производящих растений в рамках расширения сырьевой базы или выделение и обособление лекарственных растений с формированием частных фармакопейных статей на сырье конкретных видов. При изучении актуальных фармакопейных статей на лекарственное растительное сырье из XIV и XV изданий Государственной фармакопеи РФ можно отметить, что среди 129 актуальных действующих статей только одно производящее растение фигурирует в 80% документов (103 фармакопейных статьи), а два и более – лишь в 26 статьях, что соответствует 21% от общего числа проанализированных ФС (Рисунок 9).

При анализе сырья, которое заготавливают от нескольких производящих растений наиболее частые случаи, когда сырье заготавливают от двух производящих растений, например: трава пустырника, цветки липы, почки березы и др. Встречаются примеры, когда содержание веществ между близкородственными видами сходно и для сырья указано более двух производящих растений, например, сырье лопуха корни («Лопуха корни *Arctii radices*, ФС.2.5.0025.15), включающее три производящих растения или сырье плоды боярышника («Боярышника плоды *Crataegi fructus*», ФС.2.5.0061) можно заготавливать от двенадцати различных культивируемых и дикорастущих близкородственных видов растений, которые приведены в фармакопейной статье.

Важно отметить, что для некоторых видов сырья включены недопустимые к заготовке лекарственные растения со схожими анатомо-морфологическими признаками, но отличающиеся по химическому составу содержащихся веществ. Среди актуальных фармакопейных статей из XIV и XV изданий государственной фармакопеи РФ можно отметить у нескольких объектов сырья раздел недопустимые примеси, в том числе, токсичных растений, а также нежелательных к заготовке близкородственных видов (органическая примесь), представленный в Таблице 2.

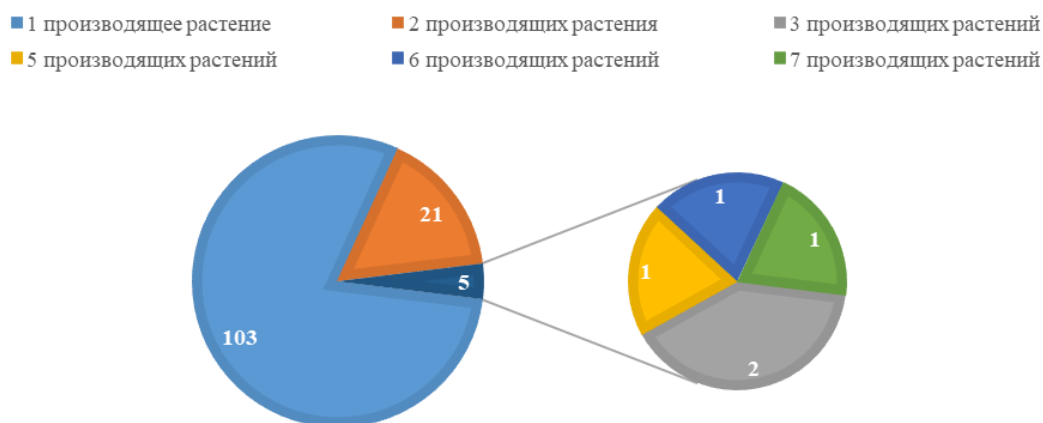


Рисунок 9 – Диаграмма распределения фармакопейных статей на растительное сырье, содержащих 1 и 2 или более наименований производящих растений

Таблица 2 – Примеси в сырье, регламентируемые ФС

Нормативный документ	Недопустимая примесь
Листья крапивы двудомной <i>Urticae dioicae folia</i> (ФС.2.5.0019.15)	Крапива жгучая (<i>Urtica urens</i>), Крапива коноплевая (<i>Urtica cannabina</i>), Яснотка белая (<i>Lamium album</i>)
Подорожника большого листа <i>Plantaginis majoris folia</i> (ФС.2.5.0032.15)	Подорожник средний (<i>Plantagomedia L.</i>), Подорожник ланцетный (<i>Plantagolanceolata L.</i>)
Трава череды трёхраздельной <i>Bidenti stripartitae herba</i> (ФС.2.5.0037.15)	Черода лучистая (<i>Bidens radiata Thuill.</i>), Черода поникшая (<i>Bidens cernua L.</i>)
Хвоща полевого трава <i>Equiseti arvensis herba</i> (ФС.2.5.0045.15)	Хвощ лесной (<i>Equisetum sylvaticum L.</i>), Хвощ луговой (<i>Equisetum pratense L.</i>), Хвощ речной (<i>Equisetum fluviatile L.</i>), Хвощ болотный (<i>Equisetum palustre L.</i>)

Контроль присутствия примесных объектов с близкими анатомо-морфологическими признаками в некотором сырье связан, как с отсутствием биологического действия у примесей, например, *E. pratense* (хвощ луговой), который морфологически схож с официальным *E. arvensis* (хвощ полевой), но вместе с тем не имеет доказанной фармакологической активности, так и с токсичностью, например, *E. palustre* и *E. sylvaticum* содержат алкалоиды (никотин, палюстрин), вызывающие отравления и морфологически схожи с хвощом полевым (*Equisetum arvensis*). Аналогичная ситуация связана с недопустимой примесью к корневищам с корнями первоцвета – ластовень лекарственный содержит винцетоксин — токсичное вещество [13].

Для некоторых объектов в современных документах приведена нормируемая допустимая примесь близкородственных видов, которая снижает качества сырья, но не является ядовитой. В целом, стоит отметить тенденцию к гармонизации требований контроля примесей и движение в сторону обобщению понятия «органическая примесь», и одним из примеров служит отсутствие в фармакопейной статье на сырье цветки ромашки аптечной других недопустимых видов (ромашки непахучей, пупавки полевой, пупавка собачья), которые фигурируют в ГОСТ на цветки ромашки аптечной [14].

Если обратиться к инструкции по сбору и сушке корней щавеля конского – в ней имеется указание на близких к нему примесных многолетних видов щавеля: они отличаются нижними листьями, соцветиями и количеством желвачков на листочках околоцветника [15, 16]. Отличия примесных растений приведены в Таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика примесных растений при заготовке корней Щавеля конского

Видовое наименование растения	Внешнее описание (форма нижних листьев; характер соцветия; наличие желвачков)
Щавель курчавый <i>R. crispus</i> L.	Ланцетовидные клиновидно суженные к основанию, по краю сильно волнистые; соцветие длинное, узкометельчатое, негустое, облиственное; желвачков 1-3.
Щавель пирамидальный <i>R. thyrsoiflorus</i> Fingerh.	Листья стреловидные или копьевидные; соцветие пирамидальное; желвачков нет.
Щавель длиннолистный <i>R. longifolius</i> DC.	Листья продолговатояйцевидные или яйцевидно-ланцетовидные, у основания округлые или слабо сердцевидные, по краю слегка волнистые; Соцветие густое, мало облиственное, часто начинается почти от земли; желвачков нет.
Щавель водяной <i>R. aquaticus</i> L.	Яйцевидные или продолговато яйцевидные, при основании слабо сердцевидные, с нижней стороны голые; соцветие узкометельчатое, с немногими листьями при основании; желвачков нет.
Щавель водно-щавелевый <i>R. hydrolapathum</i> Huds.	Широко-ланцетовидные, постепенно суженные к основанию, по краю сильно волнистые листья; соцветие раскидистое, широко-метельчатое, негустое, облиственное; желвачков три.

Проблема при определении примесных объектов согласно анатомо-морфологическому описанию надземной части заключается в сложности диагностирования конкретных видов в рамках массовой заготовки сырья.

В качестве примеров визуально близких объектов на которые существуют разные нормативные документы можно привести три фармакопейных растения семейства Гречишные (*Polygonaceae*), представленные морфологической группой лекарственного растительного сырья – трава, которые имеют незначительные различия в рамках морфолого-анатомического описания: горец птичий (спорыш) – (*Polygoni avicularis*), горец почечуйный (*Polygoni persicariae*) и горец перечный (*Polygoni hydropiperis*), но из которых заготавливают три отдельных вида сырья соответственно.

В разделе подлинность приведены хроматографические различия для травы горца птичьего (спорыш) – (*Polygoni avicularis*): на хроматограмме раствора СО (стандартного образца) кверцетина должна наблюдаться зона адсорбции сине-фиолетового цвета, для травы горца почечуйного (*Polygoni persicariae*) на хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться зоны адсорбции с желто-зеленой флюоресценцией: одна - на уровне зоны адсорбции СО рутина, одна - ниже зоны адсорбции СО рутина и две зоны выше зоны адсорбции СО рутина (флавоноиды), для и горца перечного (*Polygoni hydropiperis*) на хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции сине-фиолетового цвета выше зон адсорбции растворов СО кверцетина и рутина [17].

Именно поэтому необходимо при изучении подлинности изучать профиль примесных близкородственных видов растений в растительном сырье и учитывать не только морфолого-анатомические различия и ареал произрастания, но также и фитохимический состав, используя современные подходы к анализу лекарственного растительного сырья, например метод ТСХ, что особенно актуально для последующей стандартизации измельченного сырья, порошка и фармацевтических субстанций растительного происхождения.

1.4. Подходы к анализу антраценпроизводных, флавоноидов и дубильных веществ в оценке качества лекарственного растительного сырья

В Государственной фармакопее РФ XIV издания введена статья для корней щавеля взамен ВФС 42-1077-81, в том числе, с включенными методами стандартизации подлинности и количественного определения. Согласно актуальному документу, в сырье оценивается подлинность методом ТСХ в сравнении со стандартным образцом из группы антраценпроизводных и проводится количественное определение методом СФМ фенолятов в пересчёте на 8-*O*- β -*D* глюкозид эмодаина.

В зарубежных фармакопеях отсутствуют фармакопейные статьи, посвященные сырью щавеля, но согласно литературным источникам, которые будут приведены в Разделе 1.5, в сырье также содержатся вещества из группы дубильные вещества и флавоноиды. В Таблице 4 приведены основные подходы при определении подлинности и стандартизации количественного содержания основных групп БАВ антраценпроизводных, флавоноидов и дубильных веществ в фармакопейных статьях России и зарубежья.

Таблица 4 – Сравнение отечественных и зарубежных нормативных документов на лекарственное растительное сырье, содержащее группы антраценпроизводных, флавоноиды и дубильные вещества

Нормативный документ	Антраценпроизводные	Дубильные вещества	Флавоноиды
Определение подлинности			
ГФ РФ XV, частные фармакопейные статьи	ТСХ	ТСХ	ТСХ
Европейская фармакопея 6.0 и Британская фармакопея 2024 года, частные фармакопейные статьи	ТСХ	ТСХ	ТСХ

Продолжение Таблицы 4

Нормативный документ	Антраценпроизводные	Дубильные вещества	Флавоноиды
Количественный анализ			
ГФ РФ XV, частные фармакопейные статьи и ОФС.1.5.3.0008 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения»	СФМ после образования фенолятов, с определением суммы веществ в пересчете на стандартный образец	Согласно общей фармакопейной статье: титрование или СФМ с определением суммы веществ в пересчете на стандартный образец	СФМ после реакции с $AlCl_3$ с определением суммы веществ в пересчете на стандартный образец
Европейская фармакопея 6.0 и британская фармакопея 2024 года, частные фармакопейные статьи на сырье и общая фармакопейная статья «2.8.14. Определение таннинов в растительных препаратах»	СФМ после образования фенолятов, с определением суммы веществ в пересчете на стандартный образец	Согласно общей статье: СФМ с определением суммы веществ в пересчете на стандартный образец	СФМ после реакции с $AlCl_3$ с определением суммы веществ в пересчете на стандартный образец или
			ВЭЖХ -УФ индивидуальных веществ

Для сырья содержащего антраценпроизводных и флавоноиды в зарубежных фармакопейных статьях применяется метод оценки подлинности сырья – ТСХ в рамках идентификации веществ из основной группы веществ по наличию или отсутствию зон адсорбции на хроматограмме.

Сырье, содержащее танины в Государственной фармакопее РФ в рамках оценки подлинности, испытывают качественными пробирочными реакциями, но можно отметить, что в последнем издании фармакопеи XV издания качественные реакции из стандартизации были исключены. В зарубежных фармакопеях для оценки подлинности сырья, содержащего танины повсеместно используется метод ТСХ.

Существующие подходы при количественном определении и стандартизации основной группы БАВ в лекарственном растительном сырье, согласно актуальным фармакопейным статьям Государственной фармакопеи РФ XV издания, можно разделить на три основных направления: анализ суммы соединений в пересчёте на

основной компонент, поиск индивидуальных маркерных веществ инструментальными методами и определение веществ согласно общей методике с общегрупповыми реактивами указанными в фармакопейной статье, например, для определения количественного содержания дубильных веществ.

Группа антраценпроизводных количественно определяется в рамках оценки суммы веществ после реакции с гидроксидом натрия (образования фенолятов натрия) в пересчете на стандартный образец методом СФМ. При количественной оценке используется стандартный образец, наиболее близкий по структуре к мажорным соединениям в сырье, пересчёт на который осуществляется при нормировании содержания. Данный подход имеет недостаток, связанный с отсутствием возможности определения соотношения компонентов из группы антраценпроизводных в смеси веществ, что в том числе, может в дальнейшем повлиять на биологический эффект. Учитывая высокий уровень гармонизации Российской фармакопеи, в зарубежных нормативных документах (Британская фармакопея, Европейская фармакопея, Японская фармакопея) для сырья, содержащего антраценпроизводные также применяется метод спектрофотометрии для определения суммы веществ в пересчёте на основной компонент.

Сырье, содержащее дубильные вещества, как в РФ, так и в Европе стандартизуется согласно общей фармакопейной статье, которая в Государственной фармакопее РФ содержит три различных методики количественного определения суммы веществ: перманганатометрическое титрование водных извлечений (Метод 1), определение методом спектрофотометрии после реакции с фосфорномолибденово-вольфрамовым реактивом (Метод 2), а также определение методом спектрофотометрии в нативных извлечениях и адсорбируемых веществ после реакции с кожным порошком (Метод 3) [18].

В Европейской фармакопее для количественного определения дубильных веществ приведены спектрофотометрические методы после реакции с кожным порошком, а также с фосфорномолибдовольфрамовым реагентом [19].

Для количественного определения в сырье такой группы, как флавоноиды в РФ применяется метод спектрофотометрии после реакции со спиртовым раствором $AlCl_3$. Зарубежные фармакопейные статьи включают анализ методом ВЭЖХ-УФ и оценку содержания индивидуальных веществ из группы флавоноидов. В Британской Фармакопее 2024 года, Европейской фармакопее, 11 издания, дополнение 11.3 в статье для листьев гинко двулопастного, проводится количественное определение таких гликозидов флавоноидов, как: кверцетин, кемпферол и изорамнетин методом ВЭЖХ-УФ с нормированием содержания суммы определенных веществ не менее 0,5%. Если обратиться Японской фармакопее 18 издания для корней шлемника (*Scutellariae Radix*) нормируется содержание байкалина методом ВЭЖХ-УФ, не менее 10% в пересчёте на сухое сырье.

В ГФ РФ повсеместно используют спектрофотометрию, а в Европейской фармакопее — часто встречается метод ВЭЖХ, особенно для группы флавоноидов, что не исключает наличие данного метода в некоторых отечественных фармакопейных статьях, например, для сырья корневища и корни элеутерококка колючего (*Eleutherococci senticosi*), в сырье определяется элеутерозид В, не менее 0,03% [20].

Помимо этой статьи можно отметить добавление в XV издании ГФ РФ фармакопейную статью на корневища с корнями валерианы лекарственной, где в разделе количественное определение фигурирует ВЭЖХ-УФ и количественное определение индивидуального вещества – валереновой кислоты [21].

Вместе с тем существует ряд отечественных и зарубежных научных публикаций, посвящённых применению современных инструментальных методов фармацевтического и фитохимического анализа (ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-МС/МС, капиллярный электрофорез, ГХ-МС) для поиска маркерных индивидуальных соединений фенольного комплекса: антраценпроизводных, дубильных веществ и флавоноидов в растительном сырье [22, 23, 24].

1.5. Химический состав растений рода *Rumex*

Известно, что представители рода *Rumex* богаты антрахинонами, особенно в корнях. Эмодин, возможно, самый распространенный природный антрахинон, встречается у многих высших растений, грибов и лишайников. У высших растений он в основном присутствует в виде гликоконъюгатов. Эмодин, хризофановая кислота и фисцион часто встречаются в растениях одновременно.

Первое комплексное исследование антраноидов, встречающихся у видов *Rumex*, относится к 1970-м годам, когда Фейрберн и др. исследовали распределение этих соединений во всех частях растения (корни, листья и плоды) у 19 представителей рода *Rumex*, среди которых и изучаемые нами щ. курчавый, щ. конский и щ. туполистный. Доказано, что все эти виды содержат эмодин, хризофановую кислоту и фисцион во всех частях растения в свободной, *O*- и / или *C*-гликозидной формах. Корни и плоды были признаны лучшими источниками этих антрахинонов.

Салех и др. исследовали флавоноидные и антрахиноновые профили восьми видов *Rumex*, произрастающих в Египте [25]. Все надземные части демонстрировали содержание эмодина в свободной форме или в виде глюкозида. Такие производные антрона, как эмодин, хризофанол, фисцион, алоэ-эмодин, реин, барбалоин и сеннозиды А и В, были обнаружены в метанольных экстрактах корней, листьев и плодов щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного методом ВЭЖХ. Результаты показали, что в большинстве случаев именно корни были наиболее богаты антраценпроизводными, а в плодах отмечено наименьшее их присутствие. Общее содержание исследуемых соединений было самым высоким (164,01 мг/г) у щ. конского [26].

По данным Куркина В.А., корни **Щавеля конского (*R. confertus* Willd.)** содержат антраценпроизводные: эмодин и хризофанол и соответствующие антрагликозиды на их основе – 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмодина, хризофанеин и другие около 4 %. [27, 28] 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмодина является соединением, по которому

стандартизируют ЛРС согласно частной фармакопейной статье на корни щавеля конского, формула соединения представлена на Рисунке 10.

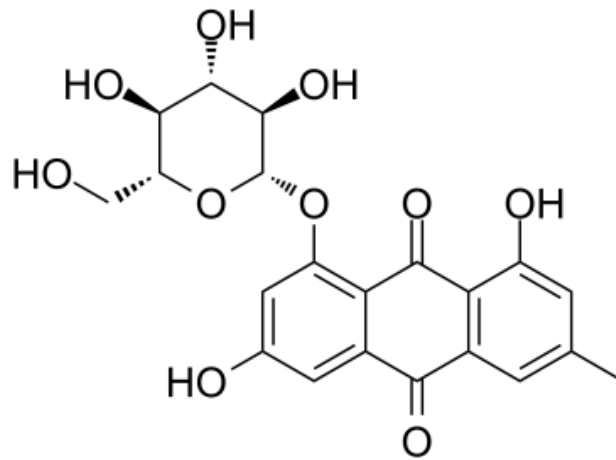


Рисунок 10 – Структурная формула 8-*O*- β -*D*-глюкозида эмодина

Из корней **Щавеля курчавого** (*R. crispus* L.) были выделены редкие гидроксильированные антрахиноны: 1,5-дигидрокси-3-метилантрахинон (зиганеин), 1,3,5-тригидрокси-6-гидроксиметилантрахинон и 1,5-дигидрокси-3-метокси-7-метилантрахинон вместе с румексоном [29]. Позже был разработан аналитический метод, основанный на мицеллярной электрокинетической хроматографии, позволивший обнаружить вышеперечисленных соединения в растительных образцах [30].

Из **Щавеля туполистного** (*R. obtusifolius* L.) были впервые выделены такие соединения, как обтусифолиат А и В, их структурные формулы приведены на рисунке 11 [31].

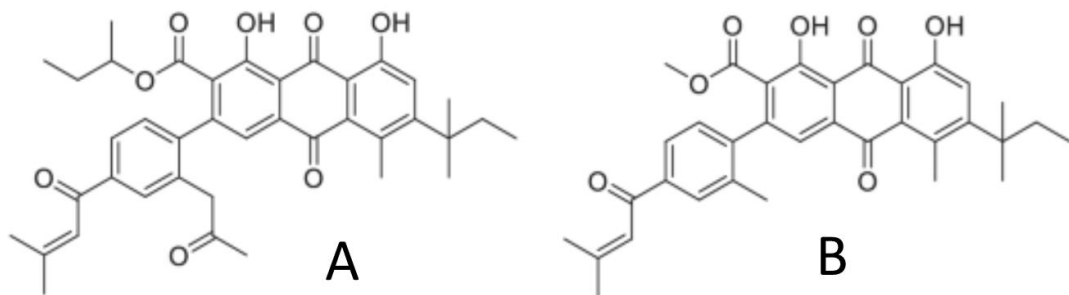


Рисунок 11 – Структурная формула обтусифолиата А и В

Ещё одним уникальным соединением, содержащемся в подземных органах щавеля туполистного является выделенный группой ученых в 2002 году антрон, получивший название румексон, а также 1,3,5-тригидрокси-6-гидроксиметилантрахинон, схожий по строению с цитреорозеином [32].

При фитохимическом исследовании надземных частей **Щавеля водного** (*R. aquaticus*) был обнаружен эмодин-8-*O*- β -*D*-глюкопиранозид [33]. Также извлечения из надземной части и корня щ.водного были подвергнуты многоступенчатой процедуре разделения в результате чего были выделены эмодин, хризофанол, фисцион, цитреорозеин, хризофанол-8-*O*-глюкозид, муцизин и его гликозид – торахризон-глюкозид, 2-метоксистиандрон, мусизин-8-*O*- β -*D*-глюкопиранозид, кверцетин, кверцетин-3,3'-диметилэфир, 5,7,4'-тригидрокси-3-метоксифлавоон, кверцетин 3-*O*-арабинозид, кверцетин 3-*O*-галактозид, катехин [34].

В Таблице 5 приведены основные фенольные соединения, содержащиеся в изучаемых представителях рода *Rumex*, а также их локализация в морфологических органах растения.

Таблица 5 – Фенольные соединения, содержащиеся в представителях рода *Rumex*

Вид	Изолированные индивидуальные вещества	Источник
щавель конский (<i>R. confertus</i> Willd.)	8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкозид эмодина, эмодин, хризофанол, фисцион, глюкофрангулин А, франгулин А, кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкуроид, эпикатехин-3- <i>O</i> -галлат, эпигаллокатехин	[35, 36, 37, 38, 39, 40]
щавель курчавый (<i>R. crispus</i> L.)	эмодин, хризофанол, фисцион, алоэ-эмодин, реин, барбалоин и сеннозиды А и В, гликозид-хризофанола, галловая кислота, хлорогеновая кислота, лютеолин, рутин, цинарозид, изорамнетин, кемпферол	[41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48]
щавель туполистный (<i>R. obtusifolius</i> L.)	эмодин, хризофанол, фисцион, хризофанол-8- <i>O</i> -глюкозид, реин	[49]
щавель водный (<i>R. aquaticus</i> L.)	эмодин, хризофанол, фисцион, эмодин-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопиранозид, хризофанол-8- <i>O</i> -глюкозид, цитреорозеин, торахризон-глюкозид, 2-метоксистиандрон, кверцетин 3- <i>O</i> -арабинозид, кверцетин 3- <i>O</i> -галактозид, катехин	[50]

При анализе найденных соединений можно отметить схожий фитохимический состав соединений фенольной природы и отсутствие явных

маркерных мажорных соединений между различными видами при достаточно широкой географии исследователей.

Следует отметить, что в рамках изучения перспективных растительных объектов зачастую требуется определение наиболее богатой определяемыми соединениями фенологической фазы развития растения.

1.6. Оценка динамики накопления биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье

Общепринятые нормы сроков заготовки подземных органов варьируют и чаще всего указаны в частных фармакопейных статьях - «поздней осенью или ранней весной».

Максимальное накопление действующих веществ в растительном сырье, приходится на определенную фазу вегетации растения, поэтому так важно соблюдение правил сбора. Подземные органы (корни, корневища, клубни и др.) могут быть собраны в любую погоду и в любое время дня. Сводная таблица сроков заготовки ЛРС, представленных подземными органами растений, основной группы БАС, а также актуальной нормативной документации для подземных органов из Государственной Фармакопеи XV и XIV изданий представлена в Таблице 6.

Таблица 6 – Сводная таблица сроков заготовки подземных органов ЛРС

№	Наименование сырья	Производящее растение	Сроки заготовки согласно фармакопейной статье	Количественное содержание, номер фармакопейной статьи
Морфологическая группа сырья: корни				
1	Аллея обыкновенного – <i>Althaeae officinalis</i> L.	Аллея лекарственный– <i>Althaea officinalis</i> L. Аллея армянский– <i>Althaea armeniaca</i> L.	Осенью или весной	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой, ФС.2.5.0001.15 (ГФ XIV)

Продолжение Таблицы 6

2	Аралии маньчжурской – <i>Araliae mandshuricae</i>	Аралия высокая (маньчжурская) – <i>Aralia elata</i>	Весной или поздней осенью	Сумма аралозидов в пересчете на аммонийную соль аралозидов А, В, С, ФС.2.5.0058.18
3	Ревеня дланевидного – <i>Rhei palmatum</i>	Ревень дланевидный – <i>Rheum palmatum</i> L.	Осенью или ранней весной, не менее 3 лет	Производные антрацена в пересчете на франгулаэмодин, ФС.2.5.0092.18
4	Лопуха– <i>Arctii</i>	Лопух большой – <i>Arctium lappa</i> L.	Осенью или ранней весной	Сумма полисахаридов в пересчете на фруктозу, ФС.2.5.0025.15
5	Одуванчика лекарственного – <i>Taraxaci officinalis</i>	Одуванчик лекарственный – <i>Taraxacum officinale</i> Wigg.	В период увядания листьев	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой, ФС.2.5.0086.18
6	Солодки – <i>Glycyrrhizae</i>	Солодка голая – <i>Glycyrrhiza glabra</i> L., Солодка уральская – <i>Glycyrrhiza uralensis</i> L.	Корни можно заготавливать круглый год	Глицирризиновая кислота, ФС.2.5.004015
7	Стальника полевого – <i>Ononi arvensis</i>	Стальник полевой – <i>Ononis arvensis</i> L.	Осенью	Сумма изофлавоноидов в пересчете на ононин, ФС.2.5.0094.18
8	Щавеля конского – <i>Rumicis conferti</i>	Щавель конский – <i>Rumex confertus</i> Willd.	Осенью или весной	Сумма антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозида эмодин, ФС.2.5.0052.15
Морфологическая группа сырья: корневища				
9	Аира обыкновенного – <i>Acori Calami</i>	Аир обыкновенный – <i>Acorus calamus</i> L.	Осенью или ранней весной	Эфирное масло, ФС.2.5.0056.18
10	Бадана толстолистного – <i>Bergeniae crassifolia</i> (L.) Fritch	Бадан толстолистный – <i>Bergenia crassifolia</i> (L.) Fritsch	Летом	Дубильные вещества в пересчете на танин, ФС.2.5.0004.15
11	Змеевика - <i>Bistortae</i>	Змеевик большой – <i>Polygonum bistorta</i> L., Змеевик мясо-красный – <i>Bistorta carnea</i> (C. Koch)	После отцветания	Дубильные вещества в пересчете на танин, ФС.2.5.0074.18
Морфологическая группа сырья: корневища с корнями				
12	Валерианы лекарственной – <i>Valerianae officinalis</i>	Валериана лекарственная – <i>Valeriana officinalis</i> L.	Осенью или ранней весной	Сумма сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту, ФС.2.5.0009

Продолжение Таблицы 6

13	Первоцвета – <i>Primulae</i>	Первоцвет весенний – <i>Primula veris</i> L., Первоцвет высокий – <i>Primula elatior</i> Hill	Ранняя весна или осень	Сапонины (эсцин), ФС.2.5.0124
14	Сабельника – <i>Comari palustris</i>	Сабельник болотный – <i>Comarum polustre</i> L.	Осень (до отмирания надземной части)	Полифенольные соединения в пересчёте на (+)-катехин, ФС.2.5.0129
15	Диоскореи ниппонской - <i>Dioscoreae nipponicae</i>	Диоскорея ниппонская – <i>Dioscorea nipponica</i> Makino	Весь вегетационный период (начиная с конца апреля и до конца ноября)	Сапонины (диосгенин), ФС.2.5.0114
16	Рапontiкума софлоровидного – <i>Rhapontici carthamoidis</i>	Рапontiкум софлоровидный – <i>Rhaponticum carthamoides</i>	Осенью	Экдистеин (экдистерон), ФС.2.5.0091.18
17	Чемерицы Лобеля – <i>Veratri Lobeliani</i>	Чемерица Лобеля – <i>Veratrum lobelianum</i> Bernh.	Ранней весной или осенью	Сумма алкалоидов в пересчете на протовератрин, ФС.2.5.0104.18
18	Цимицифуги даурской – <i>Cimicifugi dahuricae</i>	Цимицифуга даурская – <i>Cimicifuga dahurica</i> (Turcz.) Maxim	Осенью с начала созревания семян до конца вегетации	Сумма тритерпеновых гликозидов в пересчёте на 27- деоксиактеин, ФС.2.5.0132
Морфологическая группа сырья: корневища и корни				
19	Пиона уклоняющегося - <i>Paeoniae anomalaе</i>	Пион уклоняющийся (марьин корень) – <i>Paeonia anomala</i> L.	Во время цветения (конец мая – конец июня)	Сумма иридоидов в пересчёте на пеонифлорин, ФС.2.5.0126
20	Марена - <i>Rubiae</i>	Марена красильная – <i>Rubia tinctorium</i> L., Марена грузинская – <i>Rubia Iberica</i> C. Koch	Собранные весной в начале вегетации или осенью в период плодоношения	Связанные производные антрацена, ФС.2.5.0083.18
21	Кровохлебки лекарственной – <i>Sanguisorbae officinalis</i>	Кровохлебка лекарственная – <i>Sanguisorba officinalis</i> L.	Осенью	Дубильные вещества в пересчёте на танин, ФС.2.5.0078.18
22	Родиолы розовой - <i>Rhodiolae roseae</i>	Родиола розовая – <i>Rhodiola rosea</i> L.	В фазу цветения и плодоношения	Сумма гликозидов коричного спирта в пересчете на розавин, ФС.2.5.0036.15
23	Элеутерококка колючего <i>Eleutherococci senticosi</i>	Элеутерококк колючий – <i>Eleutherococcus senticosus</i> Maxim	Осенью	Сумма элеутерозидов в пересчёте на элеутерозид В ФС.2.5.0053.15

Исходя из Таблицы 6 заготовку подземных органов преимущественно следует проводить осенью или весной. Исключениями являются, например: корни солодки или корневища и корни диоскореи ниппонской, которые подлежат заготовке на протяжении всего года вне зависимости от фенологической фазы растения; корневища змеевика или корневища с корнями цимицифуги даурской же следует заготавливать после отцветания и до конца вегетации; во время цветения следует заготавливать корневища и корни пиона уклоняющегося, корневища и корни родиолы розовой согласно ГФ следует заготавливать в фазу цветения растения.

Существует ряд отечественных публикаций, посвященных изучению динамики накопления БАВ различной структуры в зависимости от фенологической фазы в растительном сырье различных морфологических групп [51, 52, 53, 54, 55]. Важно определять целевую для заготовки фенологическую фазу развития растения, в том числе, из-за потенциального биологического действия, обусловленного качественным и количественным содержанием различных групп БАС в разных концентрациях.

1.7. Биологическое действие соединений представителей рода *Rumex*

На территории РФ официальным объектом является единственный представитель рода *Rumex* – **щавель конский (*R. confertus* Willd.)**. В настоящее время в государственном реестре отсутствуют лекарственные средства на основе сырья щавеля конского. Однако сырье входит в состав известного с времён СССР сбора по прописи М.Н. Здренко, применяемого в качестве противоопухолевого средства. Среди биологически активных добавок, содержащих подземные органы можно отметить спиртовую настойку конского щавеля производства Фито-Аптекарь, для улучшения пищеварения, применяемую при запорах и диарее, которая в состав также содержит семена щавеля конского.

Среди ветеринарных препаратов, в состав которых входит сырье щавеля конского следует упомянуть два лекарственных препарата: «Руминал» и «Руминар». «Руминал» представляет из себя порошкообразный препарат из корней и корневищ щавеля конского с добавлением 10% лактулозы. В состав препарата «Руминар» входит 80% высушенного цельного растения щавеля конского, 10% лактулозы и 10% янтарной кислоты. Оба препарата применяются при терапии свиней, больных аскариозом и эзофагостомозом и показывают эффективность в сравнении синтетическими противопаразитарными лекарственными препаратами [56].

Для отвара из корней щавеля отмечается дуализм действия от слабительного до вяжущего, что обусловлено наличием двух групп веществ в сырье – антраценпроизводных и дубильных веществ. В низких концентрациях отвар проявляет вяжущий эффект. В больших дозах препараты корней Щавеля проявляют слабительный свойства, обусловленные содержанием в сырье антрахиноновых соединений. Антрахиноны стимулируют перистальтику мускулатуры толстого кишечника, способствуют размягчению и выведению фекальных масс. Плоды оказывают вяжущее, бактерицидное и противовоспалительное действие за счет дубильных веществ (танинов), которые вызывают коагуляцию белков. Свежие листья оказывают поливитаминное и ранозаживляющее действие. Для лечения колитов, энтероколитов, запорах на фоне атонии кишечника, геморрое и трещинах заднего прохода растение применяют в форме отвара и экстракта [57].

Отвар из плодов щавеля конского применяют при дизентерии и диспепсиях, а настоем из соцветий при дизентерии и диарее. Водные извлечения из конского щавеля применяют также при язвенных стоматитах, цинге, гингивитах. Порошок из корней нашел применение при малокровии. Отвар плодов конского щавеля применяют в виде компрессов при язвах, гнойных ранах и ожогах, свежие листья прикладывают к гнойным ранам. Плоды также применяют для лечения различных кожных заболеваний и туберкулеза [58, 59].

Трава **щавеля курчавого** (*R. crispus* L.) является одним из компонентов в составе лекарственных препаратов Синупрет® и Синупрет® Экстракт, применяемых при терапии острого и хронического синусита, сопровождающиеся образованием вязкого секрета [60]. *Rumex crispus* издревна используется как лекарственное растение в Индии и Пакистане. *Rumex crispus* оказывает мягкое и безопасное слабительное действие, а также используется для лечения широкого спектра проблем с кожей (язвы, раны). Корень этого растения - альтернативное, слегка тонизирующее, противосудорожное, желчегонное и вяжущее средство, при этом его семена эффективны при лечении диареи [61, 62].

При фармакологическом исследовании эфирного, этанольного и водного экстрактов листьев и семян *R. crispus*, водные экстракты обеих частей растения показали наибольшую антиоксидантную активность. Наибольшее количество общих фенольных соединений было обнаружено в этаноловом экстракте семян (220 мкг / 500 мкг экстракта). Что касается восстанавливающей способности и активности по удалению 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида, то этаноловый экстракт семян был наиболее эффективным. Более высокие уровни общего содержания фенольных соединений наблюдали для экстрактов этилацетата и бутанола. Значения IC_{50} , обнаруженные для этилацетата ($IC_{50} = 82$ мкг/мл) и бутанола ($IC_{50} = 116$ мкг/мл) были сопоставимы с таковой для аскорбиновой кислоты положительного контроля ($IC_{50} = 86$ мкг/мл) [63].

Уровни антиоксидантной активности *in vitro* метанольного экстракта плодов *R. crispus* были измерены с помощью анализа на антиоксидантную активность. Также были изучены активность в отношении свободных радикаловДФПГ и способность влиять на перекисное окисление липидов в липосомах у крыс. Выявлено, что экстракт плодов щ. курчавого обладает прямой антирадикальной активностью. [64]. Метанольный экстракт корней щ. курчавого продемонстрировал высокую активность по удалению радикаловДФПГ ($IC_{50} = 42,86$ мкг/мл) и значительную способность защищать белки от повреждений, вызванных H_2O_2 , Fe^{3+} и аскорбиновой кислотой. Метанольный и 80% метанольный экстракты щ. курчавого вызывали значительное ($p < 0,01$)

ингибирование α -глюкозидазы и α -амилазы по сравнению с положительным контролем акарбозы. Метанольный экстракт щ. курчавого индуцировал апоптоз клеток HT-29 дозозависимым образом, обусловленный пониженной регуляцией экспрессии некоторых транскрипционных факторов (p53, каспаза 3, -с-Мус и Вах). Кроме того, он продемонстрировал высокий потенциал защиты ДНК (клеточная ДНК НЕК 293) [65].

Спиртовые экстракты щ. курчавого имели высокие концентрации проантоцианадина и общих фенолов. Антирадикальная активность была оценена с использованием анализа поглощения ДФПГ и антирадикальной способности железа (FRAP). Экстракт показал хорошую антирадикальную активность, значение IC_{50} 70% этанольного экстракта (поглощение ДФПГ) составило 10,6 мкг/мл по сравнению с 10,53 мкг/мл для эталонной аскорбиновой кислоты. Помимо этого, антибактериальный скрининг методом диффузии в агар, показал ингибирования роста бактерий [66].

Исследование антибактериальной активности эфирных, этанольных и водных экстрактов листьев и семян щ. курчавого этой же научной группой выявило, что этанольный экстракт листьев обладал активностью против *S. aureus* (диаметр зоны подавления: 8 мм) и *B. subtilis* (диаметр зоны подавления: 8 мм) [67].

Корейскими учеными было проведено исследование, целью которого являлось определение противомаларийной активности щавеля курчавого. Из этанольного экстракта растения был выделен и идентифицирован флавоноид неподин, который является потенциальным противомаларийным соединением. Он показал ингибирующую активность по отношению к ферменту хиноноксидоредуктазе, благодаря чему в группе животных, получавшей лечение неподином, отмечено продление срока жизни; кроме того, он подавлял паразитемию у тестовых животных [68]. Исследователи из этой же страны провели оценку влияния на дифференцировку остеокластов и остеобластов. Ими было изучено влияние водного экстракта щавеля курчавого на рецепторный активатор модели мышей трабекулярной деструкцией костной ткани, индуцированной ядерным фактором «каппа-В». Исследования показали,

что водный экстракт *Rumex crispus* индуцирует дифференцировку остеобластов путем стимуляции передачи сигналов транскрипционного фактора 2 и связанных с ней факторов транскрипции. Более того, водный экстракт щ. курчавого ингибировал дифференцировку остеокластов, индуцированную активатором рецептора для ядерного фактора-кВ-лиганда, подавляя сигнальную ось активатора рецептора для ядерного фактора-кВ-лиганда, и тем самым предотвращает потерю костной массы у мышей. Это говорит о том, что водный экстракт щ. курчавого может быть использован в качестве фармакологического кандидата в традиционной медицине для профилактики и лечения остеопороза, так как он предотвращает потерю костной массы, подавляя остеокластогенез и вызывая минерализацию остеокластов [69].

В отечественной народной медицине с лечебной целью используют плоды, стебли, листья, **корни щавеля туполистного (*R. obtusifolius* L.)**. Настой и отвар растения применяется при терапии грибковых заболеваниях кожи, лихорадке, энтероколитах, колитах, диареях.

Цитотоксическую активность экстракта щ. туполистного исследовали с помощью анализа летальности рассольных креветок. Значения LD₅₀ экстрактов дихлорметана (1,00 мг/мл) и метанола (> 1,00 мг/мл) показали, что растение обладает низкой цитотоксической активностью по сравнению с положительным контролем подофиллотоксином (LD₅₀ = 2,80 × 10⁻³ мг/мл) Антибактериальная активность экстрактов щ. туполистного (н-гексан, дихлорэтан, метанол и субфракции метанольного экстракта) были протестированы в отношении различных штаммов бактерий методом диффузии на диске. В качестве положительного контроля использовали ципрофлоксацин (зоны ингибирования составляли 30 мм во всех случаях). Экстракт н-гексана не проявлял активности в тестируемой концентрации, экстракт дихлорэтана был активен только против *E.coli* (зона ингибирования = 5710 мм), а метанольный экстракт был эффективен против всех протестированных штаммов бактерий (*B. cereus*, *B.subtilis*, *E.coli*, устойчивых к ампициллину *E.coli*, *S. aureus* и *S. typhi*).

Значения минимальной ингибирующей концентрации составили от 1,56 до 25,0 мг/мл в случае метанольного экстракта и его фракций [70].

В исследовании антирадикальной активности полученные значения IC_{50} показали наибольшую активность для щ. конского 0,22 мг/мл в случае экстракта корней, для щ. туполистного 0,47 мг/мл в случае экстракта листьев и для щ. прибрежного (*R. hydrolapathum*) 0,42 мг/мл в случае экстракта плодов [71, 72].

Эффекты конденсированных танинов, выделенных из щ. туполистного, среди прочих, были оценены на вылупление яиц и развитии личинок нематоды овец *Teladorsagia circumcincta* в эксперименте *in vitro*. Вылупились 46% яиц, при использовании экстракта с концентрацией 900 мкг/мл (в контрольной группе вылупилось 87% яиц). В анализе развития личинок только 4% яиц достигли полного развития до личинок L3 в случае концентрации 200 мкг/мл от щ. туполистного, в то время как раствор с концентрацией 400 мкг/мл убили 91% личинок первой стадии (L1). На основании этого был сделан вывод, что конденсированные танины не только замедляют развитие личинок, но и убивают неразвитых личинок [73].

Подземные органы щ. водного (*R. aquaticus* L.) применяют в качестве лекарственного средства при различных инфекциях, диарее, отеках, желтухе, запорах и лихорадке в традиционной восточной медицине. Кроме того, он использовался в качестве замены ревеня в Корее [74].

Биологическая активность кверцетин-3-*O*- β -*D*-глюкуронипиранозида (QGC), выделенного из щ. водного и содержащего его экстракта (ECQ), была исследована на многочисленных экспериментальных моделях. Оценивали протективное действие QGC на индометацин-индуцированное повреждение желудка у крыс. Было замечено, что QGC усиливает количество секреции слизи в организме человека дозозависимым способом, а также ингибирует инфильтрацию нейтрофилов в слизистую оболочку желудка и продукцию провоспалительных цитокинов (ФНО- α и Ил-1 β) [75]. Площадь повреждения, размеры поражения желудка и pH желудка также были снижены в случае с QGC [76]. Та же исследовательская группа изучила антиоксидантное

и противовоспалительное действие кверцетин-3-*O*- β -D-глюкуронипиранозида на культивируемые клетки эпителия пищевода кошек (EECs) [77]. Цитопротекторное действие кверцетин-3-*O*- β -D-глюкуронипиранозида было также исследовано против индуцированного этанолом повреждения клеток. Он снижал цитотоксичность, индуцируемую 10% этанолом, и ингибировал продукцию внутриклеточных АФК и активацию ERK $\frac{1}{2}$ [78].

Флавоноиды кверцетин-3-галактозид и кверцетин-3-арабинозид, выделенные из щ. водного, были изучены на нейропротекторную активность. Было обнаружено, что при 10 мкМ концентрация обоих соединений значительно улучшала выживаемость клеток в модели ишемии с кислородно-глюкозной депривацией. Кроме того, они также увеличивали разрастание нейритов в дифференцированных клетках PC12, подвергающихся ишемическому инсульту [79].

В научной публикации, посвящённой изучению антибактериального действия *n*-гексановых, хлороформных и этилацетатных извлечений из надземных и подземных частей растения в отношении таких метициллинрезистентных штаммов бактерий, как: *Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* и *Bacillus subtilis* отмечено антимикробное действие щ. водного. [80]

Антипролиферативная активность водных и органических экстрактов 27 видов (*Rumex*, *Polygonum*, *Fallopia* и *Oxyria*), принадлежащих к семейству *Polygonaceae*, которые встречаются в Карпатском бассейне, была изучена в отношении линий опухолевых клеток человека (HeLa, A431 и MCF7) с использованием метода МТТ-теста. *n*-гексановые и хлороформные экстракты щ. водного (60,9% при 30 мкг/мл на клетках HeLa и 69,3% при 30 мкг/мл на клетках MCF7) оказывали существенную ингибирующую активность роста клеток против одной или нескольких клеточных линий [81].

Другие виды *Rumex* используются в зарубежной медицине для лечения различных заболеваний. Щ. кислый (*R. acetosa*) официально включен в Корейский продовольственный кодекс как один из основных пищевых продуктов

и используется в народной медицине как слабительное средство и для лечения кожных заболеваний [82].

В Африке водные экстракты корней *R. abyssinicus*, *R. usambarensis* и *R. bequaertii* (syn. *Rumex nepalensis* Spreng.) были использованы в качестве средства от различных типов расстройств желудка, в то время как экстракты *R. abyssinicus* употребляют для контроля легкой степени диабета, а также в качестве гипотензивного, мочегонного и обезболивающего средства [83]. В Австралии растения рода *Rumex* используются для лечения укусов [84].

В индийской этноботанике несколько видов *Rumex* (например, *R. acetosella*, *R. hymenosepalus*, *R. Patientia*) перечислены как используемые индейскими племенами для лечения различных заболеваний (запор, диарея, дизентерия, желтуха, различные заболевания кожи, желудка и в качестве противозачаточного средства) [85].

Экстракты некоторых видов *Rumex* (*R. hymenosepalus* и *R. maderensis*) используются как «депаративная кровь» или «очиститель крови» [86, 87].

Корни щ. копьевидного (*Rumex hastatus* D. Don), входящие в китайскую и аюрведическую системы лекарственных растений, обладают высокой лечебной ценностью и используются для регулирования кровяного давления. Большинство выделенных растительных фракций продемонстрировали значительную противомикробную активность [88]. Щ. копьевидный может использоваться для лечения заболеваний, передаваемых половым путем, включая синдром приобретённого иммунного дефицита в комбинированной терапии [89]. Листья щ. копьевидного широко используются в качестве пищевой добавки, а также могут применяться для лечения заболеваний печени, выступая в качестве гепатопротекторного средства [90]. Известно, что щ. копьевидный также может использоваться при терапии таких недугов, как: кашель, головная боль и лихорадка [91].

Другие виды *Rumex* используются в традиционной китайской медицине для лечения различных заболеваний. Так щ. зубчатый (*R. dentatus*), повсеместно встречающийся в Китае, традиционно используется для лечения многих видов

бактериальных и грибковых инфекций, например дизентерии, энтерита и акариоза [92]. Корни и листья щ. зубчатого также при терапии ряда заболеваний (ящур, астма, кашель, желтуха, лихорадка, слабость и чесотка) местными общинами в Пакистане [93].

Корни щ. гималайского (*R. nepalensis*) находят применение традиционной китайской медицине при коррекции нарушений системы гемостаза и для снижения проявлений опоясывающего лишая [94, 95]. Кроме того, это растение используется для лечения дизентерии и в качестве слабительного, а свежими молодые листья используют для лечения колик и сифилических язв [96].

Сводная информация по наиболее перспективным видам и их биологической активности, описанной в обзоре литературы приведена в Таблице 7.

Таблица 7 – Биологическая активность растений рода *Rumex*.

Действие	<i>R. confertus</i>	<i>R. crispus</i>	<i>R. obtusifolius</i>	<i>R. aquaticis</i>
Антиоксидантное	+	+	+	+
Противоопухолевое	+	+	+	
Гастеропротекторное				+
Антибактериальное	+	+	+	+
Противомалярийное		+		
Антидиабетическое		+		
Антинематодальное			+	
Нейропротекторное				+
Антиостеопорозное		+		

Обобщая результаты полученные в Таблице 7 для рассматриваемых видов следует отметить схожее сильное антиоксидантное действие, а также антибактериальное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. Показано широкое распространение растений рода *Rumex*, в том числе, щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного на территории Российской Федерации. Установлено, что рассматриваемые виды *Rumex* имеют богатый и близкий состав БАС фенольной природы.
2. Систематизирована информация о характеристике официального ЛРС – щавеля конского и близкородственных растений: щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного. Рассмотрены различия во внешнем строении, выявлен близкий ареал распространения.
3. Проведен анализ фармакопейных статей и инструкций по заготовке. Рассмотрены примеры сырья с несколькими производящими растениями. Выявлено, что для сырья, представленного подземными органами в качестве наиболее часто встречающегося срока заготовки регламентирован период заготовки «осенью или весной», однако данные о динамике накопления БАС требуют научного обоснования. Рассмотрены подходы к анализу близкородственных и примесных объектов растительного сырья.
4. Рассмотрены подходы к анализу антраценпроизводных, флавоноидов и дубильных веществ в оценке качества лекарственного растительного сырья. Изучены подходы, описанные в фармакопейных статьях, где преобладают современные методы анализа (ТСХ, ВЭЖХ, СФМ) определения качественного и количественного состава БАС в ЛРС и лекарственных растениях, включая близкородственные виды.
5. Изучен химический состав близкородственных видов щавеля, найдена информация о локализации соединений фенольной природы в различных морфологических группах изучаемых растений. Обнаружена литературная информация об индивидуальных соединениях таких групп БАС, как: антраценпроизводные, дубильные вещества и флавоноиды.
6. Установлена необходимость изучения состава и динамики накопления соединений фенольной природы в фармакопейном сырье щ. конского, принимая во

внимание отсутствие на отечественном рынке зарегистрированных лекарственных препаратов и значимость поиска новых потенциальных направлений медицинского использования.

7. Доказана ограниченность официального медицинского применения лекарственных средств и других продуктов на основе сырья щавеля конского. Вместе с тем доказан широкий спектр биологической активности БАС сырья растений рода *Rumex*, что дает перспективу новых потенциальных направлений использования объектов исследования, принимая во внимание отсутствие на отечественном рынке зарегистрированных лекарственных препаратов.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования являлись высушенные подземные органы:

- щавель конского - *Rumex confertus* Willd.,
- щавель водного - *Rumex aquaticus* L.,
- щавель курчавого - *Rumex crispus* L.,
- щавель туполистного - *Rumex obtusifolius* L.,

трех фаз вегетации, собранные в сроки и локациях, указанных в Таблице 8.

Таблица 8 – Характеристика объектов исследования

Вид	Фаза вегетации	Сроки сбора	Место сбора (координаты)
щавель конский	период весеннего отрастания	апрель 2022	поселение Роговское, Москва, Россия (55.245626, 37.009576)
	период цветения	июнь 2021	
	период отмирания	октябрь 2021	
щавель курчавый	период весеннего отрастания	апрель 2022	поселение Краснопахорское, Москва, Россия (55.384859, 37.225441)
	период цветения	июнь 2021	
	период отмирания	октябрь 2021	
щавель туполистный	период весеннего отрастания	апрель 2022	поселение Роговское, Москва, Россия (55.245626, 37.009576)
	период цветения	июнь 2021	
	период отмирания	октябрь 2021	
щавель водный	период весеннего отрастания	апрель 2022	поселение Роговское, Москва, Россия (55.245626, 37.009576)
	период цветения	июль 2021	
	период отмирания	октябрь 2021	

Для каждого вида заготовка велась в рамках одной и той же популяции. Собранные подземные органы были промыты проточной холодной водой, освобождены от надземных частей и тонких придаточных корней, крупные

фрагменты – разделялись на части. Сушка производилась при комнатной температуре в хорошо-проветриваемом помещении, без доступа солнечных лучей.

2.2. Оборудование и программное обеспечение

Анатомическое исследование сырья проводили с использованием микроскопа «МИКМЕД-6» (объективы 4x, 10x, 40x, 100x и 400x). Измерения крахмальных зерен, друз оксалата кальция, каменистых клеток в тридцатикратной повторности выполнялись с помощью окуляр-микрометра. Фотоснимки были выполнены камерой iPhone 11, обработка – программой Paint (Microsoft, США). Статистическая обработка полученных данных проводилась в программе Excel (Microsoft, США).

Хроматографическое изучение антраценпроизводных и флавоноидов выполняли на ВЭЖХ с УФ детектором Nexera-i LC-2040 (Shimadzu Corporation, Япония). Хроматографическое разделение и детектирование дубильных веществ проводили на ВЭЖХ с УФ детектором Хроматэк-Кристалл ВЭЖХ 2014 (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия). Использовали хроматографическую колонку Grace HPLC Column Platinum C18-EPS, 250 × 4.6 mm, 5mm (Grace, США) и предколонку Phenomenex SecurityGuard™ Cartridges Widespore C18, 4 × 3,0 mm (Phenomenex, США).

Для анализов, проводимых в работе методом ТСХ, использовали пластинки для тонкослойной хроматографии «TLS Silicagel 60 F254» (Merk, Германия) 20x20 см. Спектрофотометрическое определение осуществляли на СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия), использовали кюветы с длиной пути 10 мм.

Идентификацию штаммов выполняли на анализаторе микробиологическом MALDIToF MS VactoSCREEN (ООО НПФ «ЛИТЕХ», РФ).

В работе использовали следующее вспомогательное оборудование: дозаторы 1-канальные переменного объёма 20–200 мкл, 100–1000 мкл, 1–5 мл (Biohit, Финляндия); анализатор влагосодержания Ohaus MB27 (Ohaus, США);

водяная баня WB-6 (Stegler, Китай); система очистки воды I типа Аквалаб-1 (Медиана-фильтр, Россия), весы электронные лабораторные R200D (Sartorius, Германия); вакуумный насос для фильтрации и дегазации жидкости N86KT.18 (KNF, Германия); холодильник ProfiLine (Liebherr, Германия), шкаф сушильный ШС-40-02 СПУ (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия); сито СЛК-200 лабораторное контрольное, полиамидное, ячейка 2 мм и 0,2 мм (Таглер, Россия); Ph-метр портативный OHAUS ST300 (Ohaus, США).

2.3. Реактивы и стандартные образцы

Для получения спирто-водных извлечений использовали спирт этиловый (ГОСТ Р 51652-2000), для получения водных извлечений была использована вода тип 1, очищенная путем мембранной фильтрации.

В ТСХ-анализе были использованы следующие реактивы для приготовления подвижной фазы: петролейный эфир, хч (Ленреактив, Россия), этилацетат, хч (Ленреактив, Россия), муравьиная кислота, чда (Ленреактив, Россия). Для спектрофотометрического определения были использованы: натрия гидроксид, хч (Ленреактив, Россия), аммиака раствор, чда (Ленреактив, Россия). Стандартами антраценпроизводных для ВЭЖХ выступали чистые субстанции с содержанием основного компонента не менее 90%: эмодин, субстанция порошок (Sigma-Aldrich, США); хризофановая кислота, субстанция порошок (Supelco, США); 8-*O*- β -D-глюкозид эмодина (PhytoLab, Германия); фисцион (Supelco, США), глюкофрангулин А, (PhytoLab, Германия); франгулин А, (PhytoLab, Германия).

Для приготовления подвижной фазы в ТСХ-анализе, были использованы: бутанол, хч (Экос-1, Россия), метанол, хч, (Россия), уксусная кислота, хч, (Ленреактив, Россия). Детектирующий раствор готовили из ДКАЭ, с чистотой >98% (Acros Organics, Бельгия) и ПЭГ 400 pure EP, USP pharma grade, (neoFroxx, Германия).

Стандартами флавоноидов при хроматографическом разделении выступали чистые субстанции с содержанием основного компонента не менее 90%: 3-*O*-рутинозид кверцетина (рутин) (Fluka, Швейцария), 3-*O*-рутинозид изорамнетина (нарциссин) (PhytoLab, Германия), 3-*O*-глюкозид кемпферола (астрагалин) (PhytoLab, Германия), 7-*O*-глюкозид лютеолина (цинарозид) (PhytoLab, Германия), 7-*O*- β -D-глюкозид апигенина (космосин) (Sigma-Aldrich, Германия), лютеолин (Fluka, Швейцария), кемпферол (Supelco, Германия), изорамнитин (Carl Roth GmbH & Co. KG Rotichrom, Германия).

Определение качественных реакций для дубильных веществ проводилось с железо-аммонийными квасцами ($\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), чда (Химреактивснаб, Китай). Для титриметрического определения использовались индигокармин, чда (Ленреактив, Россия), серная кислота, хч (Ленреактив, Россия), калия перманганат (Ленреактив, Россия). В рамках спектрофотометрического определения были использованы: натрия гидроксид, хч (Ленреактив, Россия), аммиака раствор, чда (Ленреактив, Россия), калия-натрия тартрата 4-водного, хч, (Ленреактив, Россия) и железо серноокисное (II) 7-водное, хч (Ленреактив, Россия). При хроматографическом определении стандартными образцами для группы дубильных веществ выступали чистые субстанции с содержанием основного компонента не менее 90%: эпигаллокатехин галлат (Fluka, Германия); галловая кислота (Sigma-Aldrich, Германия); эпикатехин (Sigma-Aldrich, Германия); катехин (Sigma-Aldrich, Германия). Для приготовления элюентов А и Б была использована трихлоруксусная кислота, хч (Химреактивснаб, Китай) и ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ (Biosolve, Франция).

В качестве стандартных образцов аминокислот использовались: глутамин, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин фенилаланин, пролин, серин, треонин, триптофан, валин, (Sigma Aldrich, Германия), ацетон с.п., (Merck KGaA, Германия), уксусная кислота, хч (Vecton, Россия), н-бутанол д.ч., (Вектор, Россия), нингидрин $\geq 98\%$ (ООО «Диэм», Россия), аскорбиновая кислота $\geq 99\%$ (Sigma Aldrich, Германия).

Для культивирования бактерий и проведения бактериологических исследований были использованы жидкие и плотные питательные среды: мясо-пептонный бульон; 1,5%-ный мясопептонный агар (ГНЦ ПМБ, Россия), желточно-солевой агар (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия).

2.4. Морфолого-анатомическое изучение

Макроскопический анализ сырья проводился согласно ОФС ГФ РФ XV 1.5.1.0006 «Корни, корневища, луковичи, клубни, клубнелуковичи». Изучение анатомо-диагностических признаков объектов исследования и гистохимические реакции на крахмал и лигнифицированные элементы проводились в соответствии с ОФС ГФ РФ XIV 1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

2.5. Фитохимическое изучение

Перед проведением фитохимического изучения проводилась оценка в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи (ОФС) ГФ РФ XV издания ОФС.1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» в сушильном шкафу и на приборе анализаторе влагосодержания. Навеску сырья около 0,5 г помещали на площадку анализатора. Полученные результаты достоверны с интервалом погрешности $\pm 1\%$ для выбранной массы аналитической пробы. Измерение для каждого объекта проводилось в трёх повторностях. Были получены средние значения показателя влажности для растений, собранных в период отрастания, цветения и отмирания надземной части. Количественное определение проводилось с учётом значения влажности сырья.

Аналитические пробы сырья для фитохимического изучения измельчали до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм.

С целью предсказания значения $\log P$ изучаемых соединений перед проведением ВЭЖХ анализа было использовано программное обеспечение ALOGPS 2.1 (Мюнхенский университет имени Гельмгольца, Германия) и XLogP3-AA 3.0 (Шанхайский институт органической химии, Китай).

Для фитохимического анализа антраценпроизводных и флавоноидов, оценки антибактериальной активности и антирадикальной активности из сырья были получены спирто-водные извлечения по методике согласно ФС.2.5.0052.15 «Щавеля Конского корни» ГФ РФ XIV. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70%, взвешивали с точностью до $\pm 0,01$ г, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы, полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр.

В фитохимическом изучении дубильных веществ и аминокислот были получены водные извлечения по методике из ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» Государственной фармакопеи РФ XV издания. В коническую колбу вместимостью 500 мл, помещали около 2,0 г (точная навеска) испытуемого образца, измельчённого до величины частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 2 мм, добавляли 250 мл нагретой до кипения воды и кипятили с обратным холодильником на электрической плитке с закрытой спиралью в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Полученное извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл так, чтобы частицы испытуемого образца не попали в колбу, доводили объём раствора водой до метки при необходимости.

Щелочно-аммиачным раствором, используемый для образования фенолятов антраценпроизводных готовили по следующей методике: 50,0 г натрия гидроксида растворяли при перемешивании в 870 мл воды. После охлаждения к раствору прибавляли 80 мл аммиака раствора концентрированного и перемешивали.

2.5.1. Антраценпроизводные

Для анализа антраценпроизводных методом ТСХ использовали методику с разработанными условиями – «АПТ». Подвижная фаза состояла из: петролейного эфира : этилацетата : муравьиной кислоты (75:25:1), детектирование осуществлялось щелочно-аммиачным раствором.

Для количественного определения методом спектрофотометрии были предварительно получены фенолят-продукты взаимодействия изучаемых извлечений с аммиачным раствором натрия гидроксида. Определение суммы антраценпроизводных проводили с использованием кювет с толщиной поглощающего слоя 10 мм при длине волны 520 нм в пересчете на 8-*O*-β-*D*-глюкозид эмолина – методика «АПС».

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-*O*-β-*D*-глюкозид эмолин в абсолютно сухом сырье в процентах (*X*) вычисляли по формуле:

$$\frac{A \times 50 \times 50 \times a_0 \times 1 \times P \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times 1 \times 50 \times 25 \times 100 \times (100 - W)} = \frac{A \times a_0 \times P \times 2000}{A_0 \times a \times (100 - W)}$$

A - оптическая плотность испытуемого раствора; *A*₀ - оптическая плотность раствора СО 8-*O*-β-*D*-глюкозид эмолина; навеска сырья, г; *a*₀ - навеска СО 8-*O*-β-*D*-глюкозид эмолина, г; *P* - содержание основного вещества в СО эмолина, %; *W* - влажность сырья, %.

Анализ методом ВЭЖХ-УФ выполнялся по разработанной методике – «АПР», согласно следующим условиям хроматографирования: скорость потока 1,0 мл/мин; подвижная фаза А: 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде (по объему); подвижная фаза В: 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (по объему), подвижные фазы перед анализом дегазировали

и использовали в течение 5 дней с момента приготовления. Условия градиентного элюирования представлены на Рисунке 12, температура термостата колонок составила 27°C.

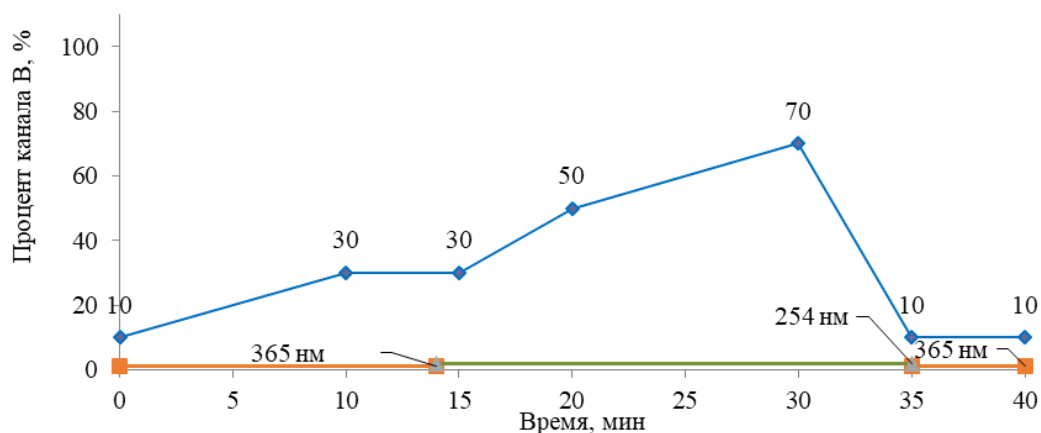


Рисунок 12 – Условия градиентного элюирования антраценпроизводных

Обнаружение проводилось по поглощению в УФ-области спектра при длине $\lambda=254$ нм с 13 минуты и по 35 минуте. Дополнительно проводилось снятие длины волны 365 нм на протяжении 40 минут анализа. Введение образца в автосэмплере прибора проводилось в объеме 10 мкл.

2.5.2. Флавоноиды

Для подтверждения наличия флавоноидов в спирто-водных извлечениях изучаемых объектов методом ТСХ использовались разработанные условия анализа – «ФЛТ». Подвижная фаза, состояла из смеси органических растворителей: бутанол: метанол: уксусная кислота, в соотношении (40:9:4), детектирующим раствором выступала смесь дифенилборной кислоты аминоэтиловый эфир (ДКАЭ) и 10% полиэтиленгликоль (ПЭГ) 400, объем нанесения составлял 10 мкл.

Анализ методом ВЭЖХ-УФ выполнялся по разработанной методике – «АФЛ» согласно следующим условиям хроматографирования: скорость потока 0,9 мл/мин, подвижная фаза А: 0.1 % раствор ортофосфорной кислоты (по объёму), подвижная фаза В: ацетонитрил, подвижные фазы перед анализом

дегазировали и использовали в течение 5 дней с момента приготовления. Условия градиентного элюирования представлены на Рисунке 13.

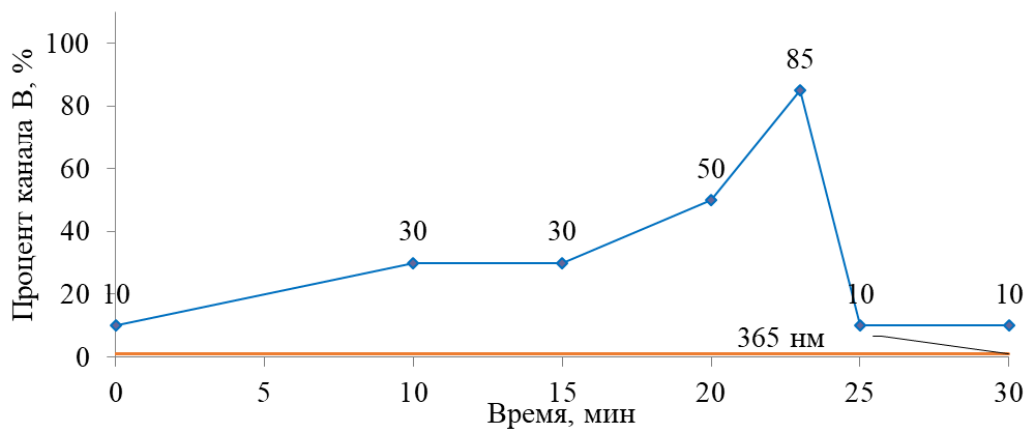


Рисунок 13 – Условия градиентного элюирования флавоноидов

Обнаружение проводилось по поглощению в УФ-области спектра при длине волны $\lambda=365$ нм. Введение образца осуществлялось в объёме 10 мкл. Температура термостата колонок 30 °С.

2.5.3. Дубильные вещества

Количественную оценку дубильных веществ проводили двумя методами. Титриметрия (метод 1) выполнялась согласно ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» Государственной фармакопеи РФ XV издания – методика «ДВТ». К полученным извлечениям добавляли 25 мл индигокармина раствора 0,1%, выступающего в роли индикатора. В качестве титранта выступал 0,02М раствор калия перманганата, титрование осуществлялось при постоянном перемешивании до золотисто-жёлтого окрашивания. Параллельно проводился контрольный опыт: в коническую колбу вместимостью 1000 мл помещали 525 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты, и титровали при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02 М до золотисто-жёлтого окрашивания. Содержание

суммы дубильных веществ в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$\frac{V - V1 \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{a \times 25 \times (100 - W)}$$

V - объем 0,02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование водного извлечения, мл; *V1* - объем 0,02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл; 0,004157 - количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл 0,02 М раствора калия перманганата (в пересчете на танин), г; *a* - навеска лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, г; *W* - влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %; 250 - общий объем водного извлечения, мл; 25 - объем водного извлечения, взятого для титрования, мл.

Дополнительно было проведено испытание методом СФМ: была измерена оптическая плотность нативных водных извлечений из подземных органов изучаемых видов щавеля трех различных вегетаций; извлечений с добавлением фосфатного буфера и железо-тарtratного реактива (ЖТР) – методика «ДВЖ»; измерение нативных водных извлечений проводилось при длине волны 282 нм, образованный комплекс с ЖТР имел максимум поглощения 545 нм. Буфер готовили, отбирая 50,0 г натрия гидроксида и растворяли при перемешивании в 870 мл воды. После охлаждения к раствору прибавляли 80 мл аммиака раствора концентрированного и перемешивали. Срок годности раствора составлял 1 сутки. Раствор ЖТР готовили следующим образом: 0,46 г железа (II) сульфата и 1,25 г сенъетовой соли (калия-натрия тартрата 4-водного) растворяли в колбе на 250 мл. Условия реакции были взяты из научной публикации [97]. Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$\frac{A - A_1 \times 50 \times 200 \times 100 \times 100}{A_0 \times a_0 \times 100 \times 25 \times (100 - W)}$$

A - оптическая плотность раствора А; *A0* - оптическая плотность раствора Б; *A1* - оптическая плотность раствора СО галловая кислота; *a* - навеска лекарственного растительного сырья, г; *a0* - навеска СО галловая кислота, г; *P* - содержание основного вещества в СО галловая кислота, %; *W* - влажность лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата, %.

Анализ ВЭЖХ дубильных веществ проходил согласно условиям хроматографии, взятым из издания ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи» Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи [98] – «методика ДВВ». Условия были следующим: скорость потока 1,0 мл/мин. Подвижная фаза А: раствор трихлоруксусной кислоты, с рН=2,5. Подвижная фаза В: ацетонитрил. Условия градиентного элюирования представлены на Рисунке 14.

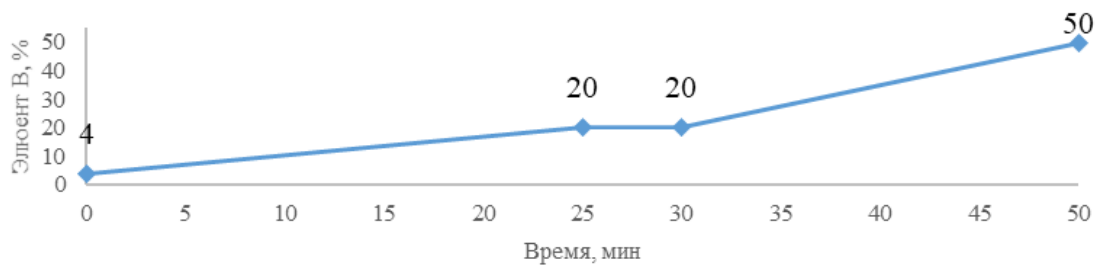


Рисунок 14 – Условия градиентного элюирования дубильных веществ

Обнаружение проводилось по поглощению в УФ-области спектра при длине волны $\lambda=275$ нм. Температура колонки – 40 °С. Введение образца осуществлялось в объеме 10 мкл.

2.5.4. Аминокислоты

Элюирование в ТСХ проводили дважды в предварительно насыщенной хроматографической камере с использованием системы растворителей, состоящей из н-бутанола, ацетона, ледяной уксусной кислоты и воды (35:35:10:20) с фронтом растворителя 18 см согласно публикации – методика «АКТ» [99]. Пятна визуализировали распылением на пластинку 2% раствора нингидрина (ацетон:н-бутанол 1:1) и высушиванием ее в сушильном шкафу при температуре 105°С в течение 15 минут. Аминокислоты в изученных экстрактах идентифицировали путем сравнения значений Rf и цветов пятен со стандартными образцами.

Для количественного анализа экстрактов по 2 мл каждого экстракта или дистиллированной воды (для холостого раствора) объединяли с 4 мл фосфатного

буферного раствора (рН 6,4) и 2 мл 1% раствора нингидрина с 2 мл 0,05% раствора аскорбиновой кислоты в отдельной колбе емкостью 100 мл. Всю реакцию смесь нагревали еще 30 минут. После быстрого охлаждения смесь доводили до исходного объема и анализировали на СФМ – методика «АКС».

Суммарное содержание свободных аминокислот (%), выраженных в эквиваленте глутаминовой кислоты, и растительного сырья (X) рассчитывали по следующей формуле:

$$\frac{A \times 100 \times 100 \times a_0 \times 2 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times 2 \times 200 \times 100 \times (100 - W)} = \frac{A \times a_0 \times 50 \times 100}{A_0 \times a \times (100 - W)}$$

A – оптическая плотность испытуемого раствора; A₀ – оптическая плотность стандартного раствора глутаминовой кислоты; a – масса образца (сырья), г; a₀ – стандартная навеска образца (глутаминовая кислота), г; W – потеря массы при сушке сырья, %.

2.6. Антирадикальная активность

Для исследования антирадикальной активности проводили реакцию спиртоводных извлечений с 2,2–дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ). Для этого из 1 мл аликвоты исследуемого экстракта готовили разведения (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,5625, 0,78125, 0,07, 0,035 мг/мл) и добавляли к 3 мл 0,004% раствора ДФПГ. Оптическую плотность определяли через 30 минут при длине волны 517 нм. Аналогичным способом измеряли оптическую плотность раствора ДФПГ без добавления извлечения (контроль) – методика «АС». Процент ингибирования радикала ДФПГ рассчитывали по формуле:

$$\frac{AC - AT}{AC} \times 100$$

АС – абсорбция контроля, АТ – абсорбция исследуемого образца.

Значения IC₅₀ рассчитывали по графику зависимости поглощающей активности ДФПГ, в % от концентрации извлечений.

2.7. Антибактериальная активность

Оценку антибактериальной активности проводили в отношении 25 штаммов поли- и панрезистентных бактерий: 6 штаммов *Staphylococcus aureus*, 6 штаммов *Staphylococcus epidermidis*, 7 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, 6 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*. Бактериальные культуры были выделены из клинических материалов от пациентов из отделения гнойной хирургии и ОРИТ.

Идентификация микроорганизмов после получения чистых культур проводилась методом матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией с время-пролётной масс-спектрометрией. Сравнение спектра тестируемого штамма с известными спектрами, хранящимися в системной библиотеке.

Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к испытуемым образцам осуществляли диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890—04 и рекомендациям МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (2021)». Разливали 1,5 % мясопептонный агар в маркированные чашки Петри. После застывания чашки с содержимым из питательной среды каждую засеивали 16-18- часовой бульонной культурой: 3 капли культуры наносили на чашку и растирали шпателем по всей поверхности чашки, чтобы получить равномерный сплошной рост культуры. После того, как культура впиталась, и чашки высохли, на них каплями (spot-тест) наносили исследуемый экстракт. После того, как жидкость впиталась в среду, чашки инкубировали при 37°C в течение 18-24 часа. После инкубирования производили учет результатов: полное или частичное отсутствие культуры в месте попадания капли говорило о наличии бактерицидного или бактериостатического действия исследуемого экстракта – методика «АБ».

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фармакопейными требованиями к определению подлинности ЛРС является характеристика морфологических и микроскопических признаков. В приведенных в литературе исследованиях отсутствуют данные по сравнительному изучению внешних и анатомо-диагностических особенностей подземных органов изучаемых видов рода щавель – щ. конского (*R. confertus* Willd.), щ. курчавого (*R. crispus* L.), щ. водного (*R. aquaticus* L.) и щ. туполистного (*R. obtusifolius* L.).

3.1. Внешние признаки

Результаты сравнительного изучения морфолого-диагностических признаков объектов исследования приведены на Рисунках 15-18 и в Таблице 9.

Проведенный морфологический анализ объектов исследования показал, что несмотря на то, что сырье фармакопейного вида – щавеля конского – это «корни», фактически заготовке подвергаются и корневища тоже. Внешне отличия не существенные, а доля их может достигать 30%. В этой связи может быть целесообразно не отделять корневища, а заготавливать всю подземную часть у данного вида, что может увеличить урожайность и выход сырья. Похожая ситуация наблюдается у сырья щавеля водного – фактически заготовке подлежат «корневища и корни». У других двух видов – щавеля курчавого и щавеля туполистного сырье представляет собой исключительно «корни».



Рисунок 15 – целые корни щ.
конского



Рисунок 16 – целые корни щ.
курчавого



Рисунок 17 – целые корни щ.
туполистного



Рисунок 18 – целые корни щ.
водного

Таблица 9 – Морфолого-диагностические характеристики объектов исследования

Диагностический признак	щ. конский	щ. курчавый	щ. туполистный	щ. водный
Морфологическая группа сырья	Корневища и корни	Корни	Корни	Корневища и корни
Форма	Куски корней и корневищ. Корневища цилиндрической формы, корни - конической	Конические прямые или слегка изогнутые, мало ветвистые	Конические прямые, иногда перекрученные	Бесформенные корневища, иногда с отходящими или отдельными корнями конической, слегка изогнутой формы

Продолжение Таблицы 9

Характер наружной поверхности	Корневища бугристые, корни – продольно-морщинистые	Продольно-морщинистые	Продольно-морщинистые	Продольно-морщинистые
Характер излома	Неровный	Щетинистый	Занозистый	Неровный, зернистый
Размер	Корневища длиной до 10 см, диаметром до 3-4 см. Длина корней – 5-20 см Ширина корней у основания – 1,0-1,5 см	Длина – 15-25 см Ширина у основания – 1,0-1,5 см	Длина – 10-25 см Ширина у основания – 0,7-1,5 см	Длина корней – 5-15 см Ширина корней у основания – 1,0-1,5 см
Цвет наружной поверхности и свежего излома	Коричневые снаружи, излом - желто-оранжевый	Серо-коричневые снаружи; излом - желтовато-кремовый	Серо-коричневые снаружи; излом – зеленовато-желтый	Коричневые снаружи, излом - желтовато-оранжевый
Запах	Слабый, характерный	Слабый, характерный	Слабый, характерный	Слабый, характерный
Вкус	Горьковатый, вяжущий	Слегка вяжущий	Слегка вяжущий	Горький, вяжущий

В целом различия во внешних признаках подземных органов исследуемых видов не значительны и относятся к размерам, цвету и характеру излома. Наиболее яркую окраску свежего излома имеет щавель конский, ему же принадлежит более сильный, специфический запах.

По фармакопейным требованиям были проведены описания внешних признаков **измельченного сырья и порошка**, внешний вид которых представлен в Таблицах 10 и 11 соответственно.

Измельченное сырье объектов исследования представляет собой кусочки корней (и корневищ) различной формы желтоватого, кремово-желтого, зеленовато-желтого, коричневатого цвета, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм, со слабым запахом и слегка вяжущего вкуса.

Порошки исследуемых видов сырья представляют собой кусочки корней (и корневищ) различной формы желтоватого, кремово-желтого, зеленовато-

желтого цвета, коричневатого цвета, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, со слабым запахом и слегка вяжущего вкуса.

Таблица 10 – Внешний вид измельченного сырья объектов исследования и их смеси



Таблица 11 – Внешний вид порошков сырья объектов исследования и их смеси



Смесь измельченных корней была представлена кусками разной формы и цвета от светло-желтого до коричневого, обладала характерным запахом и вяжущим горьковатым вкусом.

Порошок щ. конского представлял однородный ярко-желтый порошок и изредка встречающимися волокнами бледно-желтого цвета. При определении под лупой порошок щ. водного был схож по форме кусков с щ. конским, отличительной чертой порошка щ. водного был коричневый цвет. У порошка щ. курчавого имелось две группы кусков: неровные куски прямоугольной формы и многочисленные небольшого размера изогнутые волокна желтовато-кирпичного цвета, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. У порошка щавеля туполистного также встречались две группы кусков, но преобладала фракция порошка из неровных кусков прямоугольной формы с редкими волокнами. Во всех порошках были редко встречающиеся черные включения пробки.

Смесь порошков представляла однородный порошок желтовато-коричневого цвета с редкими черными включениями пробки и прямоугольными волокнами, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

3.2. Анатомио-диагностические признаки

В целях изучения анатомического строения и выявления диагностических признаков изучаемого сырья нами было проведено сравнительное микроскопическое изучение корней щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного, щ. водного.

Для микроскопического исследования готовились микропрепараты согласно ОФС ГФ РФ XIV 1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»:

1. поперечные срезы цельных корней;
2. «давленные» препараты для измельченного сырья.

Микропрепараты порошков готовились по методике, приведенной в работе Бобковой Н.В [100]. Микроскопические и гисто-химические исследования осуществлены в соответствии с фармакопейными методиками, приведенными в главе 2. Для обнаружения диагностических признаков в тканях подземных органов объектов исследования использовали следующие гистохимические реакции:

1. с раствором Люголя на крахмал (крахмальные зерна окрашиваются в сине-фиолетовый цвет);
2. с флороглюцином и серной кислотой на одревесневшие (лигнифицированные) элементы (окрашиваются в малиново-красный цвет).

Проведенный сравнительный микроскопический анализ показал, что корни всех исследуемых видов *Rumex* имеют вторичное строение (Рисунки 19 и 20). Корни снаружи покрыты пробкой, различающейся у разных образцов по толщине, но у всех - состоящей из уплощенных прямоугольных толстостенных клеток, расположенных радиальными рядами в несколько слоев.



Рисунок 19 – щ. водный. Поперечный срез.
Общее строение корня. (Ув.Х40)

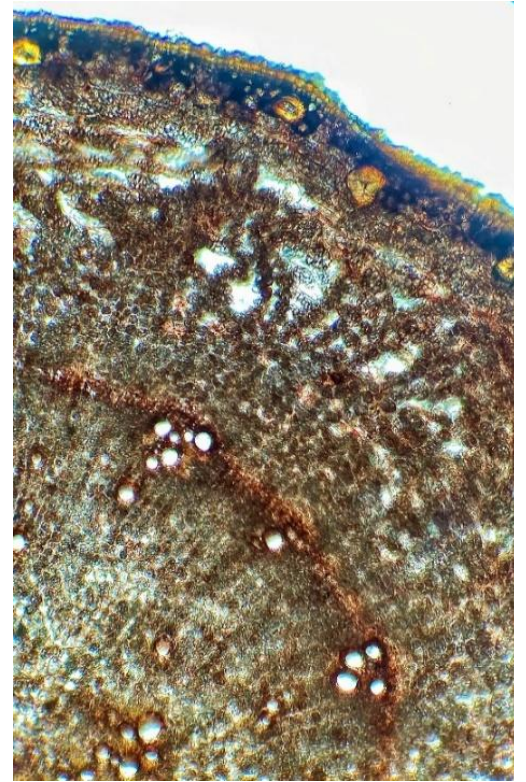


Рисунок 20 – щ. курчавый.
Поперечный срез. Общее
строение корня (Ув.Х40)

Под пробкой, в слое феллодермы у всех исследуемых видов располагаются склереиды округлой или овальной формы с сильно утолщенными стенками желтоватого цвета, пронизанными немногочисленными порами (Рисунки 21 и 22). Каменистые клетки располагаются одиночно или небольшими группами.

Четкая узкая линия камбия разделяет корень на коровую и древесную части, в соотношении приблизительно 1 к 2 (Рисунки 19 и 20). Кора, располагающаяся к периферии от камбия, состоит из округлых клеток паренхимы с достаточно утолщенными клеточными стенками. В коре у всех видов можно наблюдать воздухоносные полости, в большей степени выраженные у щавеля водного (*R. aquaticus*). Клетки паренхимы коры содержат многочисленные друзы оксалата кальция. Ксилема корней исследуемых видов щавеля содержит проводящие, механические элементы и паренхиму (Рисунки 23 и 24). Сосуды ксилемы у большинства образцов формируют группы и тяжи, ориентированные радиально и разделяемые крупными многорядными сердцевинными лучами, расширяющимися к периферии.

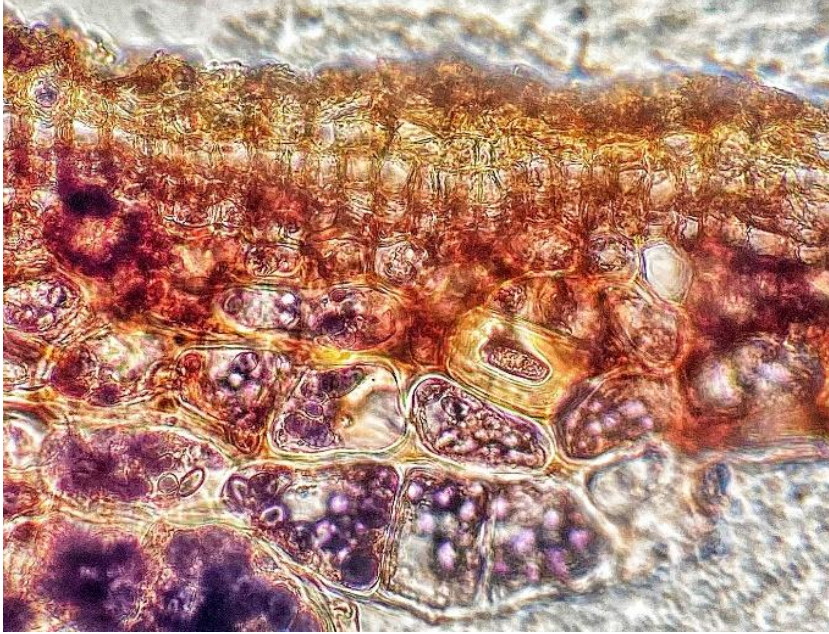


Рисунок 21 – щ. водный. Поперечный срез. (Ув. X400). Пробка и фелодерма. Склереиды. Крахмальные зерна. Окраска реактивом Люголя

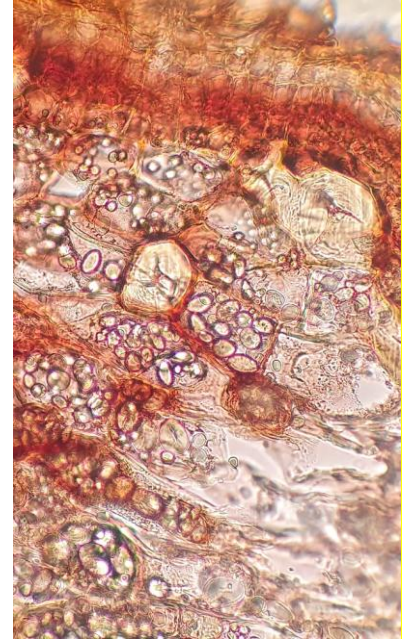


Рисунок 22 – щ. курчавый. Поперечный срез. Пробка и фелодерма. Склереиды. (Ув. X400). Крахмальные зерна в клетках паренхимы коры



Рисунок 23 – корень щ. водного. Поперечный срез. (Ув. X400). Линия камбия, группа сосудов ксилемы

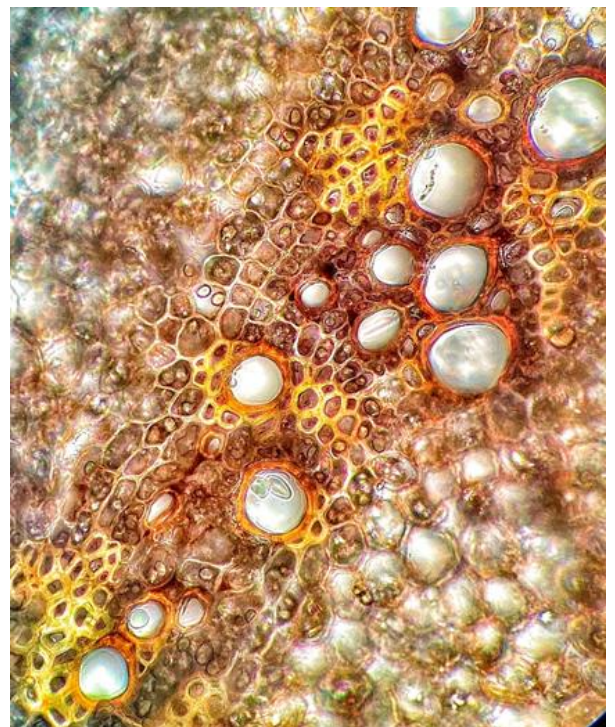


Рисунок 24 – корень щ. курчавого. Поперечный срез. (Ув. X100). Сосуды и механические волокна ксилемы

Сосуды ксилемы сопровождаются механическими волокнами либриформа - мертвыми узкими прозенхимными клетками с сильно утолщенными пористыми стенками. Наиболее мощно либриформ выражен и представлен в корнях щавеля курчавого (*R. crispus*) и щавеля туполистного (*R. obtusifolius*), образуя достаточно широкие непрерывные кольца, образованные сосудами ксилемы и механическими волокнами (Рисунки 25 и 26).

Друзы оксалата кальция распределены равномерно в паренхимной ткани коры и древесины корней всех исследованных видов щавелей (Рисунок 27). Клетки паренхимы всех зон корней исследуемых видов содержат крахмал. Особенно много крахмала в паренхиме коры и сердцевинных лучей. Крахмальные зерна преимущественно простые округлой или овальной формы (Рисунок 28).

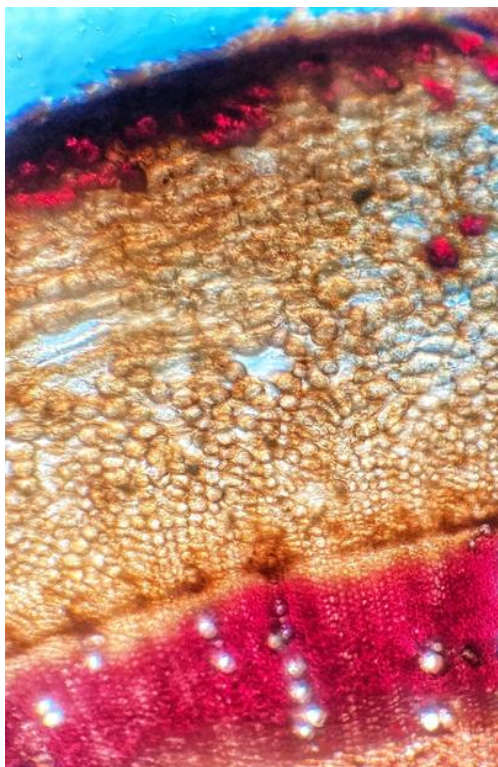


Рисунок 25 – корень щ. курчавого. Поперечный срез. (Ув. X40). Склериды. Ксилема. Окраска флороглюцином



Рисунок 26 – корень щавеля туполистного. Поперечный срез. (Ув. X400). Сосуды и механические волокна ксилемы. Окраска флороглюцином

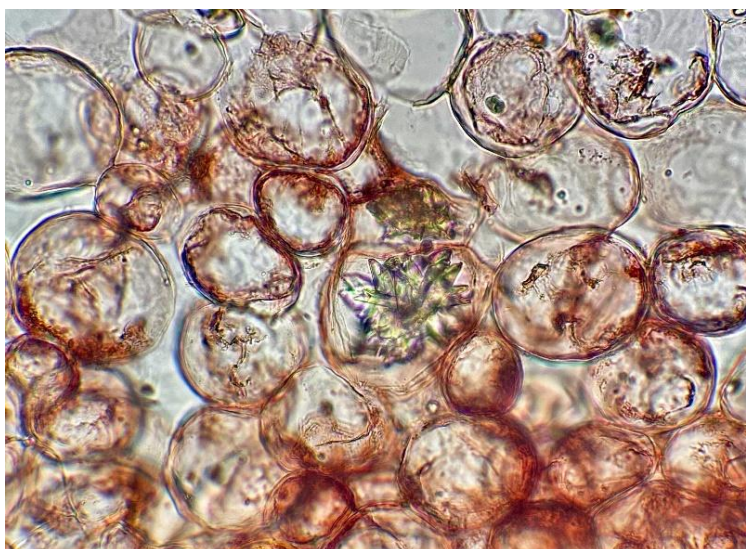


Рисунок 27 – щ. водный. Поперечный срез.
Друза оксалата кальция. (Ув. X400)

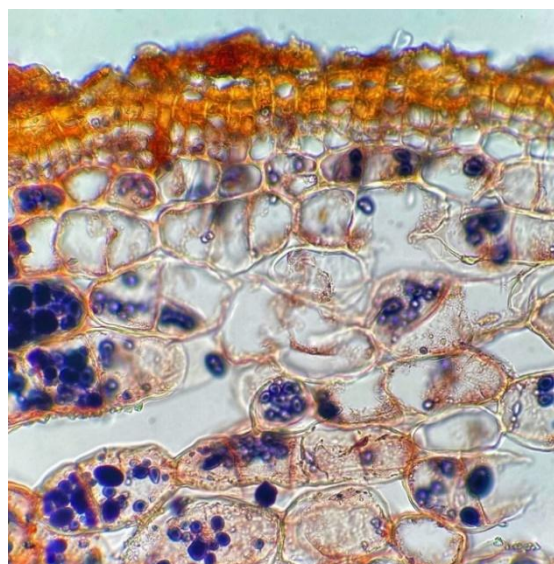


Рисунок 28 – щ. туполистный.
Пробка, крахмальные зерна.
Окрашивание р-вом Люголя.
(Ув. X100)

Изучив давленные препараты, удалось более подробно охарактеризовать строение склереид, механических волокон и сосудов ксилемы.

Склереиды (каменистые клетки) представляют собой удлиненные веретеновидные клетки желтоватого цвета с заостренными концами (Рисунки 29 и 30). Каменистые клетки щавеля курчавого отличаются наличием неровного контура и даже небольшими выростами, а также более выраженным одревеснением клеточных стенок (Рисунок 29).

Сосуды ксилемы в давленном препарате встречаются одиночно или группами и имеют лестничное, сетчатое, реже - пористое вторичное утолщение клеточных стенок. Механические волокна либриформа у всех объектов исследования проявлялись в виде длинных узких желтоватых клеток с толстыми редкопористыми стенками, встречающихся, как правило, вместе с сосудами ксилемы.



Рисунок 29 – щ. курчавый. «Давленный» препарат. Группа склереид. (Ув. X400)

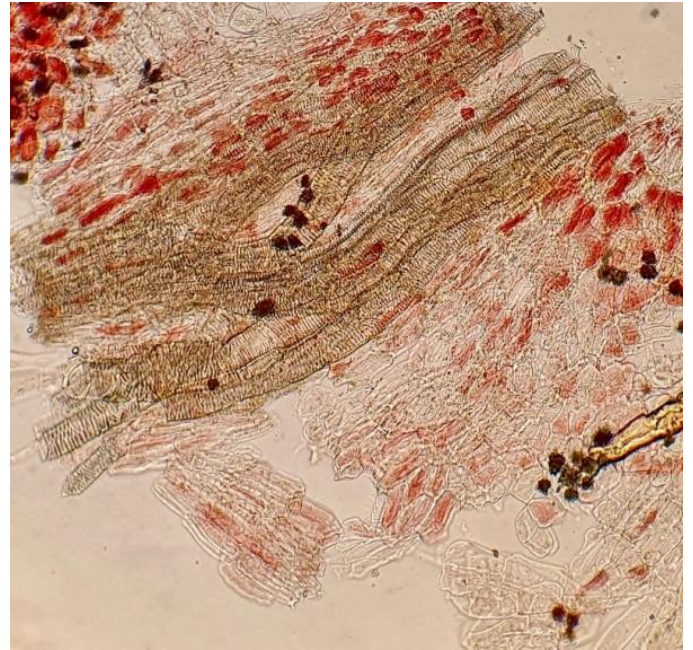


Рисунок 30 – щ. конский. «Давленный» препарат. (Ув. X40)

Обобщенные результаты сравнительного микроскопического изучения и установленные биометрические характеристики представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Обобщенные результаты сравнительного микроскопического исследования

Основные диагностические признаки	щ. конский	щ. туполистный	щ. водный	щ. курчавый
Друзы оксалата кальция	От 12,5 до 22,8 В среднем 17,6 ±4,93 мкм	От 16,6 до 41,8 длина от 16,68 до 41,7 мкм в среднем 24,60 ±6,60 мкм	От 20,8 до 58,4 от 20,85 до 58,38 мкм, в среднем 35,72±9,27 мкм	От 12,6 до 33,4 от 12,51 до 33,36 мкм, в среднем 23,91 ±6,38 мкм
Характеристика	округлые по форме, многочисленны, собранные в небольшие группы			
Крахмальные зерна	длиной от 8,34 до 31,27 мкм В среднем 17,51 ±7,00 мкм. Шириной от 8,34 до 18,77 мкм, в среднем 9,52±4,16 мкм	длина от 8,34 до 25,02 мкм в среднем 15,01 ±4,26 мкм ширина от 6,26 до 16,68, в среднем 11,537 ±3,13 мкм	длина от 4,17 до 16,68 мкм в среднем 10,70 ±2,98 мкм ширина от 4,17 до 10,43 мкм, в среднем 7,16 ±1,70 мкм	длина от 8,34 до 22,94 мкм в среднем 16,19 ±4,27 мкм ширина от 4,17 до 16,68 мкм, в среднем 10,56±2,94 мкм
Характеристика	овальной или эллиптической формы со шелевидной или лучистой трещиной посередине			

Продолжение Таблицы 12

Склерейды	длина от 125,4 до 150,6 ширина от 25,0 до 58,2	длина от 291,91 мкм до 1000,80 мкм, в среднем 484,55±165,69 мкм.	длина от 150,4 до 180,2 ширина от 25,0 до 30,2	длина от 83,4 до 583,8 мкм, в среднем 249,92 ±123,37 мкм
Характеристика	клетки округлой или удлинённой формы, с затупленными или закругленными концами желтого цвета со щелевидным просветом посередине			
Механические волокна либриформа	длинные узкие желтоватые клетки с толстыми редкопористыми стенками	длинные узкие желтоватые клетки с толстыми редкопористыми стенками	длинные узкие желтоватые клетки с толстыми редкопористыми стенками	длинные узкие желтоватые клетки с толстыми редкопористыми стенками
Сосуды ксилемы	крупные с лестничным и сетчатым вторичным утолщением	крупные с лестничным, сетчатым, реже пористым вторичным утолщением	лестничные, сетчато- пористые, спиральные, некоторые с аморфным содержимым	Лестничные, сетчатые, реже пористые

Установлено, что более крупные друзы размером до 58 мкм наблюдались у щавеля водного, а крахмальные зерна, напротив - были мельче, чем у щавеля туполистного (*R. obtusifolius*) и щавеля курчавого (*R. crispus*). Самые крупные склерейды, особенно по длине, были отмечены у щавеля туполистного (*R. obtusifolius*), которые достигали размера 1000 мкм.

Сравнительное микроскопическое изучение **измельченного и порошокванного** сырья объектов исследования показало, что все основные диагностические признаки сохраняют свое значение. В микропрепаратах как измельченного сырья, так и порошках объектов исследования диагностическое значение имеют фрагменты пробки, участки сосудов ксилемы, преимущественно с лестничным, сетчатым вторичным утолщением, клетки паренхимы с друзами оксалата кальция, механические волокна и склерейды (Рисунки 31, 32, 33 и 34). По сравнению с цельным сырьем диагностическое значение утрачивают зерна крахмала, разрушающиеся при специфической пробоподготовке «давленного» препарата.

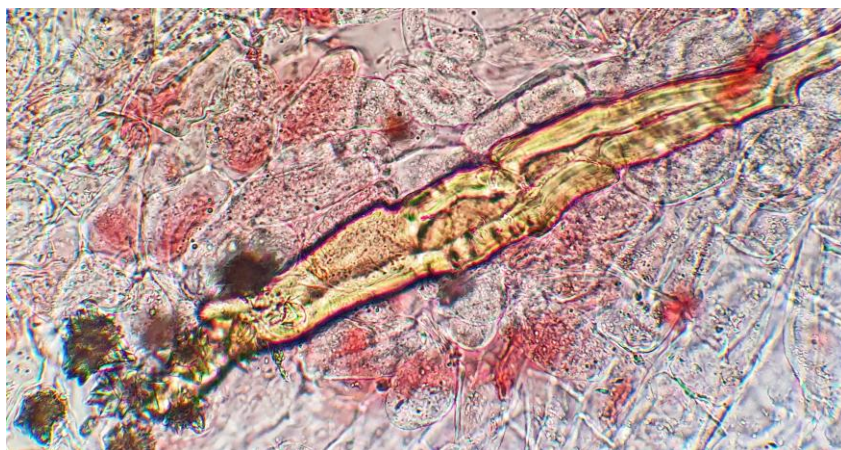


Рисунок 31 – Измельченное сырье щ. конского. Фрагмент паренхимы с друзами оксалата кальция, склереида. (Ув. Х400)



Рисунок 32 – Измельченное сырье щ. курчавого. Сосуды ксилемы. (Ув. Х400)

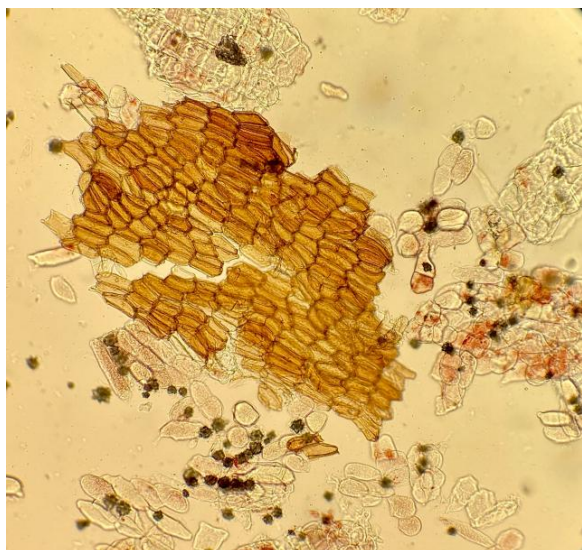


Рисунок 33 – Порошок сырья щ. туполистного. Фрагмент пробки, клетки паренхимы, друзы оксалата кальция. (Ув. Х40)



Рисунок 34 – Порошок сырья щ. туполистного. Волокна, сосуды, клетки паренхимы, друзы оксалата кальция. (Ув. Х40)

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Выявлено в ходе макроскопического анализа, что подземные части исследуемых объектов представляют собой "корни" (у щ. туполистного и щ. курчавого) или "корневища и корни" (у щ. конского и щ. водного). Различия во внешних признаках цельных корней не значительны и относятся к размерам, цвету и характеру излома. Измельченное сырье и порошок незначительно отличаются по цвету и форме кусков.
2. Установлены в результате микроскопического исследования основные анатомо-диагностические характеристики корней щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного. К ним относятся: вторичное строение корней, наличие тяжёлой ксилемы в древесине, склереиды в коровой части корня, многочисленные друзы оксалата кальция. Отмечены отличия в размерах названных анатомо-диагностических признаков.
3. Показано диагностическое значение при микроскопическом анализе измельченного и порошкованных видов сырья объектов исследования: фрагментов пробки, участков сосудов ксилемы, клеток паренхимы с друзами оксалата кальция, механических волокон и склереид. Зерна крахмала утрачивают диагностическое значение.
4. Определены схожие параметры микроскопического строения четырех видов щавелей. Вместе с тем, такой признак, как характер одревеснения механических элементов ксилемы, может различаться внутри одного вида (*R. crispus*). Отличить рассматриваемые виды *Rumex* друг от друга только по микроскопическим признакам достаточно проблематично. Определение подлинности для рассматриваемых объектов должно обязательно включать фитохимическое исследование.

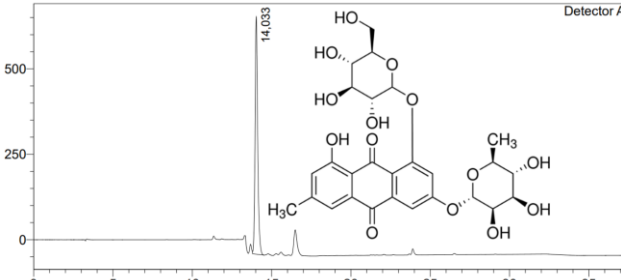
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Для анализа качественного и количественного состава индивидуальных веществ были разработаны методики количественного определения. В качестве метода анализа был выбран наиболее универсальный и доступный метод ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектированием.

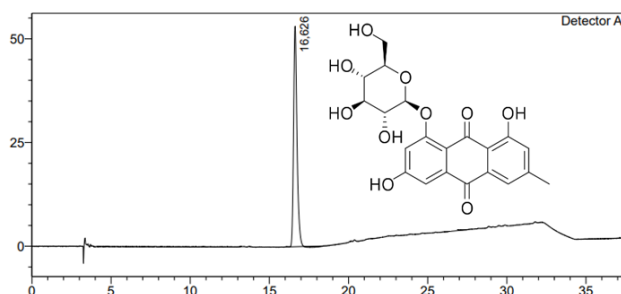
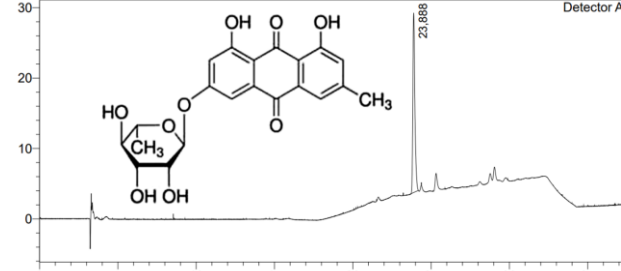
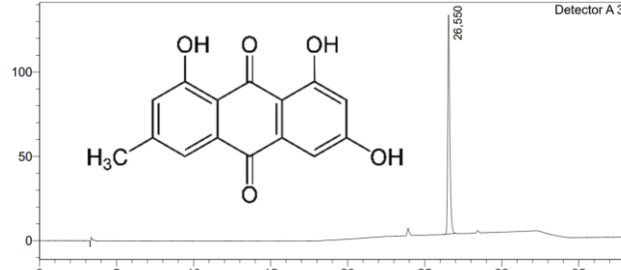
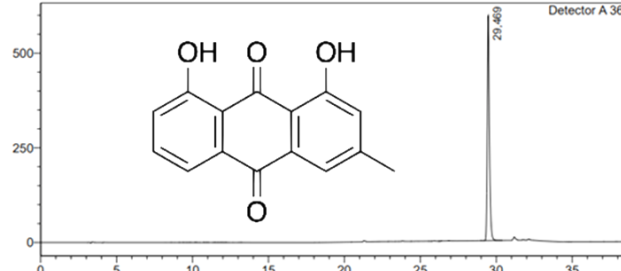
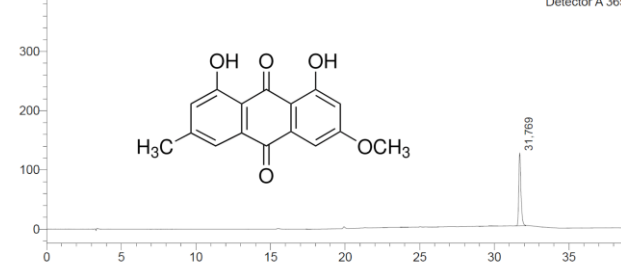
4.1. Антраценпроизводные

Перед анализом индивидуальных веществ из группы антраценпроизводных оценивали физико-химические свойства соединений на основании их структурной формулы и данных о предсказанном значении $\log P$. Выбранные стандартные образцы, их структурные формулы, значения $\log P$, а также времена удерживания в итоговых условиях методики представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Структурные формулы и физико-химические свойства изучаемых антраценпроизводных

Наименование вещества	Значение $\log P$, ALOGPS 2.1 (XLogP3-AA 3.0)	Время удерживания (RT), мин (порядок элюирования)	Структурная формула индивидуального соединения и соответствующая хроматограмма
глюкофрангулин А	-0,15 (-0.4)	14,0 (1)	

Продолжение Таблицы 13

8- <i>O</i> - β - <i>D</i> - глюкозид эмодина	0,71 (0,9)	16,6 (2)	
франгулин А	1,33 (1.4)	23,9 (3)	
эмодин	2,66 (2.7)	26,6 (4)	
хризофановая кислота	2,95 (3.5)	29,5 (5)	
фисцион	3.05 (3,0)	31,8 (6)	

Условия хроматографического разделения подбирали экспериментально, опираясь на статьи по определению в растительном сырье эмодина [101], хризофановой кислоты [102], франгулина А и глюкофрангулина А [103], затем дорабатывали под изучаемые объекты, из-за ряда особенностей: плохое разделение компонентов различной природы (гликозиды и агликоны) в рамках одной

методики, близкие значения липофильности агликонов ($\log P$ от 2.66 до 3.05) и присутствие множества сопутствующих компонентов, содержащихся в растительном сырье, которые влияли на аналиты и искажали форму пиков. Анализ франгулина А и глюкофрангулина методом ВЭЖХ-УФ в изучаемых объектах проводился впервые [104]. Принимая во внимание структуру изучаемых соединений, для детектирования использовали ультрафиолетовый детектор, который регистрировал вещества из группы антраценпроизводных за счет наличия хромофорных групп при длине волны 254 нм, что соответствовало максимуму поглощения соединений антрахиноновой природы.

Разработку хроматографической методики разделения осуществляли единичными инъекциями стандартных образцов в изократическом режиме элюирования. Модификатором подвижной фазы была выбрана муравьиная кислота, которая способствовала уменьшению ширины пика и улучшала его симметрию (Рисунок 35).

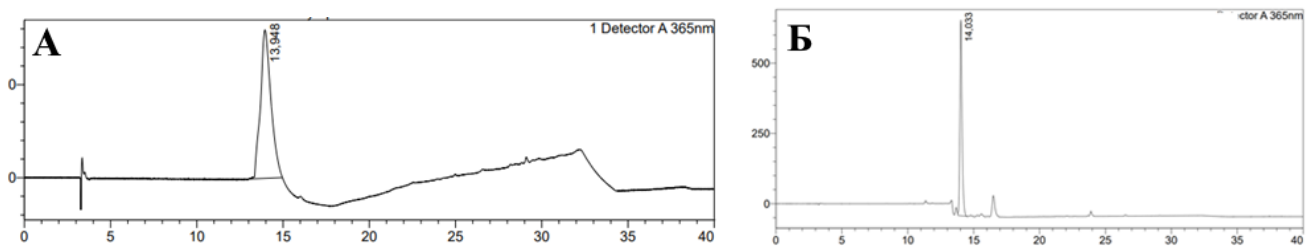


Рисунок 35 – Хроматограмма раствора стандартного образца глюкофрангулина без использования модификатора подвижной фазы (А) и с модификатором подвижной фазы (Б)

Скорость потока была выставлено на значении 1 мл/мин, что обеспечивало оптимальное общее время анализа, симметрию и ширину пика. Для подбора соотношения каналов, а также режима элюирования были выбраны два вещества со значением экстремума с минимальной величиной $\log P$ -0,15 у глюкофрангулина и максимальной величиной $\log P$ 3.05 у фисциона, после чего происходил подбор градиента. После оптимизации схемы элюирования были осуществлены единичные инъекции смеси стандартных образцов, а также испытуемого извлечения (Рисунок 36).

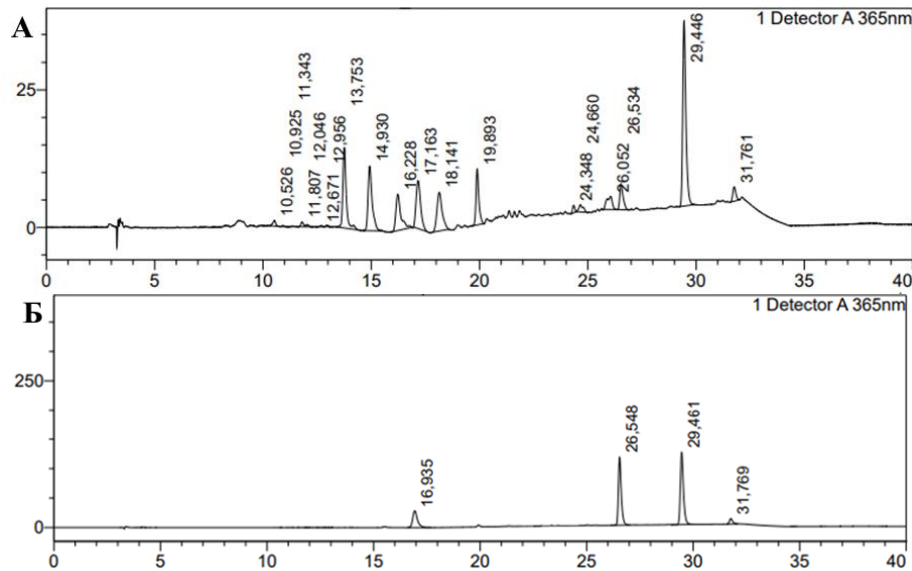


Рисунок 36 – Хроматограмма испытуемого спирто-водного извлечения из корней шавеля (А) и хроматограмма смеси растворов стандартных образцов 8-*O*- β -D-глюкозид эмодина, эмодина, хризофановой кислоты и фисциона (А)

Во всех изучаемых извлечениях была подтверждена подлинность на основании совпадения значения времени удерживания на хроматограммах испытуемых извлечений и стандартных образцов 8-*O*- β -D-глюкозид эмодина (16,6 мин), эмодина (26,6 мин), хризофановой кислоты (29,5 мин) и фисциона (31,8 мин). Пики со временами удерживания стандартных образцов гликозидов глюкофрангулина А (14,0 мин) и франгулина А (23,9 мин) в спирто-водных извлечениях из сырья детектированы не были.

Для разработанной методики проводилась частичная валидация и проверка пригодности хроматографической системы (ППХС). Контролировали параметры пригодности хроматографической системы по хроматограммам растворов СО (Таблица 14).

Таблица 14 – Параметры пригодности хроматографической системы

Соединение	Время удерживания, (RT), мин	Разрешение (R)	Количество теоретических тарелок (Н)	Коэффициент симметрии (Т)
8- <i>O</i> - β -D-глюкозид эмодина	16,62	-	33609	1,29
эмодин	26,59	34,49	199106	1,06
хризофановая кислота	29,47	11,93	224100	1,14
фисцион	31,77	7,79	10980	1,20

4.2. Флавоноиды

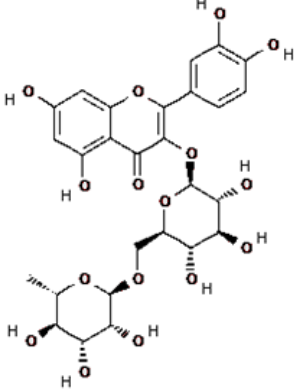
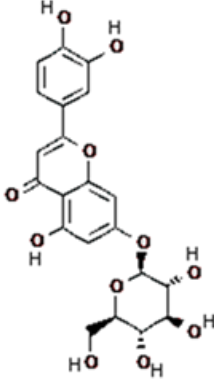
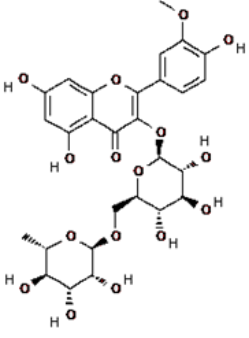
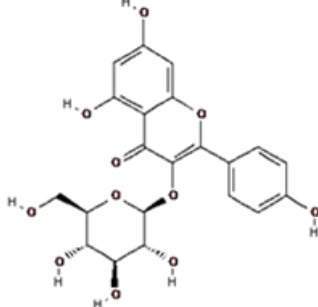
Для определения индивидуальных соединений флавоноидов была проведена оптимизация разработанной методики количественного определения антраценпроизводных. Условия хроматографического разделения подбирались экспериментально, исходя из предыдущих результатов по определению антраценпроизводных и на основании научных публикаций по данной тематике.

Важной задачей при модификации методики являлось сокращение времени анализа, что удалось обеспечить за счёт повышения скорости увеличения процента ацетонитрила после 20 минуты в схеме градиентного элюирования. Максимальный процент ацетонитрила также был увеличен с 70% до 85% в наибольшей точке схемы для обеспечения полного элюирования всех веществ из колонки и исключения переноса вещества при последующих инъекциях образца. Следствием изменения соотношения элюентов во времени было ухудшение разделения анализируемых индивидуальных стандартов флавоноидов.

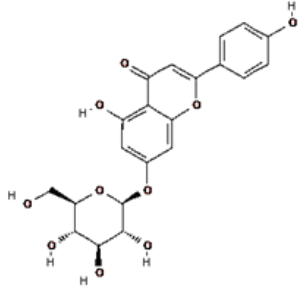
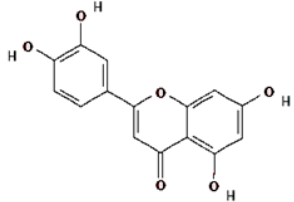
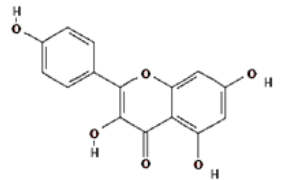
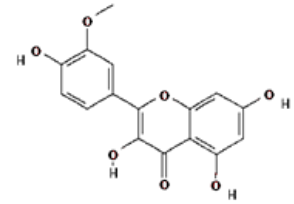
Был проведен эксперимент с уменьшением скорости потока до 0,9 мл/мин. Эта корректировка привела к увеличению ширины пиков определяемых компонентов и негативно сказалось на значении симметрии пика. Для решения данной проблемы была осуществлена работа по подбору других модификаторов подвижной фазы и выбрана ортофосфорная кислота вместо муравьиной кислоты в качестве оптимального модификатора [105]. Определение велось при двух длинах волн: 254 нм и 365 нм. Перечень индивидуальных веществ, их структурные формулы и времена удерживания представлены в Таблице 15.

По разработанной методике были проведены единичные инъекции стандартных образцов, полученные хроматограммы приведены на Рисунке 37. Затем были проведены анализы испытуемых извлечений для оценки разделения компонентов, хроматограммы спирто-водных извлечений приведены на Рисунке 38.

Таблица 15 – Индивидуальные соединения из группы флавоноиды

Название соединения	Значение log P, ALOGPS 2.1 (XLogP3-AA 3.0)	Время удерживания (RT), мин; порядок элюирования	Структурная формула
3- <i>O</i> -рутинозид кверцетина (рутин)	0,15 (-1,3)	10,8 (1)	
7- <i>O</i> -глюкозид лютеолина (цинарозид)	0,01 (0,5)	11,2 (2)	
3- <i>O</i> -рутинозид изорамнетина (нарциссин)	0,16 (-1,0)	12,1 (3)	
3- <i>O</i> -глюкозид кемпферола (астрагалин)	0,52 (0,7)	12,4 (4)	

Продолжение Таблицы 15

7- <i>O</i> -глюкозид апигенина (космосин)	0,68 (-0,1)	12,5 (5)	
лютеолин	2,73 (1,4)	17,5 (6)	
кемпферол	1,99 (1,9)	20,6 (7)	
изорамнетин	1,96 (1,9)	21,1 (8)	

Во всех изучаемых извлечениях была подтверждена подлинность на основании совпадения значения времени удерживания на хроматограммах испытуемых извлечений и стандартных образцов рутина (10,8 мин), нарциссина (12,1 мин), астрагалина (12,4 мин), лютеолина (17,5 мин), кемпферола (20,6 мин) и изорамнетина (21,1 мин). Пики со временами удерживания стандартных образцов гликозидов цинарозида (11,2 мин) и космосиина (12,5 мин) в спирто-водных извлечениях из сырья детектированы не были.

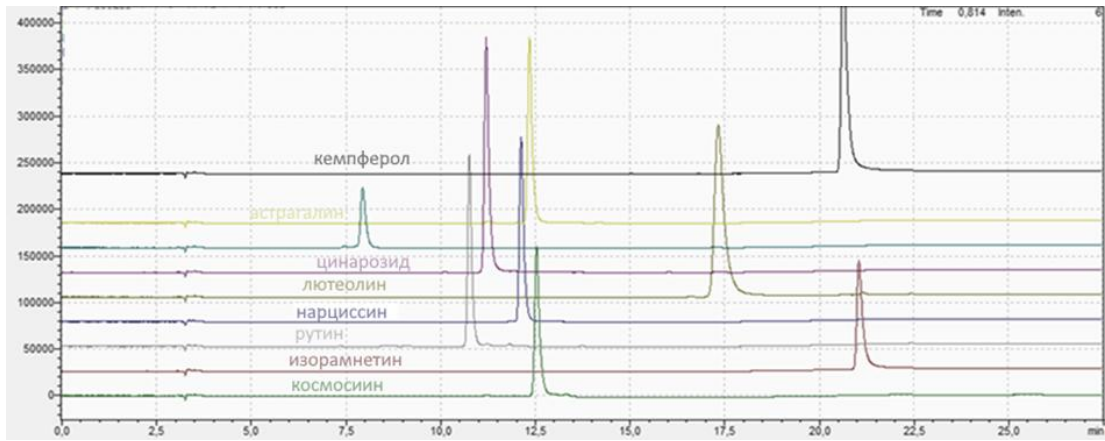


Рисунок 37 – Хроматограммы растворов стандартных образцов, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АФЛ»

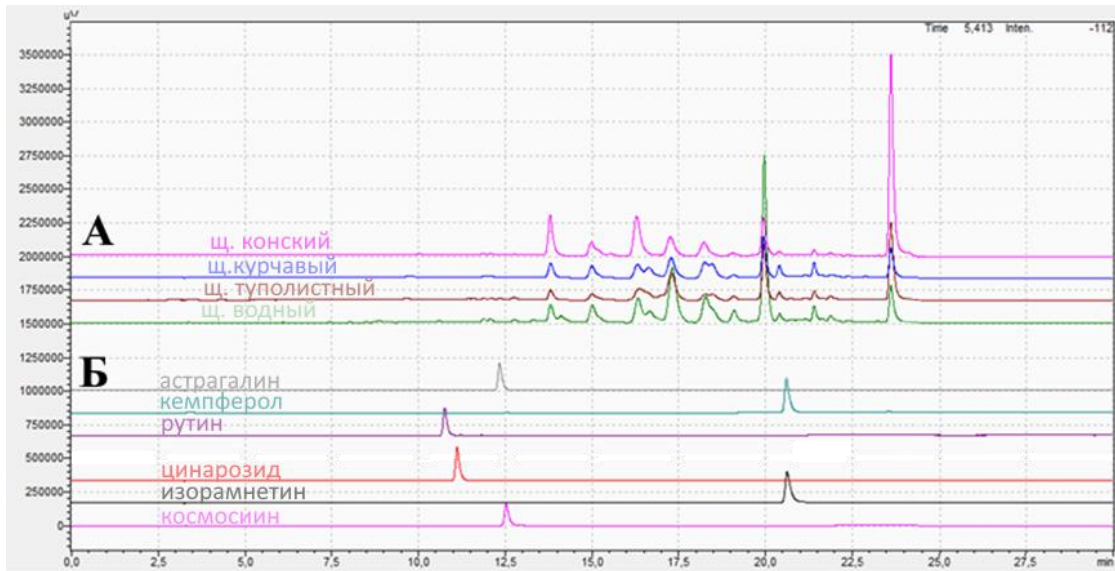


Рисунок 38 – Хроматограммы спирто-водных извлечений из щавелей фазы цветения (А), стандартных образцов (Б), полученные по методике ВЭЖХ анализа «АФЛ»

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Разработана методика количественного определения эмодина, 8-*O*- β -D-глюкозид эмодина, хризофановой кислоты и фисциона в спирто-водных извлечениях методом ВЭЖХ с УФ детектированием. Установлены оптимальные условия хроматографирования гликозидов и агликонов антраценпроизводных в извлечениях из подземных органов щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного фазы отрастания, фазы цветения и фазы отмирания надземной части. Подобраны дифференциальные области детектирования хроматографического процесса, оптимальный состав и соотношение подвижной фазы, параметры хроматографической колонки, температура колоночного термостата, время регистрации хроматограммы. Проведена частичная валидация и проверка пригодности хроматографической системы.
2. Модифицирована методика анализа антраценпроизводных для целей количественного определения индивидуальных соединений флавоноидов нарциссина, рутина, лютеолина, изорамнетина, астрагалина и кемпферола в спирто-водных извлечениях методом ВЭЖХ с УФ детектированием. Уменьшено время анализа, установлены условия разделения гликозидов и агликонов флавоноидов в извлечениях из подземных органов щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного фазы отрастания, фазы цветения и фазы отмирания надземной части.

ГЛАВА 5. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *RUMEX*

Согласно литературе, представители рода *Rumex* имеют богатый профиль БАС фенольной структуры. Основной группой БАС, стандартизуемой в официальном сырье являются антраценпроизводные. Их накопление может варьировать в зависимости от фенологической фазы растения. Согласно литературе, отмечается содержание, как веществ гликозидной структуры, а также агликоны антрахинонов, производные 9,10-антрацендиона. Выбор индивидуальных веществ для исследования проводился на основании литературных данных, с имеющимися в доступе стандартными образцами надлежащего качества.

5.1. Антраценпроизводные

Для фитохимического изучения были приготовлены спирто-водные извлечения подземных органов щ. конского, щ. туполистного, щ. курчавого и щ. водного трех фаз вегетации – отрастания, цветения, отмирания, полученные согласно главе 2. Наличие веществ группы антраценпроизводных подтверждалось добавлением щелочно-аммиачного раствора.

Все полученные извлечения приобретали красную окраску различной интенсивности. Интересно отметить, что степень окраски варьировала в зависимости от вида растения и фазы вегетации: наиболее интенсивная кроваво-красная окраска была отмечена в фазу цветения и отрастания, наименьшая бледно-красная в фазу отмирания надземной части.

С целью скринингового поиска индивидуальных соединений из группы антраценпроизводных для спирто-водных извлечений всех изучаемых объектов проведено испытание ТСХ в присутствии стандартов агликонов: эмодаина

и хризофановой кислоты. Для анализа рассматривались различные подвижные фазы, но оптимальное разделение во всех изучаемых объектах было обеспечено в условиях ТСХ, разработанных и описанных в главе 2. Полученные хроматограммы, а также коэффициент удерживания (R_f) пятен в растворах стандартных образцов и изучаемых извлечений приведена на Рисунке 39.



Рисунок 39 – Хроматограммы спирто-водных извлечений, полученные по методике ТСХ анализа «АПТ»

Во всех изучаемых объектах были обнаружены пятна, совпадающие с зонами адсорбции эмодина и хризофановой кислоты. Для щ. конского также было обнаружена неидентифицированная зона адсорбции с R_f равным 0,81. Полученные результаты позволяют судить о сходном составе агликонов в изучаемых извлечениях.

Изучение количественного содержания антраценпроизводных во всех изучаемых объектах проводилось согласно методике количественного содержания из ФС.2.5.0052.15 «Щавеля Конского корни» ГФ РФ XIV, описанной в главе 2. Была проведена апробация методики количественного определения антраценпроизводных, для извлечений, полученных из щ. курчавого, щ. туполистного, щ. водного. Все анализируемые извлечения обладали окраской от

Согласно полученным данным все изучаемые объекты содержали не менее 3% суммы антраценпроизводных в пересчёте на 8-*O*- β -D-глюкозид эмодина, за исключением щ. туполистного и щ. курчавого заготовленных в фазу отмирания надземной части, содержащие 1,92% и 2,82% суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-*O*- β -D-глюкозид эмодина соответственно [106]. Среднее значение количественного содержания между всеми видами во все фазы вегетации составило около 5,99%. Стоит отметить наибольшее содержание суммы антраценпроизводных в фазу отрастания надземной части для щ. конского, щ. туполистного и щ. водного. Исключением является щ. курчавый, у которого наиболее значение обнаружено в фазу цветения 6,88% \pm 0,57% (Рисунок 41).

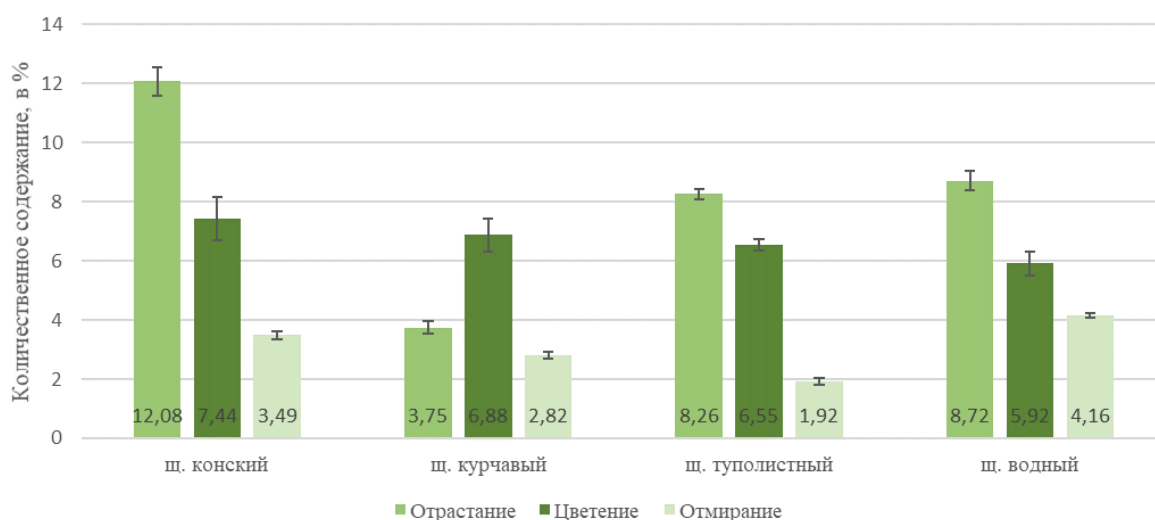


Рисунок 41 – Количественное содержание суммы антраценпроизводных, определенных по методике СФМ анализа «АПС»

Для изучения индивидуальных компонентов из группы антраценпроизводных, была проведена разработка методики количественного определения методом ВЭЖХ-УФ гликозидов и агликонов из группы антраценпроизводных в спирто-водных извлечениях из подземных органов изучаемых объектов.

В изучаемых спирто-водных извлечениях из щ. конского, щ. туполистного, щ. курчавого и щ. водного трех различных вегетаций были обнаружены и количественно определены эмодин, 8-*O*- β -D-глюкозид эмодина, хризофановая кислота и фисцион по разработанной методике анализа ВЭЖХ-УФ.

На Рисунках 42–45 приведены хроматограммы из изучаемых объектов различных фаз вегетации. Дополнительно на Рисунке 46 приведена сравнительная хроматограмма одной фазы вегетации между видами для оценки индивидуальных соединений антрахиноновой природы.

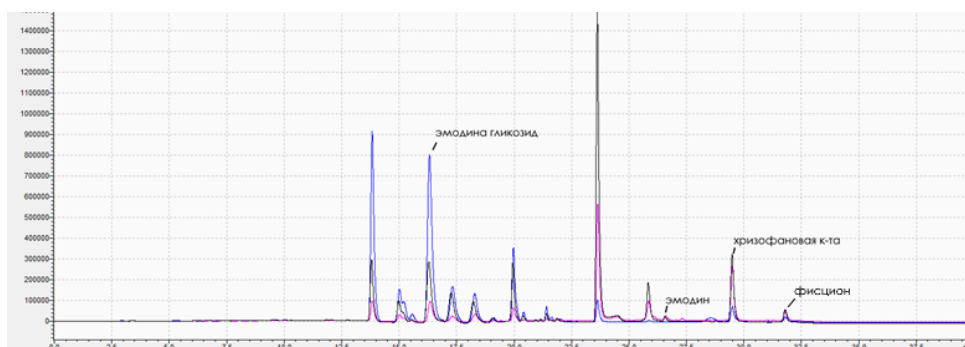


Рисунок 42 – Хроматограммы спирто-водных извлечений щ. конского, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АПР». Чёрная линия – фаза цветения, розовая – фаза отмирания, синяя – фаза отрастания

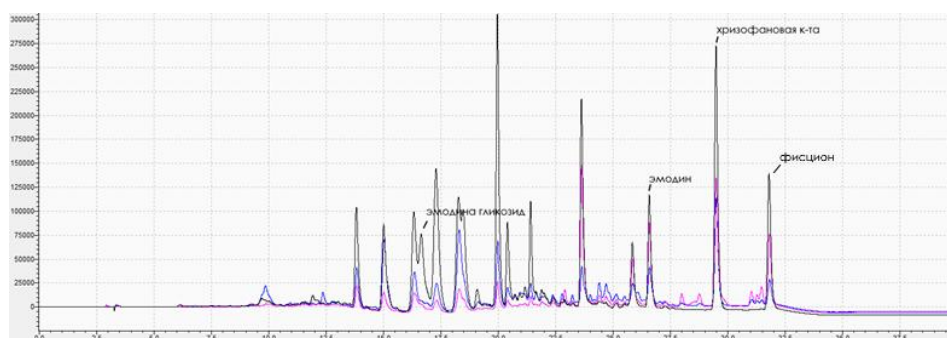


Рисунок 43 – Хроматограммы спирто-водных извлечений, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АПР» для щ. курчавого. Чёрная линия – фаза цветения, розовая – фаза отмирания, синяя – фаза отрастания

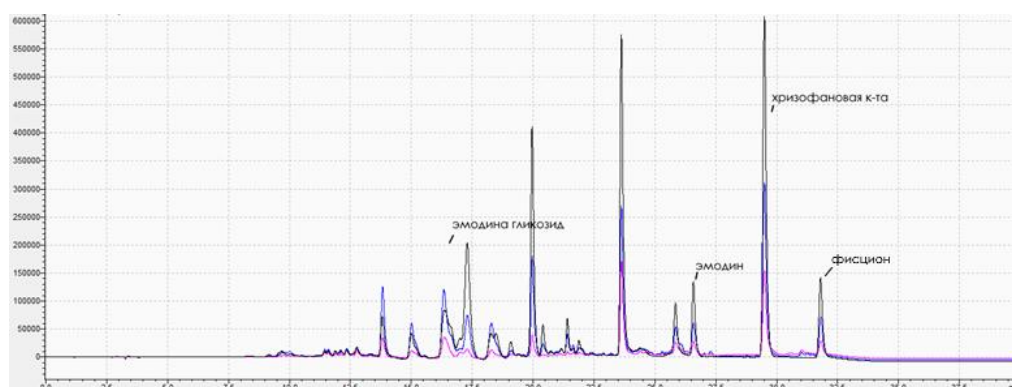


Рисунок 44 – Хроматограммы спирто-водных извлечений щ. туполистного, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АПР». Чёрная линия – фаза цветения, розовая – фаза отмирания, синяя – фаза отрастания

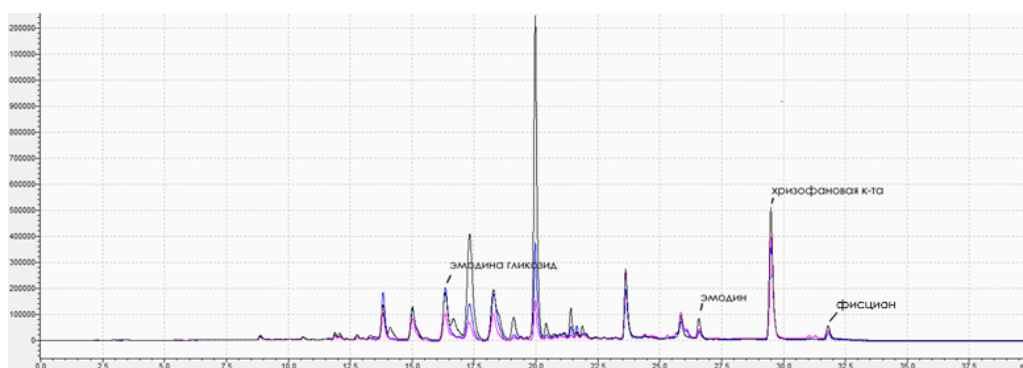


Рисунок 45 – Хроматограммы спирто-водных извлечений щ. водного, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АПР». Чёрная линия – фаза цветения, розовая – фаза отмирания, синяя – фаза отрастания

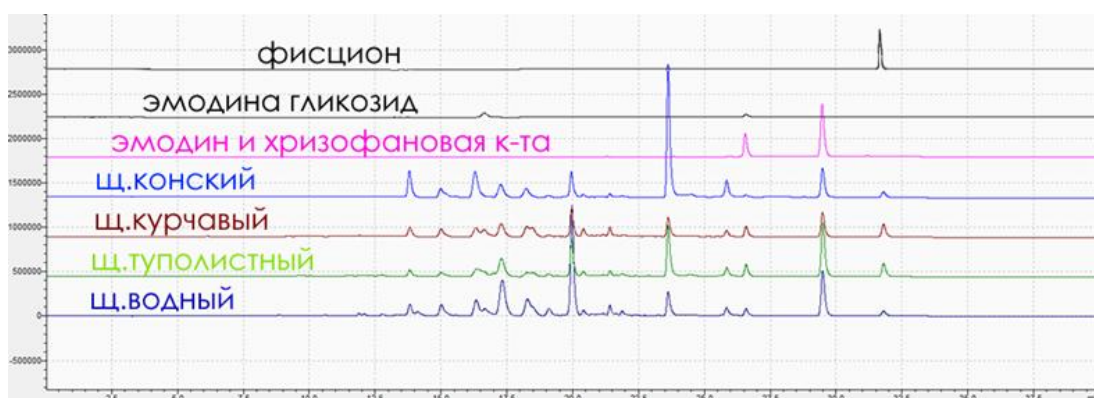


Рисунок 46 – Хроматограммы спирто-водных извлечений, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АПР» для изучаемых видов в одну фазу

Количественное содержание обнаруженных антраценпроизводных методом ВЭЖХ-УФ представлено в Таблице 17. Согласно полученным данным наибольшее содержание суммы определенных антраценпроизводных установлено у щ. конского в фазе весеннего отрастания (3,88 %), наименьшее – у щ. курчавого конца вегетации (0,32 %). Интересно отличие щ. курчавого и щ. водного от других изучаемых объектов: у них наблюдается большее содержание суммы определенных веществ в период цветения (0,98 % и 1,44 % соответственно). У всех остальных видов присутствует тенденция снижения содержания антраценпроизводных от фазы отрастания к фазе увядания. Данная зависимость прослеживается между полученным значением суммы веществ и лидирующими компонентами из изучаемой группы БАС.

Среди индивидуальных компонентов, определяемых в изучаемых объектах для щ. конского лидирующим компонентом вне зависимости от фазы вегетации

являлся 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмолина. Наибольшее содержание данного вещества было отмечено в фазу отрастания и составило 3,73%. Для данного соединения также отмечена тенденция снижения от фазы отрастания к фазе отмирания.

У щ. курчавого отмечен низкий процент содержания индивидуальных веществ в сравнение с другими изучаемыми видами. Содержание 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмолина варьировалось от 0,06% в фазу отмирания до 0,45% в фазу цветения. Содержание хризофановой кислоты и эмолина не превышало 0,28% и 0,16% соответственно, а содержание фисциона было наибольшим между изучаемыми видами и составило в фазу цветения 0,08%. Для каждого соединения в щ. курчавом – наибольшее содержание отмечалось в фазу цветения.

Таблица 17 – Количественное содержание 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмолина, эмолина, хризофановой кислоты и фисциона по методике ВЭЖХ анализа «АПР»

Вид, Фаза вегетации	щ. конский	щ. курчавый	щ. туполистный	щ. водный
Содержание эмолина, в %				
отрастание	0,002±0,001	0,054±0,002	0,080±0,002	0,040±0,001
цветение	0,029±0,001	0,161±0,004	0,180±0,001	0,102±0,001
отмирание	0,028±0,001	0,119±0,001	0,033±0,001	0,043±0,001
Содержание хризофановой кислоты, в %				
отрастание	0,097±0,002	0,119±0,003	0,334±0,002	0,403±0,010
цветение	0,321±0,005	0,281±0,002	0,622±0,007	0,531±0,003
отмирание	0,162±0,001	0,087±0,001	0,100±0,001	0,236±0,001
Содержание 8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкозида эмолина, в %				
отрастание	3,732±0,022	0,169±0,001	0,670±0,016	0,907±0,003
цветение	1,327±0,010	0,451±0,001	0,187±0,003	0,792±0,006
отмирание	0,453±0,002	0,063±0,001	0,239±0,003	0,498±0,002
Содержание фисциона, в %				
отрастание	0,057±0,002	0,010±0,001	0,018±0,005	0,005±0,003
цветение	0,069±0,001	0,087±0,010	0,031±0,003	0,011±0,003
отмирание	0,012±0,003	0,052±0,001	0,007±0,001	0,006±0,002
Сумма определенных индивидуальных веществ из группы антраценпроизводных, в %				
отрастание	3,888	0,352	1,102	1,355
цветение	1,746	0,980	1,020	1,436
отмирание	0,655	0,321	0,379	0,783

В щ. туполистном лидирующими компонентами в зависимости от фазы вегетации были 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмодина в фазу отрастания 0,67% и хризофановая кислота 0,62% в фазу цветения. В щ. туполистном фазы цветения было обнаружено наибольшее содержание эмодина в сравнение с другими объектами – 0,18%.

Щ. водный являлся вторым объектом по определенному 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмодину. Наибольшее количество было обнаружено в фазу весеннего отрастания около 0,91%, наименьшее в фазу отмирания надземной части – 0,49%. Наибольшее содержание эмодина, хризофановой кислоты и фисциона было отмечено в фазу цветения – 0,10%, 0,53% и 0,01% соответственно.

Стоит отметить схожий полученный хроматографический профиль для различных видов рода *Rumex*, а также схожие тенденции с точки зрения накопления антрахиноновых соединений, что, несомненно, требует дальнейшего изучения на большей выборке и в различных популяциях.

5.2. Флавоноиды

Среди наиболее часто упоминаемых групп соединений фенольной структуры в литературных источниках для рода щавель можно отметить группу флавоноиды. При чём имеется информация о содержании веществ, как гликозидной структуры, так и свободных агликонов флавоноидов. Последовательный фитохимический анализ осуществлялся на базе информации о подходах к качественному и количественному определению из публикаций.

Для скрининга в сырье веществ из группы флавоноиды был проведен ТСХ-анализ. В качестве стандартных образцов для проведения ТСХ флавоноидов были выбраны вещества, наиболее часто встречаемые в литературе для изучаемого рода растений. Условия проведения анализа приведены в главе 2. Полученные хроматограммы, представлены на Рисунке 47.

Отсутствие зон адсорбции с R_f , соответствующим наиболее распространенным веществам из группы флавоноидов: рутину, цинарозиду, гиперозиду и кверцетину позволяет судить об отсутствии или достаточно низком содержании веществ из данной группы БАС вне зависимости от вегетационной фазы и вида растения.



Рисунок 47 – Хроматограммы спирто-водных извлечений, полученные по методике ТСХ анализа «ФЛТ»

При этом можно отметить сходный профиль детектированных веществ с близким значением липофильности в изучаемых объектах между различными видами, который незначительно варьировал в зависимости от вегетационной фазы.

Для селективной идентификации индивидуальных компонентов, а также количественного определения веществ из группы флавоноидов была использована разработанная методика ВЭЖХ-УФ, описанная в главе 4. Для всех изучаемых объектов было посчитано количественное содержание идентифицированных веществ относительно внешнего стандарта, которое представлено в Таблице 18. На Рисунках 48–51 представлены хроматограммы спирто-водных извлечений изучаемых объектов.

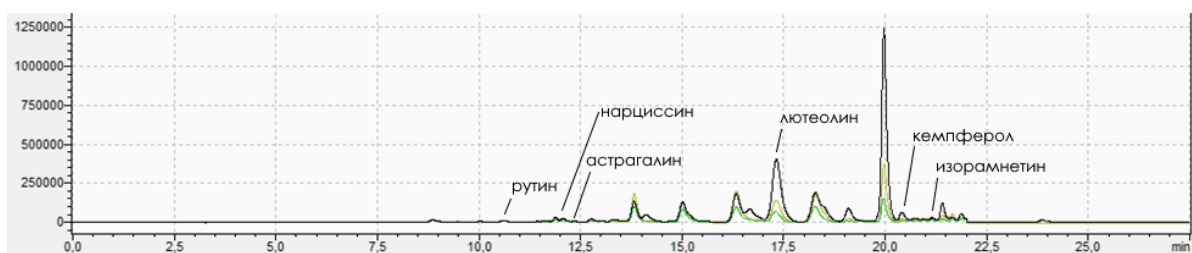


Рисунок 48 – Хроматограммы спирто-водных извлечений щ. водного, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АФЛ». Черная линия – фаза цветения, зеленая линия – фаза отмирания, желтая линия – фаза отрастания

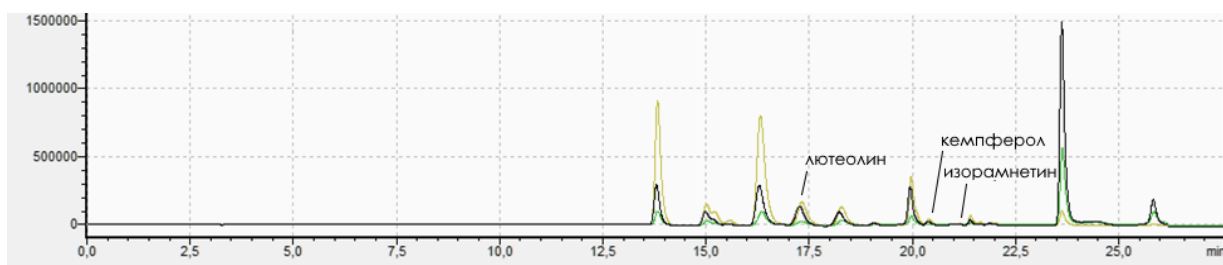


Рисунок 49 – Хроматограммы спирто-водных извлечений щ. конского, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АФЛ». Черная линия – фаза цветения, зеленая линия – фаза отмирания, желтая линия – фаза отрастания

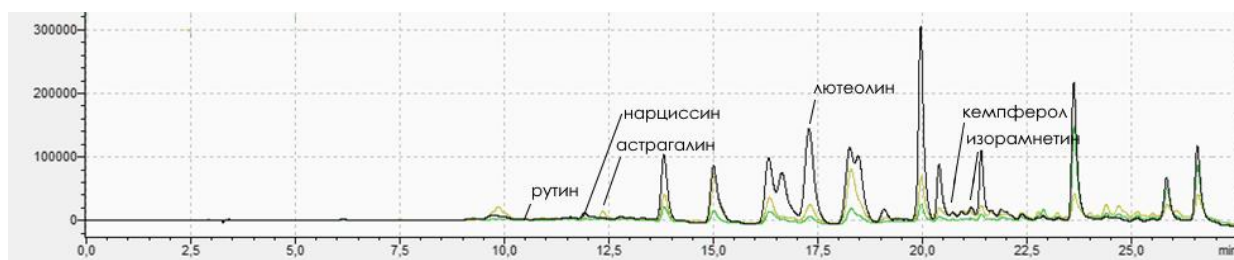


Рисунок 50 – Хроматограммы спирто-водных извлечений щ. курчавого, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АФЛ». Черная линия – фаза цветения, зеленая линия – фаза отмирания, желтая линия – фаза отрастания

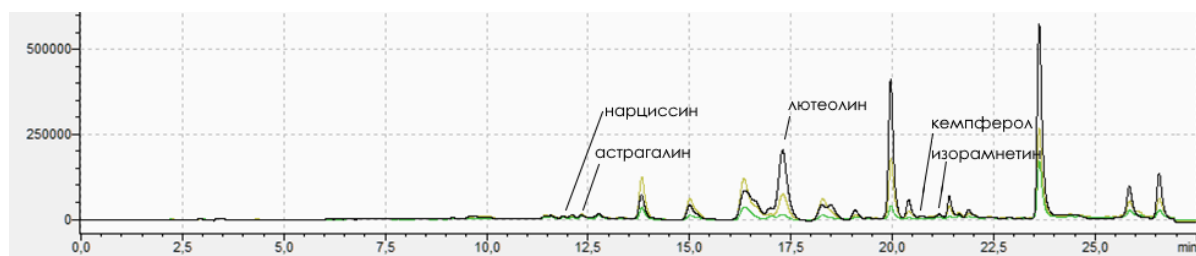


Рисунок 51 – Хроматограммы спирто-водных извлечений щ. туполистного, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АФЛ». Черная линия – фаза цветения, зеленая линия – фаза отмирания, желтая линия – фаза отрастания

Таблица 18 – Количественное содержание флавоноидов, определённое методом ВЭЖХ-УФ по методике «АФЛ»

Вид, фаза вегетации	щ. конский	щ. курчавый	щ. туполистный	щ. водный
Содержание нарциссина, в %				
отрастание	-	0,003 ± 0,001	0,009 ± 0,001	0,025 ± 0,001
цветение	-	0,011 ± 0,002	0,016 ± 0,002	0,054 ± 0,003
отмирание	-	0,002 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,028 ± 0,001
Содержание рутина, в %				
отрастание	-	0,004 ± 0,001	-	0,029 ± 0,001
цветение	-	0,003 ± 0,001	-	0,023 ± 0,001
отмирание	-	0,002 ± 0,001	-	0,026 ± 0,001
Содержание лютеолина, в %				
отрастание	0,409 ± 0,023	0,056 ± 0,004	0,138 ± 0,009	0,298 ± 0,029
цветение	0,323 ± 0,011	0,305 ± 0,030	0,383 ± 0,018	0,888 ± 0,034
отмирание	0,059 ± 0,003	0,022 ± 0,001	0,018 ± 0,003	0,138 ± 0,012
Содержание изорамнетина, в %				
отрастание	0,019 ± 0,002	0,027 ± 0,003	0,017 ± 0,001	0,065 ± 0,001
цветение	0,008 ± 0,001	0,026 ± 0,001	0,020 ± 0,001	0,025 ± 0,001
отмирание	0,005 ± 0,001	0,004 ± 0,001	0,005 ± 0,001	0,011 ± 0,001
Содержание астрагалина, в %				
отрастание	-	0,026 ± 0,001	0,023 ± 0,001	0,005 ± 0,001
цветение	-	0,002 ± 0,001	0,017 ± 0,001	0,004 ± 0,001
отмирание	-	0,004 ± 0,001	0,019 ± 0,001	0,004 ± 0,001
Содержание кемпферола, в %				
отрастание	0,003 ± 0,001	0,005 ± 0,001	0,005 ± 0,001	0,010 ± 0,001
цветение	0,002 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,007 ± 0,001	0,013 ± 0,001
отмирание	-	-	0,002 ± 0,001	0,005 ± 0,001
Сумма определенных индивидуальных веществ из группы флавоноиды, в %				
отрастание	0,431	0,121	0,194	0,433
цветение	0,333	0,353	0,443	1,008
отмирание	0,064	0,035	0,051	0,211

По полученным результатам можно судить о близком качественном составе флавоноидных соединений между изучаемыми объектами, у всех изучаемых объектов лидирующим компонентом выступало соединение агликон – лютеолин, содержание которого варьировало от 0,018% ± 0,003% у щ. туполистного в фазу отмирания надземной части до 0,888% ± 0,034% у щ. водного в фазу цветения [107]. Отмечено, что этот агликон содержится в большем количестве по отношению к другим флавоноидам во всех изученных объектах, независимо от фазы вегетации.

Стоит отметить, в целом, сравнительно невысокое содержание индивидуальных соединений, опрощенных методом ВЭЖХ-УФ в извлечениях из сырья. Интересной является закономерность наличия некоторых флавоноидов: рутин был обнаружен только у щ. курчавого и щ. водного во всех вегетационных фазах; астрагалин напротив не был обнаружен только у щ. конского во всех фенофазах; кемпферол отсутствовал в извлечениях, полученных из подземных органов щ. конского и щ. курчавого фазы отмирания надземной части растения. 7-О-глюкозид лютеолина (цинарозид) и 7-О-гликозид апигенина (космосин) не были обнаружены в изучаемых объектах.

На Рисунке 52 приведены сравнительные хроматограммы между извлечениями изучаемых видов в наиболее богатую веществами фазу цветения с наложенной хроматограммой раствора стандартного образца лютеолина.

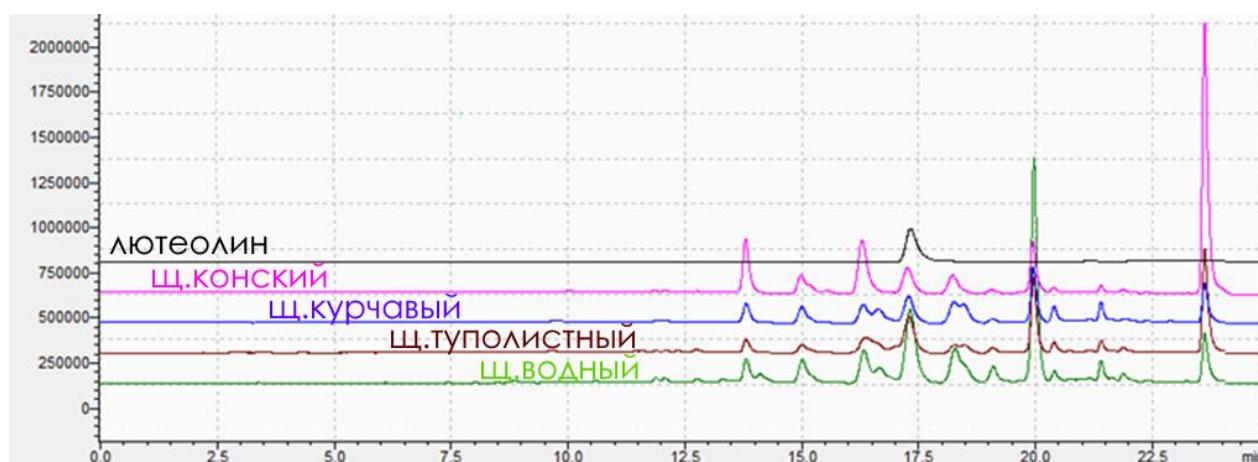


Рисунок 52 – Хроматограммы спирто-водных извлечений, полученные по методике ВЭЖХ анализа «АФЛ» между изучаемым видами в фазу цветения

5.3. Дубильные вещества

Наличие соединений из группы дубильные вещества в литературе у большинства видов *Rumex* отмечалось преимущественно для надземной части растений. Тем не менее данная группа является перспективной с точки зрения реализации биологического действия.

С целью подтверждения наличия дубильных веществ с водными извлечениями, полученными из изучаемых объектов по методике из главы 2 проводились реакции с ЖТР и ЖАК (железо-аммонийными квасцами).

По результатам качественных реакций у всех извлечений можно отметить появление окраски от темно-зеленой до серой, различной интенсивности, что свидетельствует о наличии веществ из группы дубильных веществ и преимущественно из группы конденсированных.

С целью оценки общего содержания дубильных веществ было проведено количественное определение суммы дубильных веществ, в пересчете на таннин по методике «ДВТ», указанной в главе 2. Полученные данные отображены в Таблице 19 и на Рисунке 53.

Таблица 19 – Оценка количественного содержания дубильных веществ в подземных органах методом перманганатометрии

Вид щавеля Фаза вегетации	Содержание дубильных веществ, %		
	Отрастание	Цветение	Отмирание
щ. конский	11,91 ± 0,43	12,07 ± 0,12	5,97 ± 0,21
щ. курчавый	4,14 ± 0,41	5,73 ± 0,48	5,02 ± 0,30
щ. туполистный	5,45 ± 0,20	3,53 ± 0,21	2,57 ± 0,04
щ. водный	8,83 ± 0,24	8,81 ± 0,43	4,95 ± 0,16

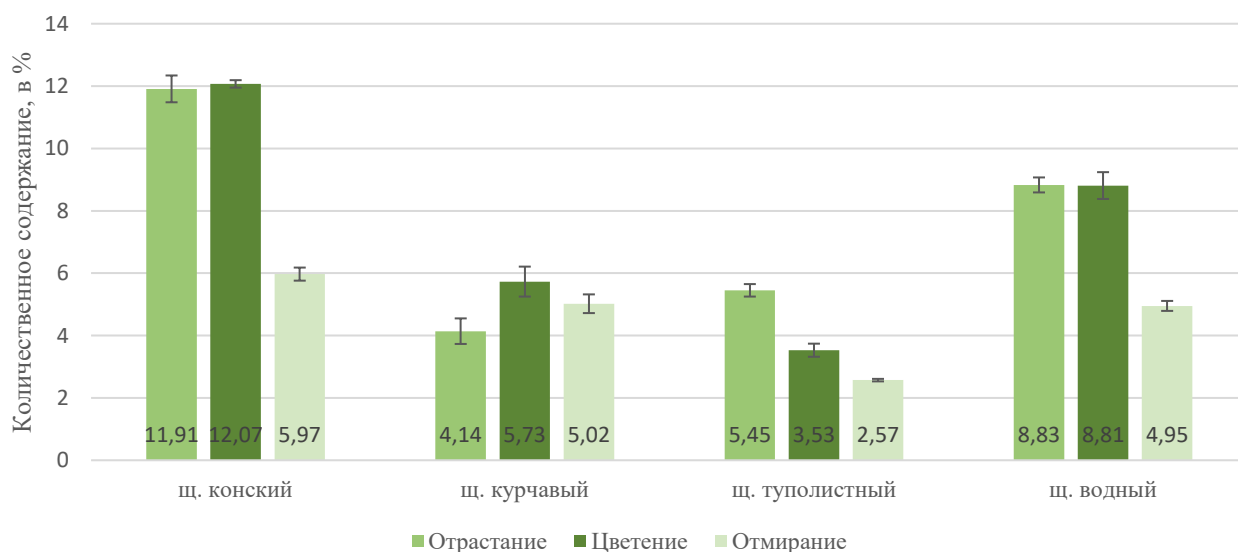


Рисунок 53 – Количественное содержание дубильных веществ в подземных органах в трех фазах вегетации, определенное по методике «ДВТ»

Среднее значение содержания во всех объектах составляет 6,58%. Недостатком метода перманганатометрии является высокая погрешность, из-за способности перманганата калия окислять другие фенольные соединения. Исходя из полученных значений: самое низкое содержание дубильных веществ было обнаружено у щ. туполистного в фазе отмирания надземной части; наибольшее - у щ. конского в фазе цветения. У всех объектов наименьшей процент был в фазе отмирания, за исключением щ. курчавого.

Определение методом спектрофотометрии проводилось двумя различными методиками: была измерена оптическая плотность нативных водных извлечений из подземных органов изучаемых видов щавеля трех различных вегетаций; а затем тех же извлечений с добавлением фосфатного буфера и ЖТР согласно главе 2 – методика «ДВЖ». Полученные спектры нативных извлечений представлены на Рисунке 54.

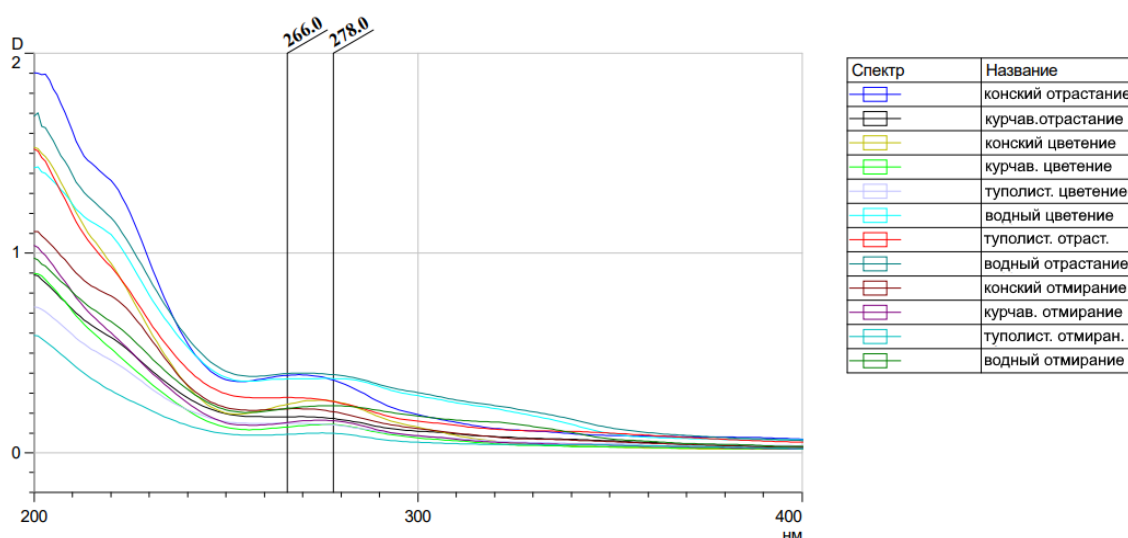


Рисунок 54 – Спектры нативных водных извлечений при двух длинах волн

Определение оптической плотности при длинах волн 266 и 278 нм у нативных извлечений имеет существенный недостаток, связанный с низкой селективностью определения, что связано с большим числом сопутствующих веществ, способных поглощать при данной длине волны. Несмотря на это, полученные предварительные данные, приведенные Таблице 20, можно использовать с целью скрининга содержания изучаемой группы БАС.

Таблица 20 – Оценка содержания дубильных веществ в нативных извлечениях методом спектрофотометрии

Вид щавеля Фаза вегетации	Содержание дубильных веществ в нативных извлечениях при 266 нм, %		
	<i>Отрастание</i>	<i>Цветение</i>	<i>Отмирание</i>
щ. конский	3,36±0,06	2,09±0,01	1,87±0,01
щ. курчавый	1,53±0,09	1,10±0,02	1,27±0,03
щ. туполистный	2,27±0,28	1,28±0,01	0,79±0,01
щ. водный	3,42±0,03	3,17±0,03	1,89±0,01
Вид щавеля Фаза вегетации	Содержание дубильных веществ в нативных извлечениях при 278 нм, %		
	<i>Отрастание</i>	<i>Цветение</i>	<i>Отмирание</i>
щ. конский	3,14±0,05	2,21±0,06	1,74±0,02
щ. курчавый	1,45±0,10	1,22±0,01	1,34±0,02
щ. туполистный	2,15±0,01	1,20±0,00	0,83±0,01
щ. водный	3,38±0,02	3,17±0,01	2,01±0,04

Наибольшее полученное значение составило 3,36% у щ. конского в фазу отрастания при длине волны 266 нм, наименьшее у щ. туполистного – 0,79% при этой же длине волны. У некоторых видов отмечена тенденция снижения содержания от фазы отрастания к фазе отмирания, исключением является щ. курчавый, у которого меньшее значение обнаружено в фазу цветения.

С целью увеличения селективности методики с водными извлечениями было решено провести реакцию, которая обеспечит батохромный сдвиг максимума поглощения анализируемых веществ и повысит селективность аналитической методики. В качестве реактива был выбран тартрат железа, методика представлена в главе 2. В качестве раствора сравнения использовались те же извлечения, очищенные от дубильных веществ с помощью ацетата свинца, образующего комплексы с дубильными веществами, выпадающими в осадок.

Спектрофотометрическое определение концентраций в извлечениях после реакции с ЖТР проводилось при длине волны 545 нм, что позволило отделить дубильные вещества от других фенольных соединений, для которых не характерна данная реакция благодаря тому, что ацетат свинца из всех фенольных соединений преимущественно осаждает только ДВ. Данный факт можно подтвердить

сравнением количественных результатов нативных соединений при длине волны 266 и 278 нм и после реакции тех же экстрактов с ЖТР (Рисунок 55).

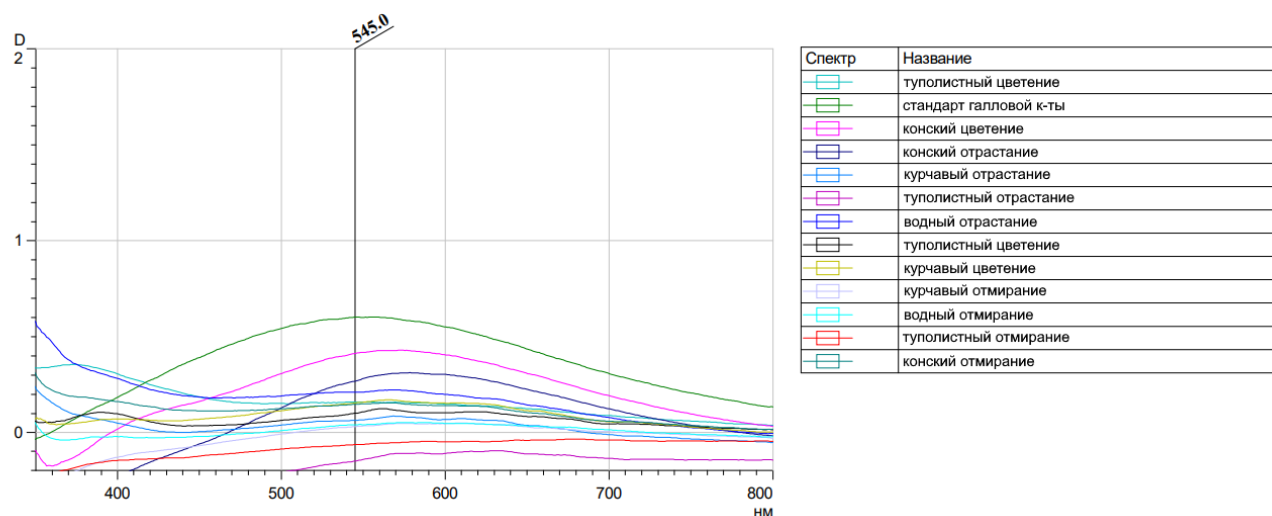


Рисунок 55 – Спектры водных извлечений, полученные по методике СФМ анализа «ДВЖ»

Результаты количественного содержания дубильных веществ после реакции с ЖТР характерно ниже, чем у нативных извлечений, что связано с селективным связыванием данных веществ и наличием батохромного сдвига максимума поглощения на более селективную длину волны (545 нм) (Таблица 21). У щ. туполистного отмечается полное отсутствие дубильных веществ в фазы отрастания и отмирания, что подтверждается и в литературных источниках.

Таблица 21 – Оценка содержания ДВ после реакции с ЖТР методом СФМ

Вид щавеля Фаза вегетации	Содержание дубильных веществ, %		
	Отрастание	Цветение	Отмирание
щ. конский	2,03±0,02	4,32±0,07	1,11±0,11
щ. курчавый	0,48±0,10	1,17±0,03	0,23±0,14
щ. туполистный	-	0,75±0,10	-
щ. водный	1,59±0,11	1,52±0,04	0,29±0,05

В сравнении с нативными извлечениями в фазе отрастания можно отметить в целом большее содержание фенольных соединений, но веществ из группы дубильных больше именно в фазу цветения. Сравнение содержания дубильных веществ по фазам вегетации приведено на Рисунке 56.

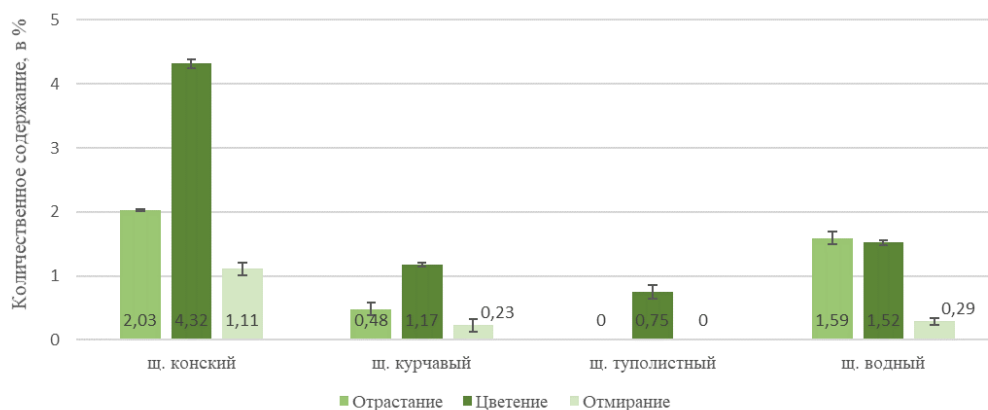


Рисунок 56 – Количественное содержание дубильных веществ в подземных органах в трех фазах вегетации, определенное по методике «ДВЖ»

При спектрофотометрическом определении после реакции с ЖТР наибольшее содержание среди всех видов в щ. конском сохраняется в фазе цветения 4,32%.

С целью оценки количественного содержания индивидуальных дубильных веществ было проведено хроматографическое определение согласно методике «ДВВ», указанной в главе 2. На Рисунке 57 приведена хроматограмма смеси стандартных образцов.

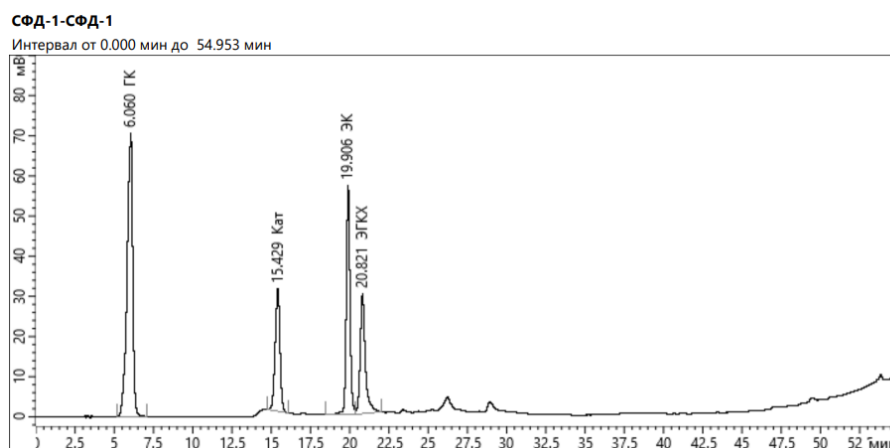


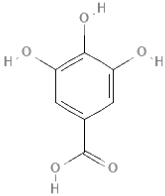
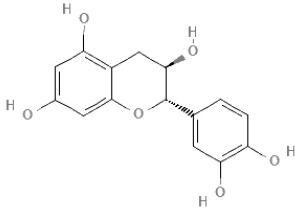
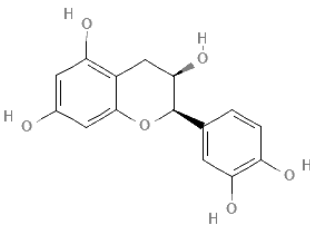
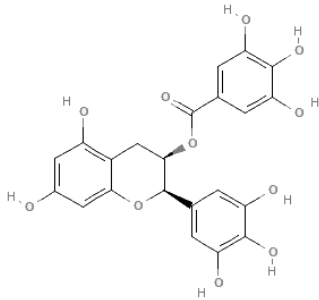
Рисунок 57 – Хроматограммы смеси стандартных образцов дубильных веществ, полученные по методике ВЭЖХ анализа «ДВВ»

Перед анализом выполняли тест для оценки параметров пригодности хроматографической системы по хроматограммам растворов СО, которые представлены в Таблице 22. Стандартные образцы, использованные в ходе анализа ВЭЖХ, а также их формулы представлены в Таблице 23.

Таблица 22 – Параметры пригодности хроматографической системы

Соединение	Время удерживания, (RT), мин	Разрешение (R)	Количество теоретических тарелок (H)	Коэффициент симметрии (T)
ГК	6,060	15,784	4633	0,498
К	15,784	9,187	8273	0,805
ЭК	19,906	1,945	25209	1,118
ЭГКХ	20,821	-	14796	1,567

Таблица 23 – Индивидуальные соединения дубильных веществ

Соединение	Значение log P, ALOGPS 2.1 (XLogP3-AA 3.0)	Время удерживания (RT), мин; порядок элюирования	Структурная формула
Галловая кислота (ГК)	1,17 (0,7)	6,06 (1)	
Катехин (К)	1,02 (0,4)	15,43 (2)	
Эпикатехин (ЭК)	1,02 (0,4)	19,91 (3)	
Эпигаллокатехин галлат (ЭГКХ)	2,55 (1,5)	20,82 (4)	

На рисунках 58–61 приведены полученные хроматограммы. По результатам определения можно сделать вывод о полном отсутствии в большинстве объектов изучаемых веществ или крайне низком содержании веществ, которые были выбраны в качестве стандартных образцов. Полученное количественное содержание приведено в Таблице 24. Полученные результаты эксперимента описаны в публикации [108].

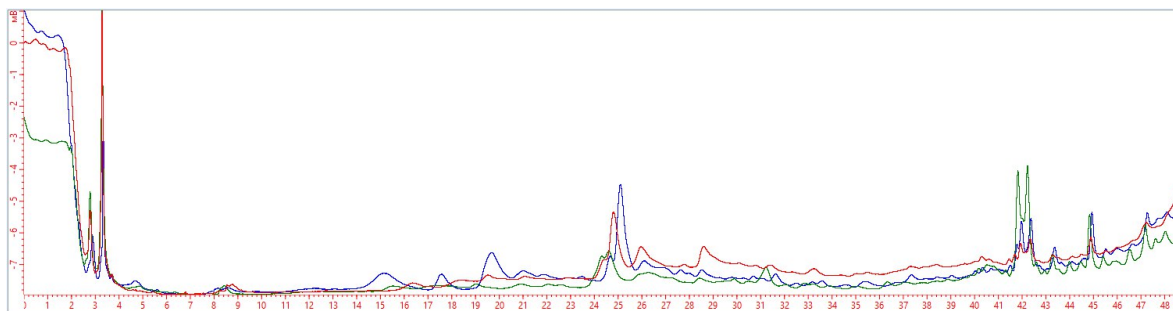


Рисунок 58 – Хроматограммы водных извлечений щ. туполистного, полученные по методике ВЭЖХ анализа «ДВВ». Красный – фаза отрастания, зеленый фаза цветения, синий – фаза отмирания

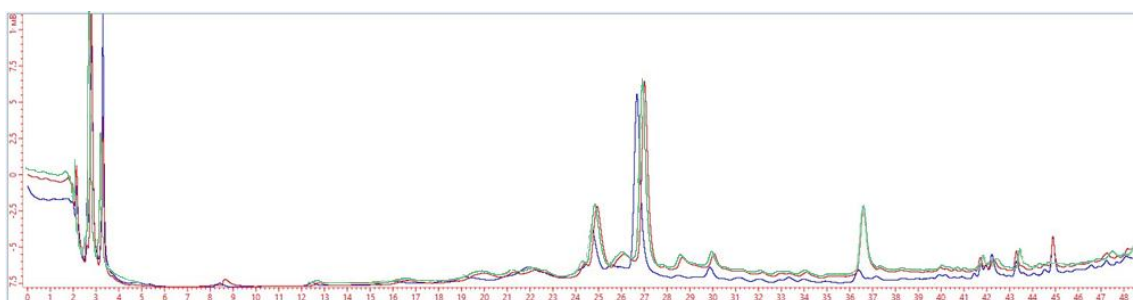


Рисунок 59 – Хроматограммы водных извлечений щ. водного, полученные по методике ВЭЖХ анализа «ДВВ». Красный – фаза отрастания, зеленый фаза цветения, синий – фаза отмирания

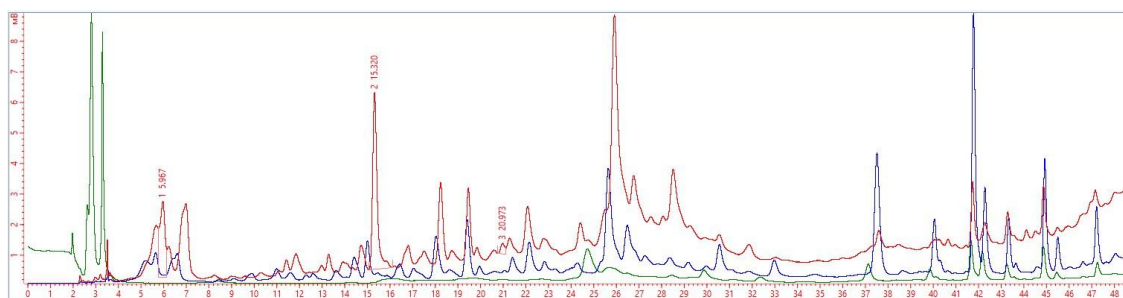


Рисунок 60 – Хроматограммы водных извлечений щ. конского, полученные по методике ВЭЖХ анализа «ДВВ». Красный – фаза отрастания, зеленый фаза цветения, синий – фаза отмирания

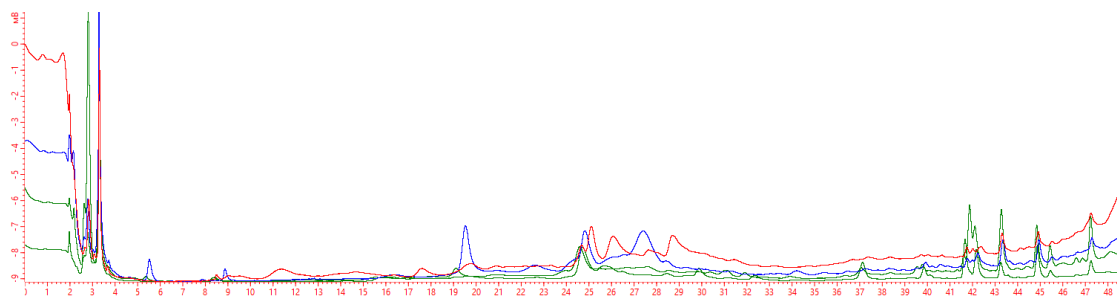


Рисунок 61 – Хроматограммы водных извлечений щ. курчавого, полученные по методике ВЭЖХ анализа «ДВВ». Красный – фаза отрастания, зеленый фаза цветения, синий – фаза отмирания

Таблица 24 – Количественное содержание отдельных компонентов из группы дубильных веществ

Фаза	Вид	X, % ГК	X, % Катехин	X, % ЭК	X%, ЭГКХ
Отмирание	щ. конский	0,003±0,01	0,054±0,02	0,001±0,06	0,001±0,08
	щ. курчавый	0	0	0	0
	щ. туполистный	0	0	0	0
	щ. водный	0	0	0	0
Отрастание	щ. конский	0	0	0,004±0,01	0
	щ. курчавый	0,003±0,02	0	0	0
	щ. туполистный	0	0	0	0
	щ. водный	0	0	0	0
Цветение	щ. конский	0	0	0	0
	щ. курчавый	0	0	0	0
	щ. туполистный	0	0	0	0
	щ. водный	0	0	0	0

Можно отметить, что во всех объектах отсутствуют выбранные в качестве стандартных образцов индивидуальные вещества из группы дубильных. Данные результаты позволяют предположить о накоплении в сырье преимущественно гидролизуемых танинов. Данное утверждение согласуется с результатами качественных реакций.

5.4. Аминокислоты

С целью оценки влияния первичных метаболитов на динамику накопления фенольных соединений было принято решение изучить содержание свободных аминокислот, играющих важную роль в синтезе вторичных метаболитов. Особенно актуально было провести данное исследование для всех вегетационных фаз с целью поиска закономерностей в накоплении фенольных БАС в изучаемых объектах.

Подтверждение наличия отдельных свободных аминокислот проводили методом ТСХ по методике «АКТ», описанной в главе 2. Для определения оптимального объёма нанесения осуществляли серию тестов с использованием микрошприца для нанесения анализируемых экстрактов различного объёма (от 1 до 10 мкл) на хроматографические пластинки. Исходя из полученных результатов видимость пятен ухудшалась при объёмах образцов менее 4 мкл, а эффективность разделения ухудшалась при объёмах, превышающих 7 мкл. Поэтому оптимальный объём образца для экспериментов составляет 5 мкл.

Результаты качественного анализа профиля свободных аминокислот в экстрактах, полученных от щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного представлены Рисунке 62.

Установлено, что химический состав разных видов *Rumex* в фазе цветения неодинаков. Собранные данные выявили наличие 2-4 хроматографических зон, которые можно разделить на заменимые (аланин, серин) и незаменимые (изолейцин, метионин) аминокислоты. Примечательно, что наиболее богатый профиль аминокислот наблюдался у щ. туполистного, а наименее разнообразный – у щ. водного. Кроме того, изолейцин был обнаружен в образцах щ. конского, щ. туполистного и щ. водного, а в образцах щ. конского, щ. курчавого и щ. туполистного обнаружен метионин.

ТСХ-профили изучаемых объектов в фазе увядания показывают увеличение числа хроматографических зон в пределах от 5 до 8. Экстракт щ. конского имеет неидентифицированную зону адсорбции со значением $R_f 0,91 \pm 0,02$, тогда как зона адсорбции, соответствующая аспарагиновой кислоте, присутствует

у щ. туполистного. Во всех изученных экстрактах имеется неидентифицируемая зона со значением $R_f 0,730 \pm 0,02$.

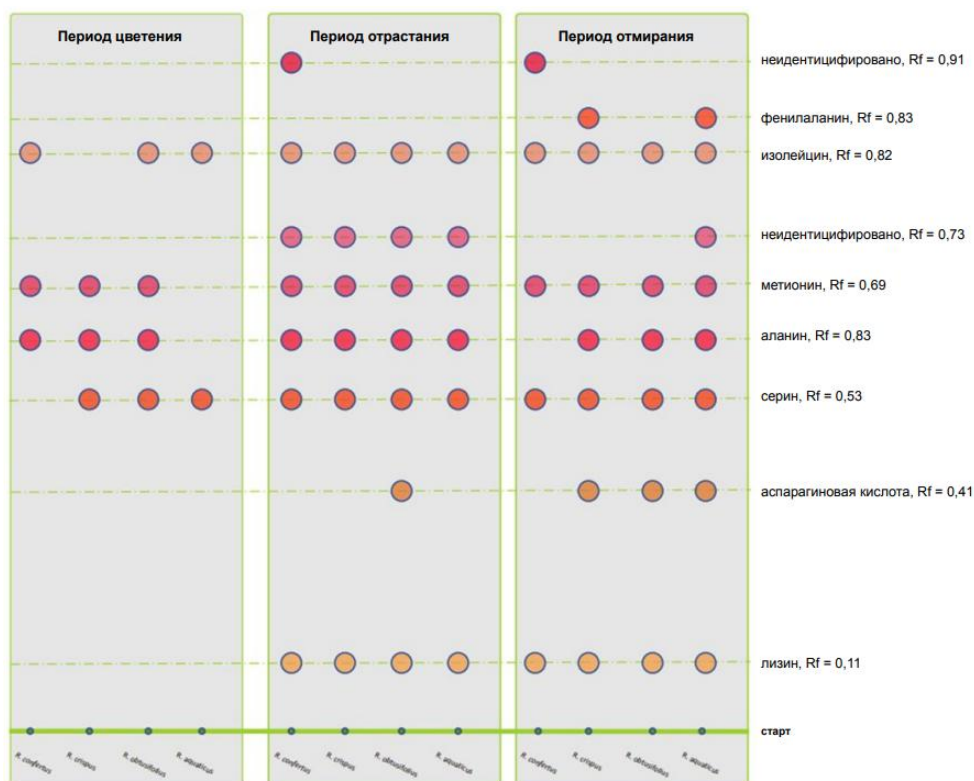


Рисунок 62 – Хроматограммы водных извлечений, полученные по методике ТСХ анализа «АКТ»

В фазе отрастания у щ. конского наблюдаются пять хроматографических зон, в том числе неидентифицированная зона со значением $R_f 0,91 \pm 0,02$; однако зона, соответствующая аланину, исчезает.

У щ. курчавого появляются две дополнительные зоны адсорбции, соответствующие аспарагиновой кислоте и фенилаланину, тогда как у щ. туполистного исчезает зона со значением $R_f 0,73 \pm 0,02$. Примечательно, что щ. водный имеет наиболее разнообразный профиль среди четырех видов и имеет 8 хроматографических зон; по сравнению с фазой увядания появляется зона адсорбции, соответствующая аспарагиновой кислоте. При этом только у щ. туполистного сохраняется неидентифицированная зона адсорбции со значением $R_f 0,73 \pm 0,02$ на протяжении всей фазы отрастания.

Общее содержание свободных аминокислот оценивали с помощью спектрофотометрии после нингидриновой реакции методике «АКС», указанной

в главе 2. Полученные спектры представлены на Рисунке 63. Подробные результаты исследования приведены в научной публикации [109].

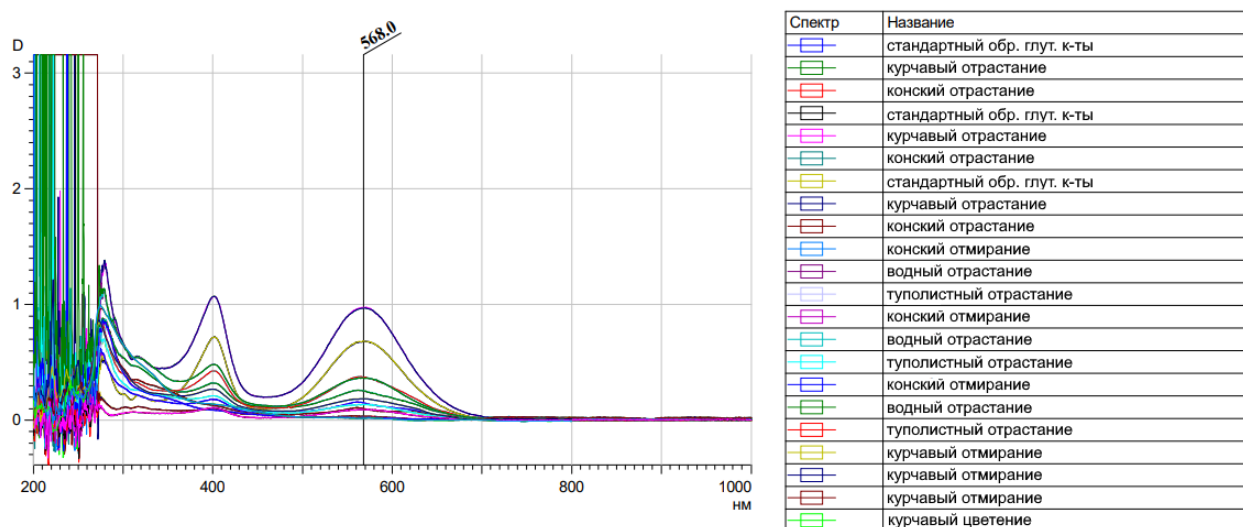


Рисунок 63 – Спектры анализируемых водных извлечений, полученные по методике СФМ анализа «АКС»

Результаты спектрофотометрического анализа представлены в Таблице 25 и отображены на Рисунке 64 ниже.

Таблица 25 – Результаты спектрофотометрического определения суммы аминокислот, полученные по методике СФМ анализа «АКС»

Вид	Среднее значение оптической плотности	X, в %
Фаза отрастания		
щ. конский	0,033	0,050 ± 0,004
щ. курчавый	0,969	1,469 ± 0,306
щ. водный.	0,251	0,381 ± 0,046
щ. туполистный	0,371	0,562 ± 0,051
Фаза цветения		
щ. конский	0,020	0,030 ± 0,001
щ. курчавый	0,134	0,203 ± 0,036
щ. водный.	0,057	0,087 ± 0,420
щ. туполистный	0,183	0,278 ± 0,016
Фаза отмирания надземной части		
щ. конский	0,147	0,222 ± 0,015
щ. курчавый	0,099	0,150 ± 0,003
щ. водный.	0,363	0,550 ± 0,004
щ. туполистный	0,632	0,957 ± 0,144

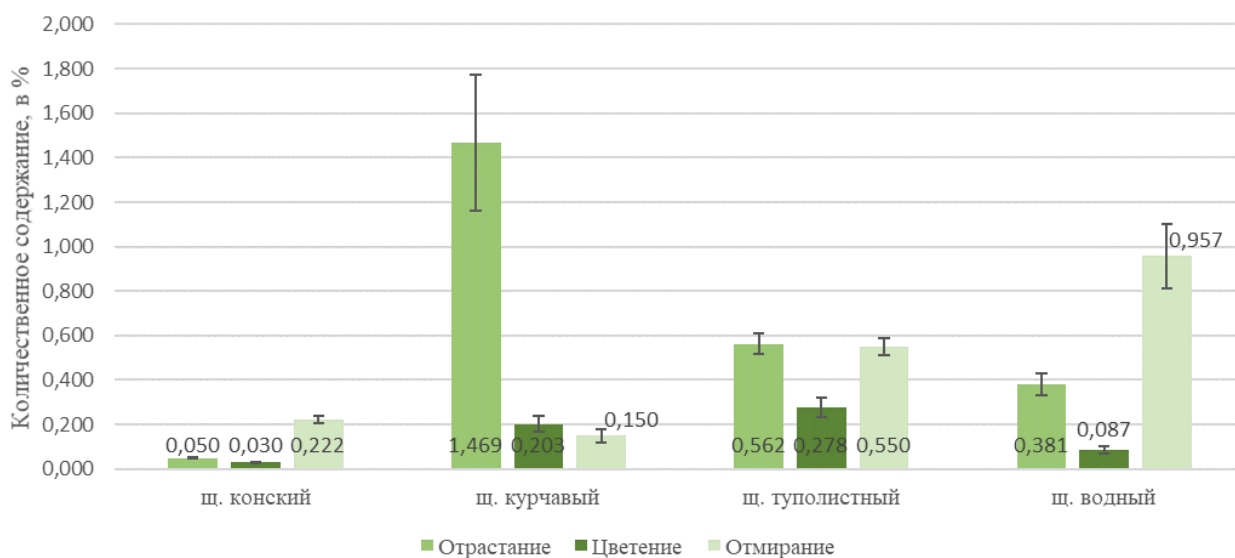


Рисунок 64 – Результаты количественного содержания суммы свободных аминокислот в водных извлечениях подземных органов

Все четыре вида имеют общую тенденцию к содержанию минимального количества свободных аминокислот во время фазы цветения. У щ. конского и щ. водного максимальное содержание аминокислот наблюдается в фазу увядания. Интересно, что щ. курчавый демонстрирует самое высокое общее содержание аминокислот во время фазы отрастания, тогда как щ. туполистного отмечено самое высокое общее содержание аминокислот как в фазе цветения, так и в фазе увядания. Примечательно, что щ. конского имеет самое низкое суммарное содержание аминокислот во все фазы вегетации (наибольшее значение 0,22%). Все четыре вида имеют общую тенденцию к содержанию минимального количества свободных аминокислот во время фазы цветения.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Подтверждены вещества из группы антраценпроизводных как качественными реакциями и ТСХ, так и инструментальными методами анализа СФМ и ВЭЖХ-УФ во всех изучаемых объектах. Сумма веществ, определенная методом СФМ в пересчёте на 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмолина превышает 3,0%, что отвечает требованиям по стандартизации официального сырья. Исключениями являются извлечения из подземных органов щ. туполистного и щ. курчавого, заготовленные в фазу отмирания надземной части, для них содержание составило 1,92% и 2,82% соответственно. Для трёх видов отмечается тенденция большего содержания суммы антраценпроизводных в фазу весеннего отрастания. Исключением является щ. курчавый, у которого наибольшее значение суммы антраценпроизводных определяется в фазу цветения. Для всех 4 изучаемых видов можно отметить меньшее содержание антраценпроизводных в фазу отмирания надземной части. Количественно определены такие индивидуальные вещества, как: эмодин, 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмолина, хризофановая кислота и фисцион. Для всех видов отмечено, как относительно близкое количественное содержание веществ из группы антраценпроизводных, так и сходный качественный состав, что позволяет судить о близком профиле изучаемых видов и отсутствии маркерных соединений.

2. Установлено присутствие в сырье флавоноидов. Результаты определения ВЭЖХ-УФ позволяют судить о низком суммарном содержании идентифицированных флавоноидов и схожем профиле соединений между видами. У трех представителей рода *Rumex* наибольшее содержание флавоноидов отмечено в фазу цветения, исключение составляет щ. конский. Содержание идентифицированных флавоноидов у щ. водного в фазу цветения в два раза выше, чем у остальных изученных видов. Наибольшую долю в общем количественном содержании индивидуально детектированных флавоноидов занимает агликон – лютеолин. Отмечено, что этот агликон содержится в большем количестве по отношению к другим флавоноидам во всех изученных объектах, независимо

от фазы вегетации. При этом лютеолин гликозид не был обнаружен ни в одном из объектов.

3. Подтверждено наличие дубильных веществ во всех объектах с помощью качественных реакций. Исходя из степени окраски можно предположить, что во всех объектах соединения из группы дубильных веществ имеют сходную структуру. Было подтверждено отсутствие анализируемых методом ВЭЖХ-УФ соединений (галловая кислота, эпикатехин, катехин и эпигаллокатехин галлат), однако, исходя из литературных данных и результатов спектрофотометрии после комплексообразования, можно предположить, что в видах *Rumex* преобладают именно гидролизуемые танины. Данный вопрос является перспективным для дальнейшего изучения, учитывая полученное значение количественного содержания суммы веществ из данной группы: при титриметрическом определении для всех изучаемых видов отмечается наименьшее содержание дубильных веществ в фазу отмирания надземной части. Лидирующий вид по содержанию дубильных веществ определённых перманганатометрией – щ. конский в фазу цветения и весеннего отрастания: $12,07\% \pm 0,12\%$ и $11,91\% \pm 0,43\%$ соответственно, среднее значение определенных дубильных веществ составило около 6,58%.

4. Установлено, что состав свободных аминокислот у разных видов *Rumex* в фазе цветения неодинаков. Примечательно, что наиболее богатый профиль аминокислот наблюдался у щ. туполистного, а наименее разнообразный – у щ. водного. ТСХ-профили изучаемых объектов в фазе увядания показывают увеличение числа хроматографических зон в пределах от 5 до 8. Выявлено наименьшее количественное содержание свободных аминокислот, определенное методом СФМ в фазу цветения, исключением является щ. курчавый, у которого наименьшее содержание обнаружено в фазу отмирания ($0,15\% \pm 0,003\%$). Можно предположить, что наименьшее содержание аминокислот в фазу цветения и накопление биоактивных соединений имеют зависимость.

ГЛАВА 6. АНТИРАДИКАЛЬНАЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *RUMEX*

Исходя из литературной информации по механизму биологического действия компонентов фенольной природы изучали наиболее перспективные направления: антирадикальную и антибактериальную активность.

6.1. Антирадикальная активность

Все проанализированные водно-спиртовые извлечения демонстрировали высокий уровень антирадикальной активности в отношении ДФПГ свободного радикала. Полученные результаты представлены в сводной Таблице 26. По полученным результатам были построены графики зависимости степени ингибирования от концентрации извлечений Рисунок 65-68.

Таблица 26 – Результаты исследования антирадикальных свойств извлечений из подземных органов щавелей в ДФПГ-тесте

Фаза вегетации	Вид растительного сырья	IC ₅₀ , мкг/мл
цветение	щ. конский	27,47 ± 0,20
	щ. водный	64,94 ± 0,18
	щ. туполистный	86,37 ± 2,75
	щ. курчавый	58,87 ± 1,62
отмирание	щ. конский	66,29 ± 1,06
	щ. водный	71,50 ± 1,97
	щ. туполистный	165,28 ± 4,83
	щ. курчавый	155,93 ± 4,02
отрастание	щ. конский	25,18 ± 0,44
	щ. водный	56,99 ± 2,81
	щ. туполистный	86,30 ± 2,86
	щ. курчавый	88,50 ± 2,69
Аскорбиновая кислота		9,2 ± 0,10

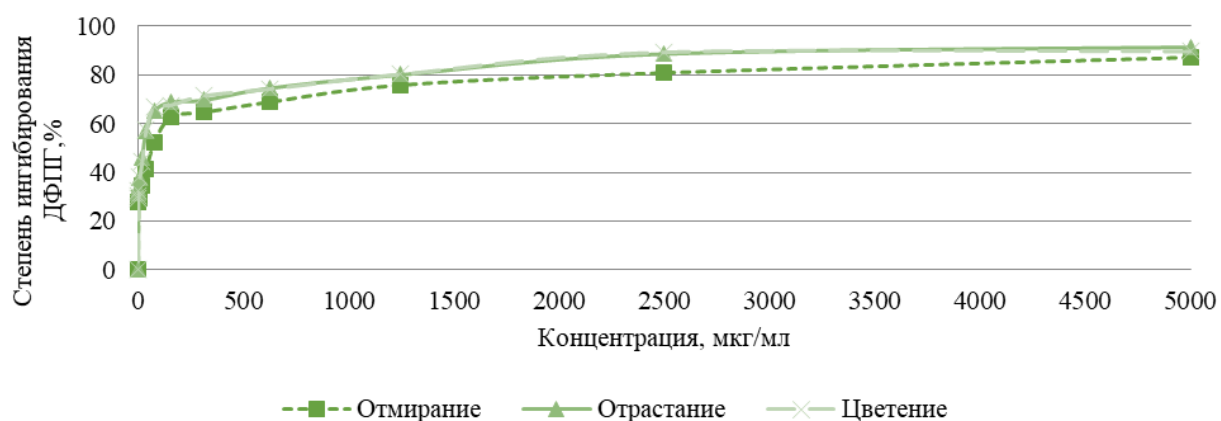


Рисунок 65 – Кривые антирадикальной активности спирто-водных извлечений щ. конского различных фенологических фаз, полученные по методике «АС»

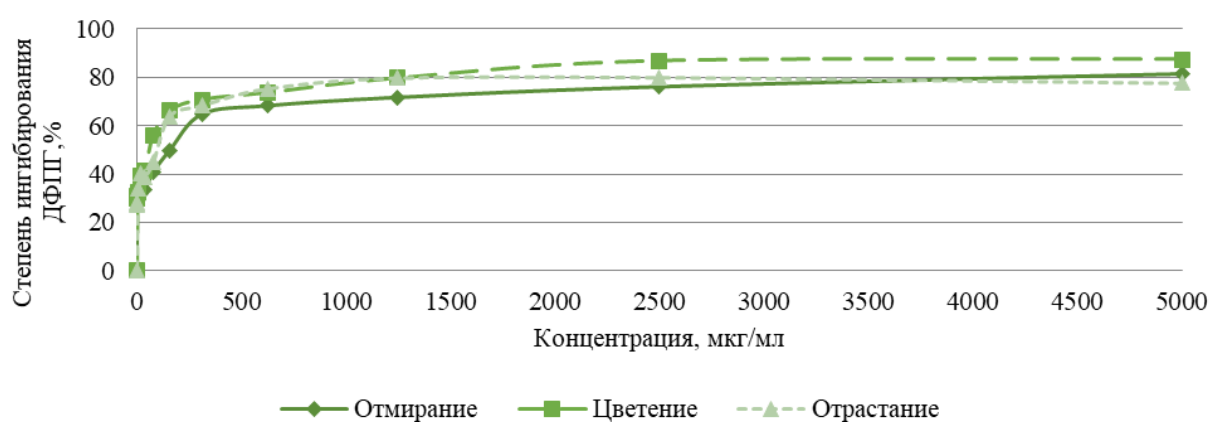


Рисунок 66 – Кривые антирадикальной активности спирто-водных извлечений щ. курчавого различных фенологических фаз, полученные по методике «АС»

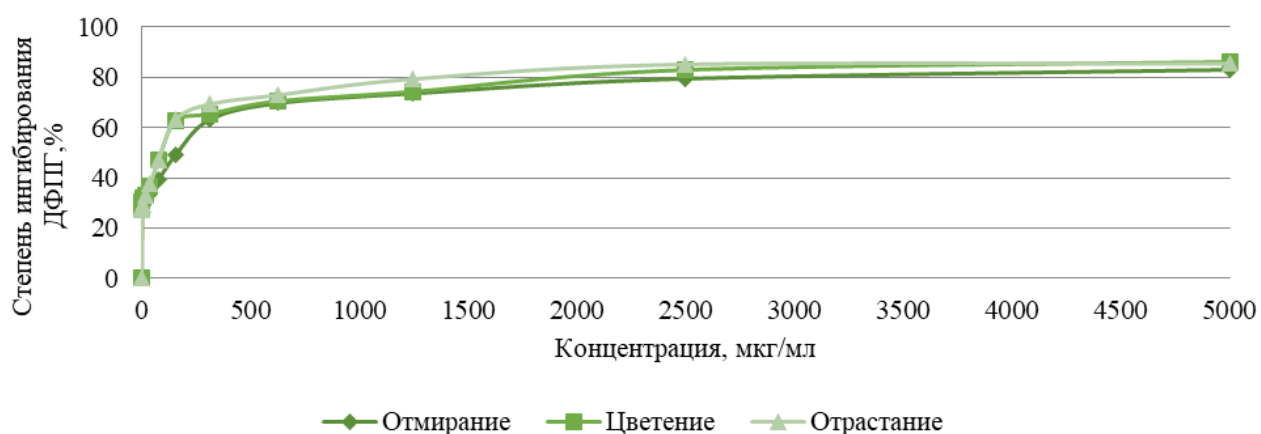


Рисунок 67 – Кривые антирадикальной активности спирто-водных извлечений щ. туполистного различных фенологических фаз, полученные по методике «АС»

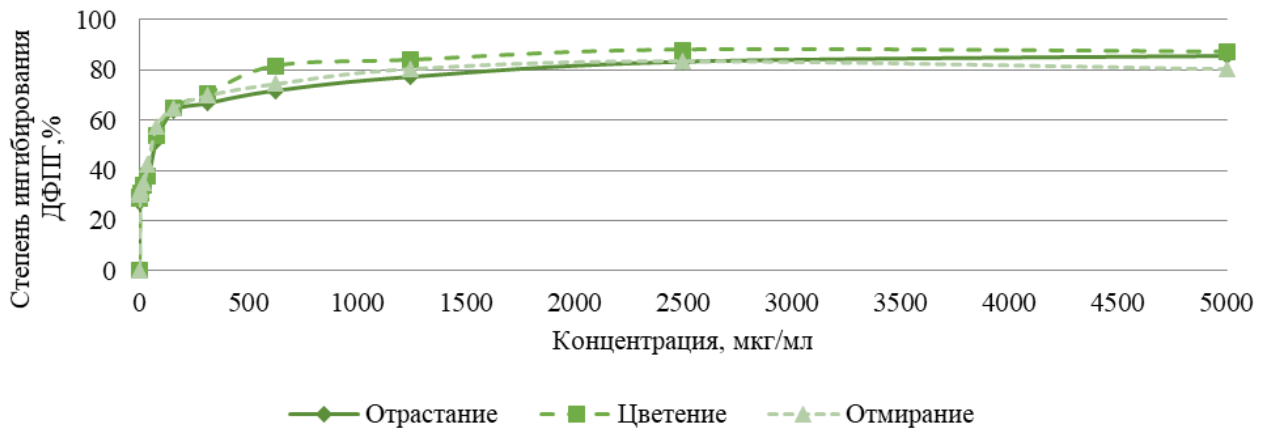


Рисунок 68 – Кривые антирадикальной активности спирто-водных извлечений щ. водного различных фенологических фаз, полученные по методике «АС»

Подземные органы *Rumex*, заготовленные в период массового цветения и отрастания надземной зачасти проявляли более выраженный антирадикальный потенциал, по сравнению с корнями, заготовленные в период отмирания надземной части. Данная закономерность коррелирует с суммарным содержанием первичных и вторичных метаболитов в изучаемых объектах (Глава 4).

Извлечения щавеля конского, заготовленные в период массового цветения и отрастания, из всех анализируемых образцов демонстрируют самую высокую антирадикальную способность (IC_{50} 24,47 и IC_{50} 25,18 мкг/мл соответственно). В 2 раза менее активные извлечения из корней щавеля водного, заготовленного в период массового цветения, отмирания и отрастания надземной части (IC_{50} 64,94 мкг/мл, IC_{50} 71,50 мкг/мл и IC_{50} 56,99 мкг/мл соответственно) и щавеля курчавого, заготовленного в период массового цветения – $IC_{50} = 58,87$ мкг/мл. В 3 раза менее активные извлечения из корней щавеля туполистного, заготовленного в период массового цветения и отрастания (IC_{50} 86,37 и IC_{50} 86,30 мкг/мл соответственно), а также щавеля курчавого, заготовленного в период отрастания надземной части – $IC_{50} = 88,50$ мкг/мл. Более того их антирадикальный потенциал анализируемых извлечений ниже всего в 3-9 раз, чем у мощного антиоксиданта – витамина С.

6.2. Антибактериальная активность

С целью изучения антибактериальной активности было принято решение изучить извлечения из всех 12 объектов исследования: подземных органов щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного, заготовленных в фазу отрастания надземной части, цветения и отмирания надземной части. Эксперимент с культурой клеток был проведен согласно методике «АБ», описанной в главе 2 со штаммами: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus epidermidis*. Полученные данные антибактериальной активности приведены в Таблицах 27–30, где «+» — чистая зона лизиса, «+/-» — низкая активность (сплошной рост изолированных колоний на месте капли) «-» — отсутствие противомикробной активности. На рисунках 69-72 приведено графическое отображение сравнительной активности в отношении изученных штаммов микроорганизмов.

Таблица 27 – Сравнительные результаты оценки антибактериального эффекта спирто-водных извлечений в отношении бактерии *Klebsiella pneumoniae* различных штаммов

Бактерия штамм	<i>Klebsiella pneumoniae</i>						
	12	811	Тесл	В-903	А1	944	PaC
<i>Фаза отрастания</i>							
щ. конский	+	+	+	+/-	-	-	+/-
щ. курчавый	+	+	+	+/-	-	+	-
щ. туполистный	+	+	+	+/-	+/-	+	+/-
щ. водный	+	+	+	+/-	-	+	-
<i>Фаза цветения</i>							
щ. конский	+	+	+	+/-	-	+	+/-
щ. курчавый	-	+/-	-	-	-	-	+/-
щ. туполистный	+	+	+	+	+/-	+	-
щ. водный	+/-	+	+	+	+	+	-
<i>Фаза отмирания</i>							
щ. конский	+	+	+/-	+	-	+	-
щ. курчавый	+/-	+	+	+	+/-	+	-
щ. туполистный	+	+	+	+	+	+	-
щ. водный	+	+	+	+	+/-	+	-

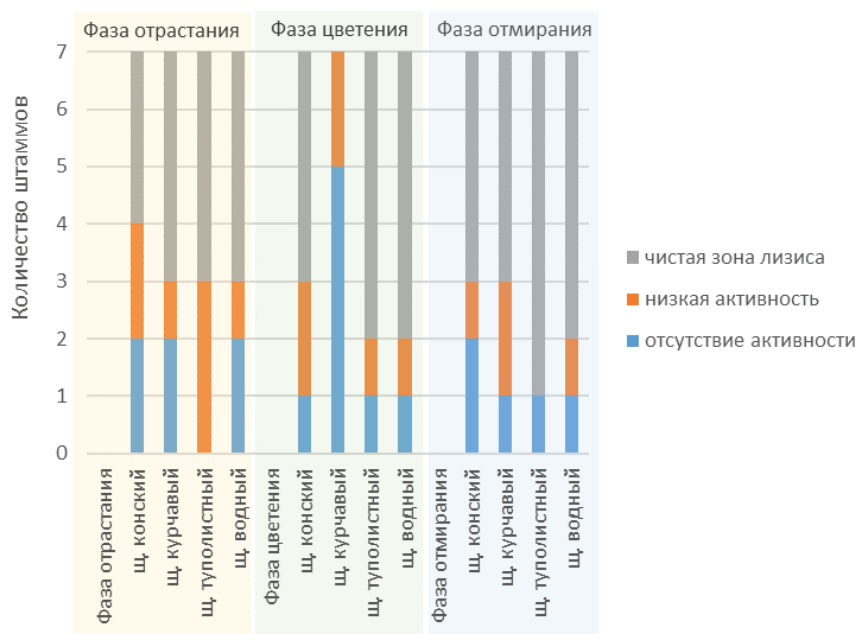


Рисунок 69 – Результаты антибактериальная активность спирто-водных извлечений изучаемых объектов по методике «АБ» в отношении всех изученных штаммов *Klebsiella pneumoniae*

В отношении бактерии *Klebsiella pneumoniae* различных штаммов проявляли активность все изучаемые виды. Для штаммов «12», «811» и «Тесл» активность отсутствовала лишь у извлечений из подземных органов щ. курчавого фазы цветения для «12» и «Тесл». Для штамма «944» активность отсутствовала только у извлечений щ. курчавого фазы цветения. Интересно, что для штамма «PaC» активность полностью отсутствовала у всех видов, заготовленных в фазу отмирания надземной части с сохранением частичной активности в фазе цветения и фазе отрастания. Для штамма «A1» наименьшую активность напротив проявляли извлечения, полученные из видов, заготовленных в фазу цветения и отрастания, а наибольшую – щ. туполистный, щ. курчавый и щ. водный, заготовленные в фазу отмирания надземной части.

Таблица 28 – Сравнительные результаты оценки антибактериального эффекта спирто-водных извлечений в отношении бактерии *Pseudomonas aeruginosae* различных штаммов

Бактерия штамм	<i>Pseudomonas aeruginosae</i>					
	o1	3086	10284	3842	3424	9017
Фаза отрастания						
щ. конский	-	+	+	+/-	+/-	-
щ. курчавый	-	+	+	+/-	+	+/-
щ. туполистный	+/-	-	+	+/-	+	+/-
щ. водный	-	+	+	+	+	+
Фаза цветения						
щ. конский	+/-	-	+	+/-	+	-
щ. курчавый	-	-	-	-	-	-
щ. туполистный	+/-	+	+	+	+	+/-
щ. водный	+/-	+	+	+	+	+/-
Фаза отмирания						
щ. конский	-	+	+	+	+	+
щ. курчавый	+/-	+	+	+	+	+/-
щ. туполистный	+/-	-	+	+	+	+
щ. водный	+	+	+	+	+	+

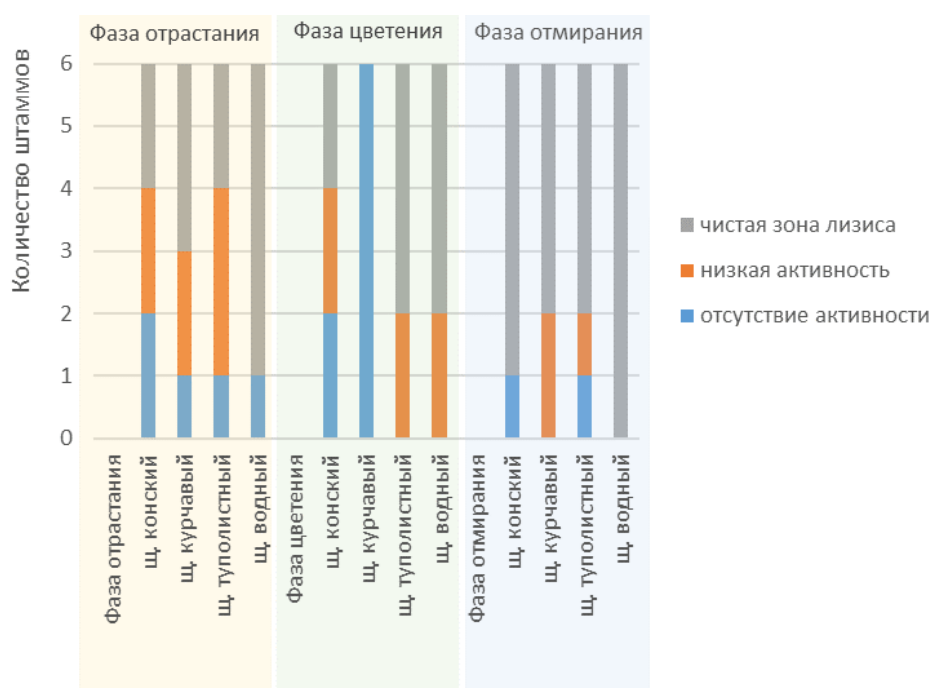


Рисунок 70 – Результаты антибактериальной активности спирто-водных извлечений изучаемых объектов по методике «АБ» в отношении всех изученных штаммов *Pseudomonas aeruginosae*

Исходя из результатов стоит отметить, что в отношении всех изучаемых штаммов бактерии *Pseudomonas aeruginosae* извлечения из подземных органов щ. курчавого фазы цветения полностью отсутствовала антибактериальная активность, что нельзя сказать о других фенологических фазах этого же вида. В отношении штамма «3086» щ. туполистный проявлял активность только фазы цветения, щ. конский и щ. курчавый фаз отмирания и отрастания и щ. водный всех вегетационных фаз.

Таблица 29 – Сравнительные результаты оценки антибактериального эффекта спирто-водных извлечений в отношении бактерии *Staphylococcus epidermidis* различных штаммов

Бактерия штамм	<i>Staphylococcus epidermidis</i>					
	1.2	10.2	3.2	26.3	2.2	8.2
Фаза отрастания	Фаза отрастания					
щ. конский	+	+	+	+	+	+
щ. курчавый	+	+	+/-	+	+/-	+/-
щ. туполистный	+	+	+	+	+/-	+
щ. водный	+/-	+	+	+	+	+
Фаза цветения	Фаза цветения					
щ. конский	+/-	+	-	+/-	-	+/-
щ. курчавый	+	+	+/-	+	-	-
щ. туполистный	+	+	-	+	-	+
щ. водный	+	+	+	+	+/-	+
Фаза отмирания	Фаза отмирания					
щ. конский	+/-	+	+	-	+/-	+
щ. курчавый	+/-	+	-	-	-	+/-
щ. туполистный	+/-	+/-	-	+	-	-
щ. водный	+	+	+	+	+	+

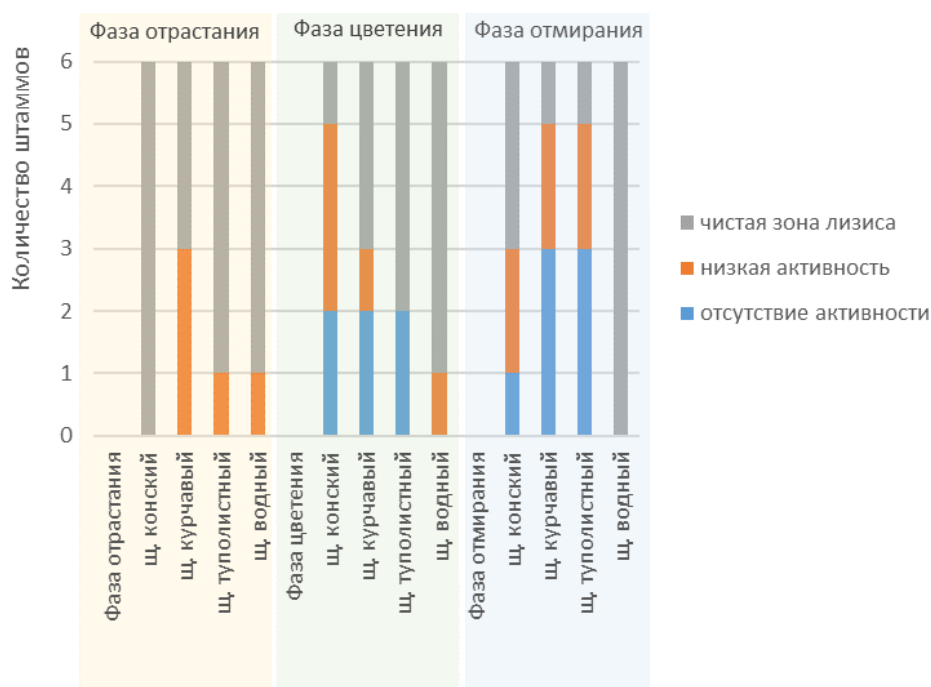


Рисунок 71 – Результаты антибактериальной активности спирто-водных извлечений изучаемых объектов по методике «АБ» в отношении всех изученных штаммов *Staphylococcus epidermidis*

В отношении *Staphylococcus epidermidis* различных штаммов активность проявляли большинство объектов. Интересная особенность – все виды щавеля фазы отрастания проявляли высокую и умеренную активность в отношении всех изучаемых штаммов данной бактерии, при этом щ. водный всех фаз вегетации был активен в отношении всех штаммов. Штамм «1.2» был подвержен угнетению под воздействием всех извлечений из щавеля, с зависимостью снижения активности от фазы отрастания и цветения к фазе отмирания. При чём для щ. водного наблюдалась обратная тенденция: с наибольшей активностью извлечений из щ. водного, заготовленного в фазу отмирания. Для штамма «10.2» можно отметить умеренную степень антибактериального эффекта только у щ. туполистного фазы отмирания, для всех остальных отмечен лизис штамма. Самым устойчивым штаммом оказался «2.2» с лизисом лишь под воздействием извлечений щ. водного всех фаз, умеренным антибактериальным эффектом и у некоторых извлечений фазы отрастания: щ. курчавого и щ. туполистного фазы отрастания, щ. конского фазы отрастания и отмирания.

Таблица 30 – Сравнительные результаты оценки антибактериального эффекта спирто-водных извлечений в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* различных штаммов

Бактерия штамм	<i>Staphylococcus aureus</i>					
	4040	2072	B-1380	2004	B-1378	30 ORSA
Фаза отрастания	Фаза отрастания					
щ. конский	+/-	+	+	+	-	+/-
щ. курчавый	-	+	+	+	+	-
щ. туполистный	-	-	-	+	+	-
щ. водный	-	+	+	+	+	-
Фаза цветения	Фаза цветения					
щ. конский	-	+/-	-	+	+	-
щ. курчавый	-	-	-	+	-	-
щ. туполистный	-	+/-	+	+	+/-	+
щ. водный	-	-	-	+	+	-
Фаза отмирания	Фаза отмирания					
щ. конский	-	+	+	+/-	+/-	-
щ. курчавый	-	+/-	+	-	-	-
щ. туполистный	-	-	-	+/-	+	-
щ. водный	-	+	+	+	-	-

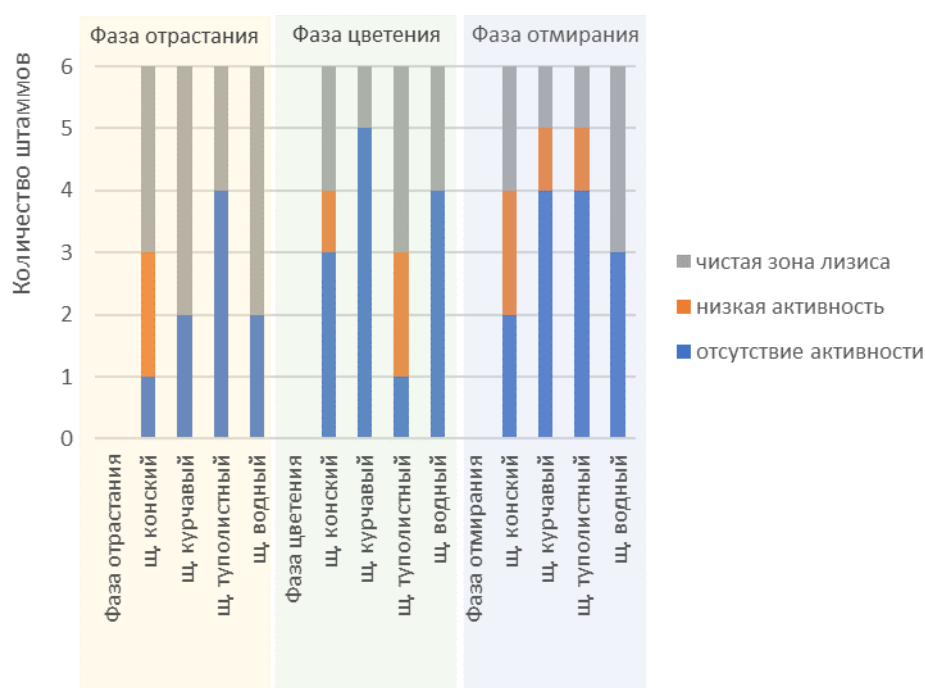


Рисунок 72 – Результаты антибактериальной активности спирто-водных извлечений изучаемых объектов по методике «АБ» в отношении всех изученных штаммов *Staphylococcus aureus*

В отношении 30 ORSA умеренную активность проявлял лишь щ. конский фазы отрастания надземной части и высокую активность щ. туполистный фазы цветения, все остальные объекты были неактивны против данного патогена. Штамм «4040» был подвержен лизису только под воздействием извлечений из щ. конского фазы отрастания. Для штаммов «2072» и «В-1380» можно отметить низкую степень различий антибактериального эффекта в зависимости от фенологической фаз отрастания и отмирания – только щ. туполистный не вызывал лизиса бактерии. При этом в фазе цветения активность в отношении данных штаммов присутствовала только у щ. туполистного – высокая и умеренная к «2072» и «В-1380» соответственно и у щ. конского умеренная только в отношении «2072». При этом для штаммов «2004» и «В-1378» извлечения, полученные из растений фазы отрастания высокой активностью обладали все виды, кроме щ. конского в отношении «В-1378» - в данном случае активность полностью отсутствовала.

На Рисунках 73–81 приведены примеры чашек Петри с зоной роста бактерий различных штаммов.

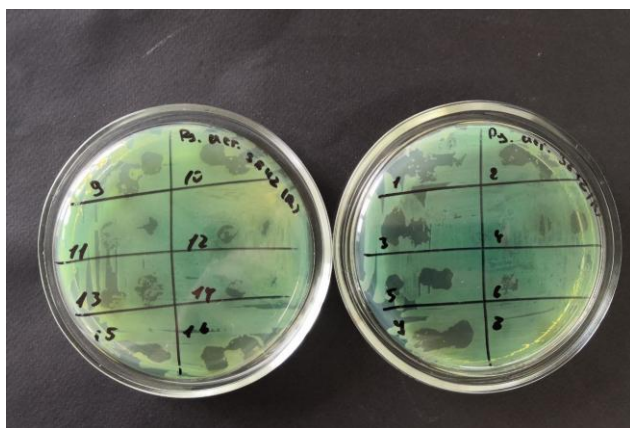


Рисунок 73 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Pseudomonas aeruginosa* штамма изолята 3842

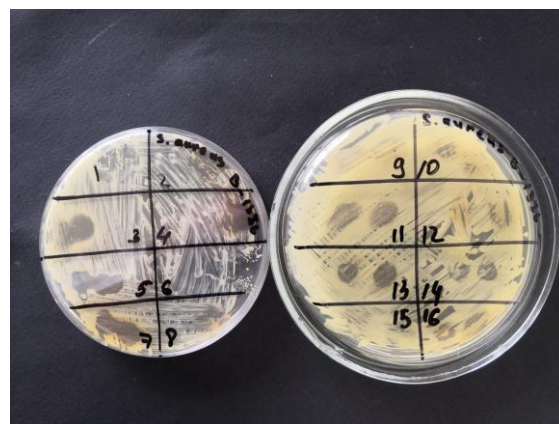


Рисунок 74 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* штамма изолята В-1378

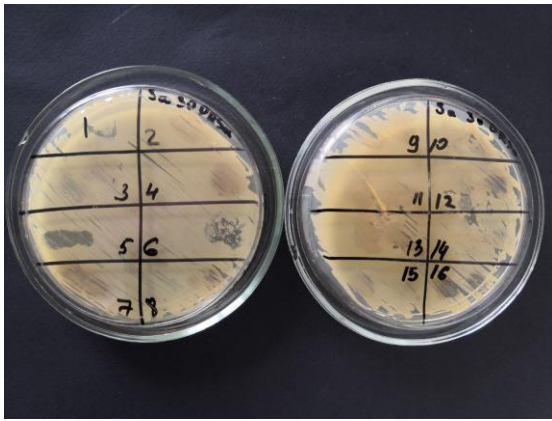


Рисунок 75 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* штамма изолята 30 ORSA

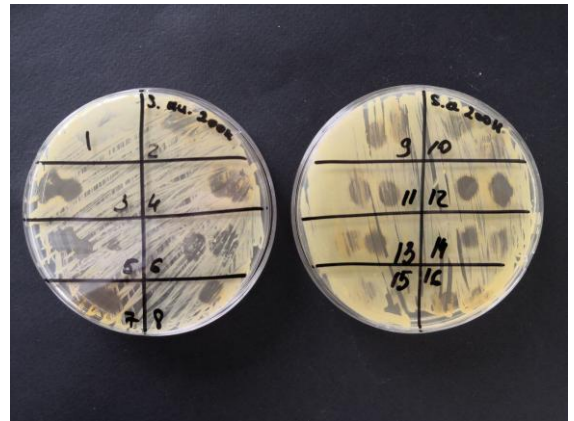


Рисунок 76 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* штамма изолята 2004

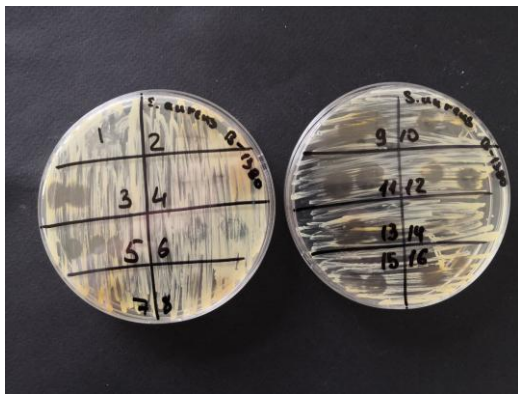


Рисунок 77 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* штамма изолята B-1380

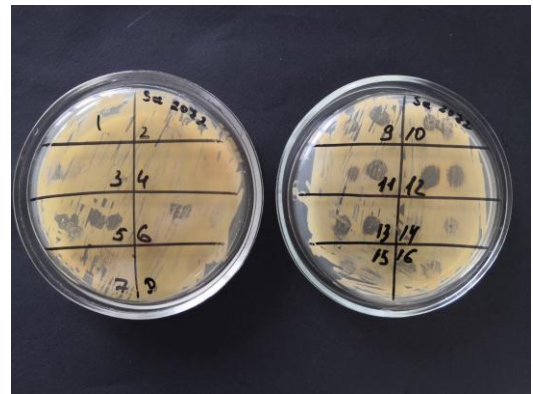


Рисунок 78 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* штамма изолята 2072



Рисунок 79 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Klebsiella pneumoniae* штамма изолята 811

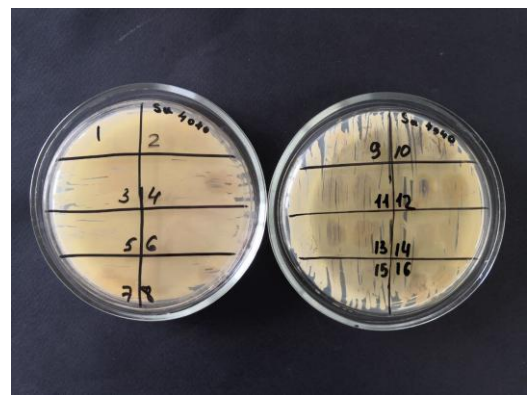


Рисунок 80 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* штамма изолята 4040

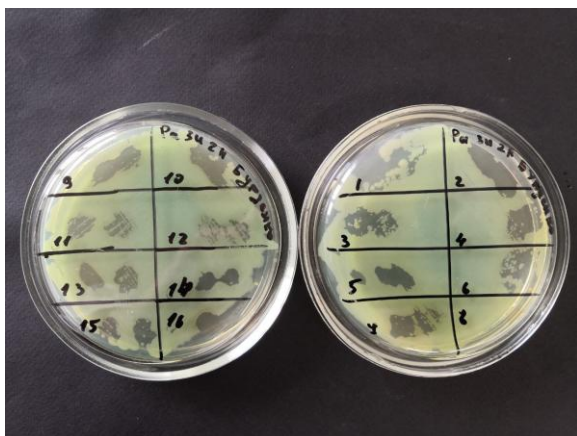


Рисунок 81 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Pseudomonas aeruginosa* штамма изолята 3424



Рисунок 82 – Антибактериальная активность в отношении бактерии *Pseudomonas aeruginosa* штамма изолята O1

Обобщенные по всем видам полученные результаты приведены на Рисунке 83. Стоит отметить, что наибольшая совокупная активность была выявлена в фазу отрастания надземной части у всех объектов, что согласуется в предыдущими результатами фитохимического изучения фенольного комплекса.

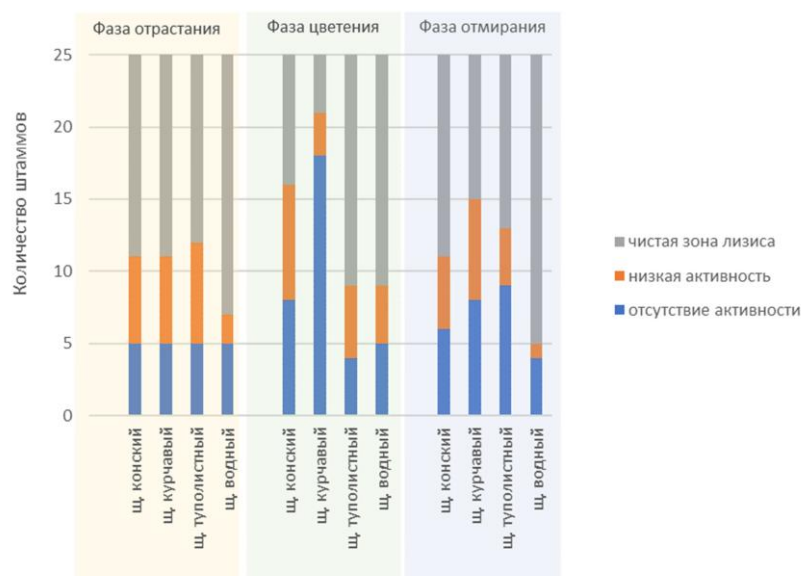


Рисунок 83 – Результаты определения антибактериальной активности спирто-водных извлечений изучаемых объектов по методике «АБ» в отношении различных штаммов грамотрицательных и грамположительных бактерий

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Обнаружена высокая антирадикальная активность у всех спирто-водных извлечений. Во всех фазах самым активным было извлечение щ. конского, минимальные полученные значения IC_{50} составили для фазы отрастания $25,18 \pm 0,44$ мкг/мл, для фазы цветения: $27,47 \pm 0,20$ мкг/мл, для фазы отмирания $66,29 \pm 1,06$ мкг/мл, полученное значение IC_{50} для аскорбиновой кислоты составило $9,2 \pm 0,10$ мкг/мл. Была отмечена сходная низкая активность спирто-водных извлечений между всеми видами, заготовленными в фазу отмирания. Самая низкая активность среди всех изучаемых извлечений из корней щ. туполистого и щ. курчавого, заготовленных в период отмирания (IC_{50} 165,28 мкг/мл и IC_{50} 155,93 мкг/мл соответственно).

2. Антибактериальная активность извлечений из подземных органов щавеля носит выраженный видо- и штаммоспецифичный характер и зависит от фенологической фазы заготовки сырья. В отношении *K. pneumoniae* наиболее перспективными являются извлечения из щ. туполистого и щ. водного фазы цветения и отмирания. Фаза цветения щ. курчавого характеризуется резким снижением активности. Наивысшую активность против всех штаммов *P. aeruginosae* показали извлечения щ. водного. Фаза цветения является наименее эффективной для большинства видов, особенно для щ. курчавого, который в эту фазу полностью утрачивает антибактериальную активность против всех штаммов *P. aeruginosae*. Фаза отмирания, напротив, является наиболее продуктивной: все виды щавеля проявляют в эту фазу высокую активность против большинства штаммов. Данные по *S. epidermidis*: щ. водный подтвердил статус наиболее эффективного вида, проявляя активность против всех шести штаммов во всех фазах. Фаза отрастания является наиболее активной, а фаза цветения и отмирания характеризуются значительным снижением активности у всех видов (кроме щ. водного). Это особенно заметно на примере штаммов 3.2 и 2.2, которые в эти фазы становились устойчивыми к действию большинства извлечений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате комплексного сравнительного фармакогностического и фитохимического исследования подземных органов четырех близкородственных видов рода *Rumex* (щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного) было установлено схожее содержание основных биологически активных веществ фенольной природы, варьирующее в зависимости от фенологической фазы, а также определены морфолого-анатомические характеристики их подлинности, что позволило внести научно-обоснованные предложения по расширению сырьевой базы, вопросам заготовки и дополнениям в действующий нормативный документ.

Изучение биологической активности показало выраженный антридикальный и широкий антимицробный эффект, что открывает перспективы для создания новых лекарственных средств из корней щавелей исследуемых видов.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведено информационно-аналитическое исследование научных и регуляторных данных о составе фенольных групп БАС близкородственных видов рода щавель, а также их методов анализа. Изучена литература, описывающая биологическое действие, отмечено наличие антирадикального и антибактериального эффекта для изучаемых видов.
2. Установлены морфолого-анатомические признаки цельных, измельченных и порошоканных корней щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного. Различия во внешних признаках не значительны и относятся к размерам, цвету и характеру излома. Установлены анатомо-диагностические характеристики корней щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного. К ним относятся: вторичное строение корней, наличие тяжелой ксилемы в древесине, склереиды в коровой части корня, многочисленные друзы оксалата кальция. Отмечены отличия в размерах названных анатомо-диагностических признаков. Определены основные характеристики подлинности измельченного сырья и порошка корней щавеля.
3. Разработана методика количественного определения индивидуальных веществ группы антраценпроизводных: эмолина, 8-*O*- β -D-глюкозид эмолина, хризофановой кислоты и фисциона, а также соединений флавоноидной природы – нарциссина, рутина, лютеолина, изорамнетина, астрагалина и кемпферола в спирто-водных извлечениях методом ВЭЖХ с УФ детектированием. Установлены оптимальные условия хроматографирования гликозидов и агликонов, подобраны дифференциальные области детектирования хроматографического процесса, оптимальный состав и соотношение подвижной фазы, параметры хроматографической колонки, температура колоночного термостата, время регистрации хроматограммы. Проведена частичная валидация и проверка пригодности хроматографической системы.
4. Доказан близкий качественный и количественный состав соединений фенольной природы у всех изучаемых объектов вне зависимости от фенологической фазы.

В качестве лидирующих компонентов класса антраценпроизводных обнаружены: эмодин, 8-O- β -D-глюкозид эмодина, хризофановая кислота и фисцион. Содержание суммы антраценпроизводных, определенное методом СФМ в большинстве изучаемых объектов составило более 3,00%, среднее значение между всеми объектами - 5,99%.

Общее содержание индивидуальных соединений из группы флавоноидов низко и не превышает для большинства объектов 0,5-1,0%, наибольшее содержание было отмечено для лютеолина.

Было подтверждено наличие дубильных веществ, относящихся к группе гидролизуемых танинов, количественное содержание в среднем между видами составляло 6,58%.

Эти результаты позволяют заявлять о расширении сырьевой базы при заготовке и включить дополнительный показатель стандартизации суммы дубильных веществ в пересчете на танин методом титриметрии.

5. Выявлена особенность динамики накопления исследуемых БАС. Установлено, что наибольшее количество соединений фенольной природы приходится на две фазы: отрастание и цветение, иногда варьируя между видами, сохраняется тенденция наименьшего накопления в фазу отмирания.

Наибольшее содержание суммы антраценпроизводных установлено в фазу отрастания у всех видов (от $12,08 \pm 0,48\%$ до $8,26 \pm 0,18\%$) кроме щ. курчавого с максимумом содержания в фазу цветения ($6,88 \pm 0,57\%$); наименьшее содержание было обнаружено в фазу отмирания у всех изучаемых видов (от $1,92 \pm 0,10\%$ до $4,16 \pm 0,07\%$).

Сумма индивидуальных флавоноидов по наибольшему содержанию варьирует между фазами отрастания (щ. конский – 0,43%) и цветения (щ. курчавый – 0,35%, щ. туполистный – 0,44%, и щ. водный – 1,01%); наименьшее содержание – в фазу отмирания у всех изучаемых объектов (от 0,04% до 0,21%).

Наибольшее содержание дубильных веществ, определённых перманганатометрией отмечено в фазы цветения и отрастания с близким значением у щ. конского ($12,07 \pm 0,12\%$ и $11,91 \pm 0,43\%$) и щ. водного ($8,81 \pm 0,43\%$ и $8,83 \pm 0,24\%$),

у щ. туполистного в фазу отрастания ($5,73 \pm 0,48\%$), у щ. курчавого в фазу цветения ($5,45 \pm 0,20\%$). Наименьшее содержание суммы дубильных веществ приходится на фазу отмирания у трёх видов (от $2,57 \pm 0,04\%$ до $5,97 \pm 0,21\%$), кроме щ. курчавого, где минимум был обнаружен в фазу отрастания ($4,14 \pm 0,41\%$).

6. Доказана выраженная антирадикальная активность в отношенииДФПГ спирто-водных извлечений всех объектов исследования. Лучшие результаты (с наименьшим значением IC_{50}) показали извлечения сырья щ. конского – $25,18 \pm 0,44$ мкг/мл (фазы отрастания) и $27,47 \pm 0,20$ мкг/мл (фазы цветения). Извлечения из корней всех изучаемых видов показали наименьшую антирадикальную активность при заготовке в фазу отмирания.

Установлена антибактериальная активность спирто-водных извлечений всех объектов исследования в отношении клинических изолятов бактерий – *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*. Антибактериальная активность носит выраженный видо- и штаммоспецифичный характер и зависит от фенологической фазы заготовки сырья. Из всех исследуемых видов к наиболее эффективным можно отнести щ. водный, который проявлял активность в любой из стадий заготовки против всех штаммов *S. epidermidis* и *P. aeruginosae*.

7. Сформулированы предложения для дополнения и изменения фармакопейной статьи и инструкции по заготовке для корней щавеля. В проект фармакопейной статьи наряду с щавелем конским в качестве источников лекарственного растительного сырья включены щ. курчавый, щ. туполистный и щ. водный. Разделы дополнены критериями подлинности и показателями качества для цельного, измельченного сырья и порошка. Кроме того, предложен показатель нормирования количественного содержания суммы дубильных веществ, в пересчете на танин (содержание не менее 4%).

В инструкцию по сбору и сушке корней щавеля, помимо новых видов, подлежащих заготовке, включена рекомендация по срокам сбора с апреля по май (от периода отрастания до периода цветения) ввиду установленного максимального накопления основных групп БАВ в данный период.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Разработанные методики анализа БАС, а также установленные характеристики подлинности подземных органов изучаемых представителей *Rumex* могут быть использованы в производственных и аналитических лабораториях. Результаты содержания веществ фенольной природы, а также данные скрининга биологической активности позволяют предполагать о перспективах применения сырья в качестве источников при изготовлении лекарственных препаратов. Учитывая динамику накопления фенольных соединений, был разработан проект нормативного документа по заготовке подземных органов представителей рода *Rumex*. Предложен проект фармакопейной статьи на «корни щавеля», с дополнением по включенным новым производящим растениям, описанием морфолого-анатомических характеристик подлинности измельченного сырья и порошка, а также дополненным разделом «количественное определение».

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты перспективны для идентификации основных компонентов фенольного комплекса сырья близкородственных видов *Rutex*, учитывая сложности в определении подлинности по морфолого-анатомическим характеристикам. Вызывают интерес вопросы особенностей и динамики накопления действующих веществ в зависимости от различных факторов, что может найти продолжение в дальнейших исследованиях. Определены возможные перспективы разработки лекарственных препаратов на основе сырья анализируемых видов *Rutex*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БАС	- биологически активное соединение
БАД	- биологически активная добавка
ВЭЖХ	- высокоэффективная жидкостная хроматография
ВФС	- временная фармакопейная статья
щ. (<i>R</i>)	- Щавель (<i>Rumex</i>)
ТСХ	- Тонкослойная хроматография
ГФ	- Государственная Фармакопея
ЛРС	- Лекарственное растительное сырье
СФМ	- Спектрофотометрия
ПФ	- Подвижная фаза
ДФПГ	- 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил
ВУ (RT)	- Время удерживания (retention time)
Rf	- коэффициент удерживания
БАД	- биологически активная добавка
РФ	- Российская Федерация
НПКО	- нижний предел количественного определения
ППХС	- проверка пригодности хроматографической системы
ЖТР	- железо-тартратный раствор
ЖАК	- железо-аммонийные квасцы
IC ₅₀	- концентрация полумаксимального ингибирования
МТТ-тест	- тест оценки метаболической активности клеток
FRAP	- антиоксидантная активность железа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барабанов, Е. И. Ботаника : учебник / Е. И. Барабанов, С. Г. Зайчикова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 592 с. – ISBN 978-5-9704-5404-6. – Текст : непосредственный.
2. Тахтаджян, А. Л. Жизнь растений : Том 5. Часть 1. Цветковые, или покрытосеменные растения : книга / А. Л. Тахтаджян, В. И. Грубов, И. В. Грушвицкий. – Москва : Просвещение, 1980. – 496 с. : ил. – Текст : непосредственный.
3. Список растений Мировой флоры онлайн : сайт : интернет-версия. – URL: <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000033616-2024-12?page=1> (дата обращения: 10.10.2024).
4. GBIF (Global Biodiversity Information Facility) : сайт : интернет-версия. – URL: <https://www.gbif.org/ru/species/2888942/metrics> (дата обращения: 14.11.2021).
5. Определитель растений онлайн : сайт : некоммерч. интернет-версия. – URL: <https://www.plantarium.ru/page/view/item/44187.html> (дата обращения: 08.09.2024).
6. Маевский, П. Ф. Флора средней полосы европейской части России : пособие для вузов и средних учебных заведений / П. Ф. Маевский, В.С. Новиков, В.Н. Павлов ; – Москва : Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 635 с. – ISBN 978-5-87317-958-4. – Текст : непосредственный.
7. Bioactive compounds and health benefits of edible Rumex species-A review / A. P. Mishra, M. Sharifi-Rad, M. A. Shariati [et al.] // Cell Mol Biol. – 2018. – Vol. 64. – № 8. – P. 27-34.
8. Rumex abyssinicus (mekmeko): A newer alternative for leather manufacture / M. Shegaw, A. Naisini, M. Balaraman [et al.] / Environmental Progress & Sustainable Energy. – 2020. – Vol. 39. – № 6. – P. 134-153.
9. Биологическая активность растений рода Rumex (Polygonaceae) / В. В. Подгурская, Е. А. Лукша, Е. С. Гущина [и др.] // Химия растительного сырья. – 2021. – №2. – С. 59-78.

10. Зайцева, Н. В. Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.) : специальность 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Надежда Вячеславовна Зайцева ; ФГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский Университет» МЗ РФ – Самара, 2014. – 140 с.
11. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Том 2: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И. А. Губанов, К. В. Киселёва, В. С. Новиков, В. Н. Тихомиров. – Москва : Т-во научных изданий КМК, 2003. – с. 521. – Текст : непосредственный.
12. Гармонизация фармакопейных требований при определении близкородственных видов в лекарственных средствах растительного происхождения / О. В. Евдокимова, М. Н. Лякина, А. В. Бекетова [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2022 – Т. 12 – № 2. – С. 142-148.
13. Study on chemical content and the antioxidant, antimicrobial and antibiofilm potential of *Vincetoxicum hirundinaria* seeds growing wild in Turkey / S. G. Kara, D. Aksu, Z. Öksüz, Ş. S. Uras Güngör // Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. – 2025. – Vol. 159. – № 5. – P. 937–948.
14. ГОСТ 2237-75. Ромашки цветки : технические условия : утвержден и введен в действие [Заменен] : дата введения 1977-07-01. – Текст : непосредственный.
15. Тихонов, В. Н. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты : учебное пособие / В. Н. Тихонов, Г. И. Калинин, Е. Н. Сальникова – Томск : СибГМУ, 2017. – 147 с. – ISBN 978-5-93630-907-0. – Текст : непосредственный.
16. Дикорастущие лекарственные растения России: сбор, сушка, подготовка сырья : сборник / В. А. Быкова, О. В. Журба, Л. Н. Зайко [и др.]. – Москва : ФГБНУ ВИЛАР, 2015. – 344 с. – ISBN 978-5-9243-0269-0. – Текст : непосредственный.
17. ФС.2.5.0069.18 «Горца птичьего (спорыша) трава». Государственная фармакопея РФ XIV издания. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru> (дата обращения: 20.10.2024).

18. ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Государственная фармакопея РФ XV издания. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacopeia.regmed.ru> (дата обращения: 20.10.2024).
19. Determination of Tannins in Herbal Drugs : monograph 2.8.14 // British Pharmacopoeia 2024 ; European Pharmacopoeia, 11th Edition, Supplement 11.3. – Текст : электронный.
20. ФС.2.5.0053.15 «Элетерококка колючего корневища и корни». Государственная фармакопея РФ XIV издания. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacopeia.regmed.ru> (дата обращения: 20.10.2024).
21. ФС.2.5.0009.15 «Валерианы лекарственной корневища с корнями». Государственная фармакопея РФ XV издания. [Электронное издание]. URL: <https://pharmacopeia.regmed.ru> (дата обращения: 20.10.2024).
22. Use of ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry system as valuable tool for an untargeted metabolomic profiling of *Rumex tunetanus* flowers and stems and contribution to the antioxidant activity / J. Abidi, M. L. Efremov, N. A. Slabko [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2019. – Vol. 162. – P. 66-81.
23. Queiroz, E. F. Advanced high-resolution chromatographic strategies for efficient isolation of natural products from complex biological matrices: from metabolite profiling to pure chemical entities / E. F. Queiroz, D. Guillarme, J. L. Wolfender // *Phytochem Rev.* – 2024. – Vol. 23. – P. 1415-1442.
24. Pharmacognostic Evaluation and HPLC–PDA and HS–SPME/GC–MS Metabolomic Profiling of *Eleutherococcus senticosus* Fruits / F. Graczyk, M. Strzemski, M. Balcerek [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 7. – P. 1969.
25. Saleh, N. A. M. Flavonoids and anthraquinones of some Egyptian *Rumex* species (*Polygonaceae*) / N. A. M. Saleh, M. N. El-Hadidi, R. F. M. Arafa // *Biochemical Systematics and Ecology* – 1993. – Vol. 21. – № 2. – P. 301-303.

26. Anthracene derivatives in some species of *Rumex* L. genus / M. Wegiera, H. D Smolar, D. Wianowska [et al.] // *Acta Societas Botanica Polonica*. – 2007. – Vol. 76. – P. 103-108.
27. Антрахиноны и производные нафталина *Rumex confertus* / В. А. Куркин, Н. В. Зайцева, Е. В. Авдеева [и др.] // *Химия природных соединений*. – 2013. Т. 49. – № 1. – С. 135-136.
28. Куркин, В. А. Определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского / В. А. Куркин, Н. В. Зайцева, Е. В. Авдеева // *Фармация*. – 2013. – № 1. – С. 8-10.
29. Evaluation of the anti-microbial and anti-inflammatory activities of the medicinal plants *Dodonaea viscosa*, *Rumex nervosus* and *Rumex abyssinicus* / M. Getie, T. Gebre-Mariam, R. Rietz [et.al] // *Fitoterapia*. – Vol. 74. – № 1.– P. 139-143.
30. Analysis of anthraquinones in *Rumex crispus* by micellar electrokinetic chromatography / S. Baskan, A. Daut-Özdemir, K. Günaydin, [et al.] / *Talanta*. – 2007. – Vol. 71. – P. 747-750.
31. Two new antioxidant anthraquinones namely *Obtusifolate A* and *B* from *Rumex obtusifolius* / A. Khabir, F. Khan, Z. Haq [et al.] // *International Journal of Biosciences*. – 2017 – Vol. 10. – № 4. – P. 49-57.
32. Gunaydin, K. 1,5-Dihydroxyanthraquinones and an anthrone from roots of *Rumex crispus* / K. Gunaydin, G. Topcu, R. M. Ion // *Natural Product Letters*. – 2002. – Vol. 16. – № 1. – P. 65-70.
33. Emodin-8-O- β -D-glucopyranoside, a natural hydroxyanthraquinone glycoside from plant, suppresses cancer cell proliferation via p21-CDKs-Rb axis / Y. Li, H. Wang, J. Zhang [et al.] // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2022. – Vol. 438. - P. 115909.
34. Flavonoids isolated from *Rumex aquaticus* exhibit neuroprotective and neurorestorative properties by enhancing neurite outgrowth and synaptophysin / O. Orbán-Gyapai, A. Raghavan, A. Vasas, [et al.] // *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*. – 2014. – Vol.13. – P. 1458-1564.
35. Phytochemical Investigation of the Roots of *Rumex Confertus* W. Grown in the Culture / В. М. Тынбеков, Ю. А. Литвиненко, Г. А. Муканова [et al.] // *World Applied Sciences Journal*. – 2013. – Vol. 26. – № 7. – С. 941-944.

36. Vasas, A. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology / A. Vasas, O. Orbán-Gyapai, J. Hohmann // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2015. – Vol. 175. – P. 198-228.
37. The genus *Rumex* (Polygonaceae): an ethnobotanical, phytochemical and pharmacological review / J. J. Li, Y. X. Li, N. Li [et al.] // *Natural Products and Bioprospecting*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 21.
38. Актуальные вопросы стандартизации антраценсодержащих видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею Российской Федерации / О. Е. Правдивцева, В. А. Куркин, Е. В. Авдеева [и др.] // *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. – 2021. – Т. 12. – № 78. – С. 272-276.
39. Anthracene derivatives in some species of *Rumex* L genus. / H. Smolarz, M. Wegiera, D. Wianowska [et al.] // *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. – 2011. – Vol. 76. – № 2. – P. 103-108.
40. Berillo, D. A. Overview of the Biological Activity of Anthraquinones and Flavanoids of the Plant *Rumex* Species / D. A. Berillo, M. Kozhahmetova, L. Lebedeva // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – № 1204. – P 1-20.
41. Anti-inflammatory effects of Beopje curly dock (*Rumex crispus* L.) in LPS-induced RAW 264.7 cells and its active compounds / Y. Pan, X. Zhao, S. Kim [et al.] // *Journal of Food Biochemistry*. – 2020. – Vol. 44 – № 7. – P. 1–11.
42. Mandefro, S. B. *Rumex crispus* L: profiling and evaluation of the phytochemical properties, antioxidant potential, and antimicrobial activities of the root extracts / S. B. Mandefro, S. A. Jabasingh, Z. T. Tefera, A. A. Abebe // *Biomass Conversion and Biorefinery*. – 2025. – Vol. 15. – P. 7005-7020.
43. Demirezer, Ö. L. Concentrations of Anthraquinone Glycosides of *Rumex crispus* during Different Vegetation Stages / Demirezer, Ö. L. // *Zeitschrift für Naturforschung*. – 1994. – Vol. 49. – № 8. – P. 404-406.
44. *Rumex crispus* L.: A comprehensive review on botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and safety / Q. Huiqin, J. Ying, Z. Kangwei [et al.] // *International Immunopharmacology*. – 2024 – Vol. 143. – № 3. – P. 113569

45. Enhancement of phenolic compounds production in in vitro grown *Rumex cyprius* Murb. / W. Al Khateeb, M. Alu'datt, H. Al Zghoul [et al.] // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2017. – Vol. 39. – № 14.
46. Agrawal, V. Optimization of Micropropagation Protocol and Elicitation of Luteolin and Rutin Biomolecules Using Phenylalanine and Chitosan in Root Callus of *Rumex Hastatus* D. Don / V. Agrawal // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2023. – Vol. 152. – P. 183-200.
47. New Phytochemical Constituent and Bioactivities of *Horwoodia dicksoniae* and *Rumex cyprius* / M. Abdelwahab, S. Sangi, HH. Arafat, [et al.] // *Pharmacogn Mag.* – 2016. – Vol. 12. – № 47. – P. 165-170.
48. Oladayo, A. I. Phytochemical and antioxidant activities of *Rumex crispus* L. in treatment of gastrointestinal helminths in Eastern Cape Province, South Africa / A. I. Oladayo, A. W. Olubunmi, J. A. Anthony // *Asian Pac J Trop Biomed.* – 2017. – Vol. 7. – № 12. – P. 1071-1078.
49. Liu, Y. Z. Determination of Rhein and Emodin in *Rumex obtusifolius* L. by HPLC / Y. Z. Liu // *Journal of Yunnan University of Nationalities (Natural Sciences Edition)*. – 2012. – Vol. 21. – № 4. – P. 245-247.
50. A new acetophenone of aerial part from *Rumex aquaticus* / H. Yoon, J. Park, M. Oh [et al.] // *Natural Products Sciences*. – 2005 – Vol. 11. – № 2. – P. 75-78.
51. Влияние экологических факторов и периода вегетации на содержание биологически активных веществ в некоторых видах растительного сырья Красноярского края / Е. П. Черных, Л. А. Мильшина, О. В. Гоголева, Г. Г. Первышина // *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. – 2012. – Т. 11. – С. 128-131.
52. Игнатович, В. Динамика накопления биологически активных веществ в листьях подорожника ланцетного, произрастающего на территории Республики Беларусь / В. Игнатович, Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // *Вестник фармации*. – 2017. – Т. 77. – № 3. – С. 36-41.

53. Шалдаева, Т. М. Фенольные соединения *Agrimonia pilosa* Ledeb. в зависимости от фазы развития растений / Т. М. Шалдаева, В. А. Костикова, Г. И. Высочина // Химия растительного сырья. – 2021. – № 1. – С. 151-158.
54. Особенности накопления фенольных соединений в растениях некоторых видов рода *Rumex* L. / П. В. Федурев, Л. Н. Скрыпник, П. В. Масленников [и др.] // Химия растительного сырья. – 2022. – № 3. – С. 123-130.
55. Variation in Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity of Different Plant Organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at Different Growth Stages / P. Feduraev, G. Chupakhina, P. Maslennikov [et al.] // Antioxidants. – 2019. – Vol. 8. – № 7. – P. 237.
56. Косица, Е. А. Препараты из щавеля конского (*Rumex confertus* Willd) при аскариозе и эзофагостомозе свиней / Е. А. Косица // Животноводство и ветеринарная медицина. – 2020. – Т. 1. – № 36.– С. 29-33.
57. Phenolic Compounds from *Rumex* L: Their Extraction, Structural Identification and Biological Activity / G. D. Shermatova, K. A. Eshbakova, S. M. Mavlyanov, V. A. Shamuratov // Progress in Chemical Science Research. – 2022. – Vol. 5. – P. 27–43.
58. Лекарственные средства из растений : монография / С. А. Вичканова, В. К. Колхир, Т. А. Сокольская [и др.] - Москва : АДРИС, 2009. – 431 с.; 24 см.; ISBN 978-5-903155-03-3
59. Самылина, И. А. Фармакогнозия : учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальности 060301 "Фармация" / И. А. Самылина, Г. П. Яковлев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 969, с. – ISBN 978-5-9704-2601-2. – Текст : непосредственный.
60. Государственный реестр лекарственных средств 2024 : сайт : интернет версия. – URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> (дата обращения: 23.09.2024).
61. Exploring the medicinal plants wealth: a traditional medico-botanical knowledge of local communities in Changa Manga Forest, Pakistan / S. S. Ahmed, S. Erum, S. M. Khan, [et al.] // Middle-East Journal of Scientific Research. – 2014. – Vol. 20. – № 12.– P. 1772-1779.

62. Pareek, A. *Rumex crispus* L. – a plant of traditional value / A. Pareek, A. Kumar // *Drug Discovery*. –2014. – Vol. 9. – № 20. – P. 20-23.
63. Determination of singlet oxygen quenching and protection of biological systems by various extracts from seed of *Rumex crispus* L / H. J. Suh, K. S. Lee, S. R. Kim [et al.] // *Journal of Photochemistry and Photobiology B*. 2011. – Vol. 102. – № 2. – P.102-107.
64. Antioxidant activity of yellow dock (*Rumex crispus* L., Polygonaceae) fruit extract / Z. Maksimovic, N. Kovacevic, B. Lakusic [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2011. – Vol. 25. – № 1. – P. 101-105.
65. Shiwani, S. Carbohydrase inhibition and anti-cancerous and free radical scavenging properties along with DNA and protein protection ability of methanolic root extracts of *Rumex crispus* / S. Shiwani, N. K. Singh, M. H. Wang // *Nutrition Research Practice*. – 2012. – Vol. 6. – № 5. – P. 389-395.
66. Phytochemical composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and cytotoxic activities of *Rumex crispus* L / M. M. Saoudi, K. Alouani, J. Bouajila, R. Rahmani // *International journal of analytical chemistry*. – 2021 – Vol. 2021. – № 1. – P. 6675436.
67. Yildirim, A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts / A. Yildirim, A. Mavi, A. A. Kara // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2001. – Vol. 49. – № 8. – P. 4083-4089.
68. Lee, K. H. Antimalarial activity of nepodin isolated from *Rumex crispus* / K. H. Lee, K. H. Rhee // *Archives of Pharmacal Research*. –2013. – Vol. 36. – № 4. – P. 430-435.
69. Shim, K. Water extract of *Rumex crispus* prevents bone loss by inhibiting osteoclastogenesis and inducing osteoblast mineralization / K. Shim, B. Lee, J. Y. Ma // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. – 2017. – Vol. 17. – № 1. – P. 483.
70. Bioactivity of *Rumex obtusifolius* (Polygonaceae) / D. Harshaw, L. Nahar, B. Vadla [et al.] // *Achives of Biological Science Belgrade* – 2010. – Vol. 62. – № 2. – P. 387–392.
71. Wegiera, M. *Rumex* L. species induce apoptosis in 1301, EOL1 and H-9 cell lines / M. Wegiera, H. D. Smolarz, A. Bogucka-Kocka // *Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research*. – 2012. – Vol. 69. – № 3. – P. 487–499.

72. Anti-Candida and antioxidant activities of hydroalcoholic extract of *Rumex obtusifolius* leaves. / B. Farahnaz, B. Neda, F. Mohammadreza, N. Hossein // *Pakistan journal of pharmaceutical sciences.* – 2019 – Vol. 32 – № 3 – P. 919-926.
73. Molan, A. L., The effects of condensed tannins extracted from different plant species on egg hatching and larval development of *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda: Trichostrongylidae) / A. L. Molan, A. M. Faraj // *Folia Parasitologica.* – 2010. – Vol. 57. – P. 62-68.
74. Protective effect of ECQ on rat reflux esophagitis model / H. S. Jang, J. H. Han, J. Y. Jeong [et al.] // *Korean Journal of Physiology and Pharmacology.* – 2012. – Vol. 16. – № 6. – P. 455-462.
75. The effect of quercetin-3-O- β -D-glucuronopyranoside on indomethacin-induced gastric damage in rats via induction of mucus secretion and down-regulation of ICAM-1 expression / X. M. Yan, M. J. Joo, J. C. Lim [et al.] // *Archives of Pharmacal Research.* – 2011. – Vol. 34. – № 9. – P. 1527-1534.
76. The inhibitory effect of quercetin-3-O- β -D-glucuronopyranoside on gastric and reflux esophagitis in rats / Y. S. Min, S. E. Lee, S. T. Hong, [et al.] // *Korean Journal of Physiology and Pharmacology.* – 2009. – Vol. 13. – № 4. – P. 295-300.
77. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of QGC in cultured feline esophageal epithelial cells / M. J. Lee, H. J. Song, J. Y. Jeong [et al.] // *Korean Journal of Physiology and Pharmacology.* – 2013. – Vol. 17. – № 2. – P. 81-87.
78. The protective effect of quercetin-3-O- β -D-glucuronopyranoside on ethanol-induced damage in cultured feline esophageal epithelial cells / J. H. Cho, S. Y. Park, H. S. Lee, [et al.] // *Korean Journal of Physiology and Pharmacology.* – 2011. – Vol. 15. – № 5. – P. 319-326.
79. The protective mechanism of quercetin-3-O- β -D-glucuronopyranoside (QGC) in H₂O₂-induced injury of feline esophageal epithelial cells / U. S. Sohn, S. E. Lee, S. H. Lee [et al.] // *Arch Pharm Res.* – 2016. – Vol. 39. – № 9: – P. 1324-34.
80. Antibacterial activity of *Rumex aquaticus* and *R. thyrsoiflorus* extracts and isolation of the biologically active compounds / O. Orbán-Gyapai, E. Liktó, E. Urbán [et al.] // *Planta Medica.* – 2015. – Vol. 81. – № 16. – P. 1-7.

81. Antiproliferative activity of Polygonaceae species from the Carpathian Basin against human cancer cell lines / I. Lajter, I. Zupkó, J. Molnár [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2013. – Vol. 27. – № 1. – P. 77-85.
82. Antimutagenicity and cytotoxicity of the constituents from the aerial parts of *Rumex acetosa* / N. J. Lee, J. H. Choi, B. S. Koo [et al.] // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 2005. – Vol. 28. – № 11. – P. 2158-2161.
83. Mekonnen, T. Evaluation of the diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq in mice. / T. Mekonnen, K. Urga, E. Engidawork // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2010 – Vol. 127. – № 2. – P. 433-439.
84. An ethnobotanical study of medicinal plants used by the Yaegl aboriginal community in northern New South Wales, Australia / J. Packer, N. Brouwer, D. Harrington // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2012. – Vol. 139. – № 1. – P. 244-255.
85. Moerman, Daniel E. *Native American Ethnobotany*. – Portland, Oregon : Timber Press, 1998. – 927 pp. ISBN 0-88192-453-9.
86. Antimycobacterial agents from selected Mexican medicinal plants / I. Rivero-Cruz, L. Acevedo, J. A. Gurerrero [et al.] // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2005. – Vol. 57. – № 9. – P. 1117-1126.
87. Antioxidant capacity of Macaronesian traditional medicinal plants / L. Tavares, D. Carrilho, M. Tyagi [et al.] // *Molecules*. – 2010. – Vol. 15. – № 4. – P. 2576-2592.
88. Evaluation of phytochemical content, antimicrobial, cytotoxic and antitumor activities of extract from *Rumex hastatus* D. Don roots / S. Sahreen, M. R. Khan, R. A. Khan [et al.] // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. – 2015. – Vol. 15. – № 211. – P. 1-6.
89. Sahreen, S. Comprehensive assessment of phenolics and antiradical potential of *Rumex hastatus* D. Don. roots / S. Sahreen, M. R. Khan, R. A. Khan // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. – 2014. – Vol. 14. – P. 1-11.
90. Sahreen, S. Evaluation of *Rumex hastatus* leaves against hepatic fibrosis: a rat model / S. Sahreen, M. R. Khan, R. A. Khan // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. – 2017. – Vol. 17. – № 1. – P. 435.

91. Two novel naphthalene glucosides and an anthraquinone isolated from *Rumex dentatus* and their antiproliferation activities in four cell lines / H. Zhang, Z. Guo, N. Wu, [et al.] // *Molecules*. – 2012. – Vol. 17. – № 1. – P. 843-850.
92. Separation and identification of three epimeric pairs of new C-glucosyl anthrones from *Rumex dentatus* by online high performance liquid chromatography–circular dichroism analysis / J. J. Zhu, C. F. Zhang, M. Zhang [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2010. – Vol. 1217. – P. 5384-5388.
93. Four new phenolic constituents from the roots of *Rumex dentatus* L. / J-J. Li, H-T. Zhu, K. A. Eshbakova [et al.] // *Fitoterapia*. – 2023. – Vol. 170. – P. 105657.
94. New seco-anthraquinone glucosides from *Rumex nepalensis* / R. Mei, H. Liang, J. Wang [et al.] // *Planta Medica*. – 2009. – Vol. 75. – № 10. – P. 1162-1164.
95. Phytochemical investigation and potential pharmacologically active compounds of *Rumex nepalensis*: an appraisal / Y. H. Gonfa, F. Beshah, M. G. Tadesse, R. Kumar // *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. – 2021. – Vol. 10. – № 18. – P. 1-10.
96. Anti-inflammatory, cyclooxygenase (COX)-2, COX-1 inhibitory, and free radical scavenging effects of *Rumex nepalensis* / R. Gautam, K. V. Karkhile, K. K. Bhutani, S. M. Jachak // *Planta Medica*. – 2010. – Vol. 76. – № 14. – P. 1564-1569.
97. Данилова, Н. А. Количественное определение дубильных веществ в корнях щавеля конского методом спектрофотометрии в сравнении с методом перманганатометрии / Н. А. Данилова, Д. М. Попов // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. – 2004. – № 2. – С. 173-176.
98. Тутельян, В. А. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи : книга / В. А. Тутельян; К. И. Эллер. – Москва : Династия, 2010. - 180 с. – ISBN 978-5-98125-073-6. – Текст : непосредственный.
99. Матвиенко, У. А. Сравнительный фармакогностический анализ и изучение фармакологической активности некоторых видов рода астрагал (*Astragalus* L.) : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / У. А. Матвиенко ;

ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2024. – 203 с.

100. Бобкова, Н. В. Фармакогностическое изучение комплексных лекарственных растительных средств : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук / Н. В. Бобкова ; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2017. – 275 с.

101. High Performance Liquid Chromatographic Method for Quantitative Determination of Emodin in *Rumex Cyprius* Marb, Spectrophotometric Studies. / I. H. Ahmad, S. M. Ali-Shtayeh, J. J. Waheed [et al.] // International Journal of Sciences: Basic and Applied Research. – 2014. – Vol. 18. – № 217-222.

102. Demirezer, Ö. L. Rapid and Simple Biological Activity of Some *Rumex* Species; Evaluation of Bioguided Fractions of *R. scutatus* and Pure Compounds / Ö. L. Demirezer // Zeitschrift fur Naturforschung. – 1997. – Vol. 52. – № 9. – P. 461-462.

103. Validated method for the analysis of frangulins A and B and glucofrangulins A and B using HPLC and UHPLC / I. Rosenthal, E. Wolfram, S. Peter [et al.] // Journal of Natural Products. – 2014. – Vol. 77. – № 3. – P. 489-496.

104. Выделение, идентификация и количественное определение антраценпроизводных методом ВЭЖХ-УФ в сырье некоторых представителей рода Щавель (*Rumex*) трех сроков вегетации / А. М. Полуянов, А. Ю. Соколова, Е. А. Малашенко [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т. 11. – № 4. – С. 216-225.

105. Identification and Quantitative Determination of Flavonoids by HPLC-UV Method in the Raw Materials of Some Representatives of the Genus *Rumex* of Three Vegetation Time / A. M. Poluyanov, A. Yu. Sokolova, A. D. Koynova [et al.] // Drug Development & Registration. – 2023. – Vol. 12. – № 3. – P. 134-142.

106. Полуянов, А. М. Накопление антраценпроизводных в подземных органах некоторых представителей рода *Rumex* / А. М. Полуянов, Н. П. Балобанова. — Текст: непосредственный // Белые цветы : сборник тезисов 96-й Международной студенческой научно-практической конференции, 28-й Международной научно-

практической конференции молодых ученых, 25-й Международной медико-исторической конференции студентов, Казань, 14–15 апреля 2022 г. – Казань: Казанский государственный медицинский университет, 2022. – С. 901-902.

107. Полуянов, А. М. Идентификация и количественное определение флавоноидов методом ВЭЖХ-УФ в сырье некоторых представителей рода *Rumex* трех времен вегетации / А. М. Полуянов, Н. В. Бобкова. — Текст: непосредственный // Фитофарм 2023: Сборник материалов XXIV Международного съезда, Санкт-Петербург, 25–27 мая 2023 г. – Санкт-Петербург: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2023. – С. 82.

108. Количественное определение дубильных веществ методами титриметрии и спектрофотометрии в сырье некоторых представителей рода *Rumex* трех сроков вегетации / А. М. Полуянов, А. Е. Савельева, А. Д. Койнова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т. 13. – № 4. – С. 148-160.

109. Comparative Study of Free Amino Acid Profiles in Underground Organs of Several Species of the Genus *Rumex* During Different Phases of the Vegetation Cycle / A. M. Poluyanov, U. A. Matvienko, A. Yu. Sokolova [et al.] // Drug Development & Registration. – 2024. – Vol. 13. – № 1. – P. 120-127.

Приложение А. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику учебной работы ФГБОУ ВО Первый Московский Государственный Медицинский Университет имени И.М. Сеченова Министерства Здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени
И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)



_____ Т.М. Литвинова

_____ 20 _____ г.

01 НОЯ 2024

АКТ 530

о внедрении результатов диссертации Полуянова Андрея Михайловича в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Полуянова Андрея Михайловича на тему «Сравнительное изучение фенольного комплекса сырья некоторых представителей рода *Rutex*» внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтического естествознания при изучении дисциплин «Фармакогнозия», «Ботаника», «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», читаемых студентам и ординаторам по специальностям 33.05.01 «Фармация», 33.08.03 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия».

Директор Института фармации им А.П. Нелюбина
д.ф.н., профессор

_____ Г.В. Раменская

Заведующий кафедрой фармацевтического естествознания
д.ф.н., доцент

_____ А.Н. Луферов

Заведующий учебной частью
кафедры фармацевтического естествознания
д.ф.н., доцент

_____ Н.В. Бобкова

Начальник Учебного управления
к.м.н.

_____ Л.Ю. Юдина

**Приложение Б. Акт внедрения в научно-исследовательскую деятельность
Общества с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической
аналитики»**

ЦФА | центр
фармацевтической
аналитики

Общество с ограниченной ответственностью
«ЦЕНТР ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ АНАЛИТИКИ»

Юр./факт. адрес: 117149, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д.8, пом.1/1.
ИНН 9701010444, КПП 772701001, ОГРН 1157746853780, ОКПО 49285758,
Р/с 40702810838000271503 в ПАО СБЕРБАНК г. Москва, к/с 30101810400000000225,
Тел. +7 (499) 281-81-11 website: epha.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ООО «ЦФА»
Д. фарм. н. Шохин И. Е.

« 21 / 09 / 2024 »



Акт внедрения

Предмет внедрения: методика количественного определения флавоноидов методом ВЭЖХ-УФ в растительном сырье

Кем предложен: соискателем учёной степени кандидата фармацевтических наук Полуяновым Андреем Михайловичем, ассистентом кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет)

Кем и где выдан: исследовательский центр ООО «ЦФА»

Цель внедрения: проведение сравнительного изучения фенольного комплекса сырья некоторых представителей рода *Rutex*

Результат внедрения: предложенные методологические основы и подходы внедрены в научно-практическую деятельность исследовательского центра ООО «ЦФА».

Директор исследовательского центра, к. фарм. н.

Комаров Т.Н.

**Приложение В. Акт внедрения в научно-исследовательскую деятельность
Общества с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс»**



Общество с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс»
ОГРН 1237700156099, ИНН 9728089480, КПП 772701001
Юр. адрес: 117149, город Москва, Симферопольский б-р, д. 8, помеш. 1/2



УТВЕРЖДЕНО
Заведующий АЛ
ООО «СК»

Ю.В. Медведев
«17» ноября 2024 г.



Исх. №40-24

АКТ

внедрения результатов научно-исследовательской работы

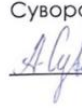
Мы, нижеподписавшиеся, заведующий Аналитической Лабораторией (АЛ) ООО «СК» Медведев Юрий Владимирович и директор Центра Научных Разработок (ЦНР) ООО «СК» Суворова Александра Вадимовна удостоверяем факт внедрения методики качественного и количественного определения антраценпроизводных (эмодина, хризотановой кислоты, эмодин-8-гликозид) методом ВЭЖХ-УФ в растительном сырье представителей рода *Rutex*. Данная методика была разработана в ходе выполнения научно-исследовательской работы по теме: «Сравнительное изучение фенольного комплекса сырья некоторых представителей рода *Rutex*» ассистентом кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Полуяновым Андреем Михайловичем.

Данная методика используется для оценки качества сырья лекарственных растений в ООО «СК».

Заведующий аналитической
лабораторией ООО «СК»,
к. фарм. н., Медведев Ю. В.

 / Медведев Ю.В.

Директор ЦНР ООО «СК»
Суворова А. В.

 / Суворова А.В.



Приложение Г. Проект нормативного документа по заготовке сырья *Rumex*

Инструкция по сбору и сушке корней щавеля

Щавель конский - *Rumex confertus* Willd. - многолетнее травянистое растение семейства гречишных - *Polygonaceae* (Рисунок 1). Корневище короткое, толстое с толстым слабо разветвленным стержневым корнем. Побеги прямостоящие, чаще одиночные, высотой до 1,5 м. Стебли голые, бороздчатые, толщиной до 2 см. Листья очередные, розеточные и нижние стеблевые листья удлиненотреугольнотрехлопастные с сердцевидным основанием, тупые, длиной до 25 см, шириной до 12 - 13 см; верхние - стеблевые меньшего размера, яйцевидно-ланцетовидные. Все листья черешковые: при основании черешков образуется пленчатый раструб, охватывающий стебель. Пластинки листьев снизу, особенно по жилкам, короткоопушенные. Соцветие почти безлистное, узкоцилиндрическое, густое. Цветки с пленчатыми зеленоватыми шестираздельными околоцветниками; наружные листочки их мельче внутренних. Тычинок 6. Пестик с верхней завязью и тремя столбиками. Плоды - трехгранные, овальные, коричневые орешки, длиной 6 - 7 мм, заключенные в три разросшиеся доли околоцветника. На спинке одной из долей обычно развит бугорок (желвачок). Цветет в июне - июле. Плоды созревают в августе - сентябре. При раннем созревании или скашивании иногда наблюдается вторичное цветение в августе - сентябре. Размножение семенное.

Щавель конский встречается почти во всех районах европейской части России (кроме самых северных), Западной Сибири. Отдельные местонахождения известны в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке.

Растет на пойменных и суходольных лугах, лесных полянах и опушках, по обочинам дорог, иногда как сорняк на полях и огородах. Чаще встречается единичными экземплярами или небольшими группами, но местами, чаще всего на интенсивно выпасаемых лугах вблизи селений, образует довольно густые заросли (2 - 5 экземпляров на 1 м²) площадью в несколько гектаров.

Наряду со щавелем конским встречаются щ. курчавый, щ. туполистный и щ. водный, которые обладают сходными внешними признаками и близким составом биологически активных веществ, заготовка сырья которых допускается.

Щавель курчавый – *Rútex crispus* L., Многолетник с прямостоячим, неглубокобороздчатым стеблем высотой до 100-120 см, в соцветии прижатом-волосистым. Имеет листовые пластинки длиной 6-30 см и шириной 1,5-4 см, ланцетные, линейно-ланцетные или продолговаты, длиннозаостренные, в основании закругленные или тупые, по краям сильно волнистые, курчавые. Соцветие узкометельчатое, густое. цветоножки с утолщенными сочленениями в средней и нижней части. Внутренние листочки околоцветника при плодах почти округло-яйцевидные, длиной 5-6 мм и 4-10 мм шириной, при основании сердцевидные или как бы обрубленные, почти цельнокрайние, все или только один с желвачком. Плоды 2-2,5 мм длиной и 1,2-1,5 мм шириной, красно-бурые. Цветет в июне-июле, плоды созревают в июле-августе. **Щавель курчавый широко распространен в северном полушарии.** В России встречается почти по всей территории европейской части, а также преимущественно в южных районах Сибири и Дальнего Востока. В средней России обычен во всех областях. Растет на лугах, по берегам водоемов, обочинам дорог, на пустырях и в поселках.

Щавель туполистный - *Rútex obtusifolius* L. Многолетнее растение с прямым, бороздчатым, ветвящимся в верхней половине стеблем высотой до 120 см. Пластинки прикорневых листьев длиной до 25 см и шириной до 12 см, темно-зеленые, блестящие, продолговато-яйцевидные, тонкие, нежные, плоские, на верхушке туповатые, в основании сердцевидные, голые или слабо опушенные, на длинных тонких черешках; верхние стеблевые листья мельче, овально-ланцетные, с сердцевидным основанием и туповатой верхушкой, короткочерешковые. Соцветие метельчатое с отклоненными и поникающими веточками, олиственное, с расставленными рыхлыми мутовками цветков. Цветки зеленые. Внутренние листочки околоцветника при плодах длиной 2-3 мм шириной 1,5-2 мм, овально-или яйцевидно-треугольные, в нижней части по краям зазубренные, темно-бурые; один из листочков или все с желвачками, которые к созреванию плода становятся

темно-красными, редко листочки околоцветника без желвачков. Цветет в июне-июле, плодоносит в июле-августе. **В России Щавель туполистный встречается** во многих районах европейской части и на Северном Кавказе. Обыкновенное растение во всех областях Средней России. Растет по сорным местам, в сырых лесах, среди кустарников, в парках и садах, по обочинам дорог, на пустырях.

Щавель водный - *Rumex aquatilis* L. Многолетник с прямостоячим бороздчатым стеблем высотой 30–120 см. Пластинки прикорневых листьев длиной 10-30 см и шириной 4-12 см, яйцевидные, продолговато-яйцевидные или ланцетные, при основании сердцевидные, с вниз направленными базальными лопастями; стеблевые листья более мелкие, короткочерешковые. Соцветие метельчатое, с прижатыми веточками и немногими прицветными листьями в нижней части; боковые веточки в нижней части соцветия отходят от оси обычно по три. Внутренние листочки околоцветника при плодах широкояйцевидные, длиной 5-6 мм, цельнокрайние или внизу туповато-зубчатые, все без желвачков. Плоды длиной 3-3,5 мм и шириной 1,5-1,7 мм, темно-бурые. Цветет в июне-июле, плодоносит в июле-августе.

Распространен в России во многих районах европейской части, Сибири и Дальнего Востока. В средней России встречается во всех областях. Растет на болотах, болотистых лугах, по берегам водоемов, на прибрежных песках и галечниках.

Наряду с описанными видами встречаются другие высокорослые и крупнолистные щавели, заготовка сырья, которых не допускается (Таблица Г.1).

Таблица Г.1 – основные отличительные признаки щавеля конского, щавеля курчавого, щавеля туполистного и щавеля водного от других видов

Растение	Диагностические признаки			Ареал
	нижние листья	соцветие	листочки околоцветника	
Щавель длиннолистный (<i>Rumex longifolius</i> DC.)	Продолговато-яйцевидные, у основания округлые или слабосердцевидные по краю слегка волнистые	Густое, малооблиственное, часто начинается почти от земли	Желвачки отсутствуют	Европейская часть СНГ, Сибирь, Кавказ

Продолжение Таблицы Г.1

Щавель водно-щавелевый (<i>Rumex hydrolapathum</i> Huds.)	Широколанцентные, у основания клиновидные, по краю слегка волнистые	Раскидистое, широкометельчатое, облиственное	Имеется 3 желвачка	Европейская часть СНГ, очень редко на Кавказе
Щавель пирамидальный (<i>Rumex thyrsoiflorus</i> Fingerh.)	Стреловидные или копьевидные, некрупные	Пирамидальное	Желвачки отсутствуют	Европейская часть СНГ, Сибирь, Средняя Азия



цельные корни щ. конского



цельные корни щ. курчавого



цельные корни щ. туполистного



цельные корни щ. водного

Рисунок Г.1 – Подземные органы щ. конского, щ. курчавого, щ. туполистного и щ. водного

В качестве сырья используют корни щ. курчавого и щ. туполистного, щ. конского и щ. водного. Заготавливают их весной в период отрастания и в период цветения: с апреля по июль в момент наибольшего накопления

биологически активных соединений фенольного комплекса. Выкопанные подземные органы щавеля отряхивают от земли, обрезают надземные части и сразу же моют в холодной воде. После обсыхания и провяливания на открытом воздухе толстые корни разрезают ножами вдоль и удаляют их поврежденные и отмершие части.

Сушат в сушилках с искусственным обогревом при температуре не выше 50°C; в помещениях и на чердаках с хорошей вентиляцией, под навесами, разложив тонким слоем на ткани или бумаге и время от времени перемешивая. Сушка считается законченной, когда корни с треском ломаются.

Выход сухого сырья составляет около 30 - 35% от массы свежесобранного.

Сырье щавеля представляет собой цельные или продольно разрезанные куски корней, твердые, продольноморщинистые, иногда изогнутые, толщиной от 2 до 10 см, длиной от 3 до 10 см. Цвет снаружи бурый, на изломе желтовато-бурый или серовато-бурый. Излом неровный. Запах своеобразный. Вкус водного извлечения горький, вяжущий.

Числовые показатели: влажность не более 13 %; корней с остатками неотделенных стеблей не более 5 %; измельченных частей менее 2 см не более 3 %; органической примеси не более 1 %; минеральной примеси не более 0,5 %.

Хранят сырье в сухом, защищенном от света месте.

Срок годности сырья 3 года.

Используют как вяжущее средство при желудочно-кишечных заболеваниях, обладает антибактериальным и антирадикальным действием.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Щавеля корни

ФС.2.5...

Rúmicis radices

Взамен ФС.2.5.0052.15

Собранные весной или во время цветения, тщательно отмытые и высушенные корни дикорастущих многолетних травянистых растений щавеля конского – *Rútex confertus* Willd., щавеля – щавеля курчавого *Rútex crispus* L., щавеля туполистного – *Rútex obtusifolius* L., щавеля водного – *Rútex aquāticus* L., сем. гречишных – *Polygonaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Цельные или продольно разрезанные корни, твердые, продольно-морщинистые, прямые или слегка изогнутые, длиной 5 – 25 см, шириной у основания 0,7 – 1,5 см. Излом неровный, волокнистый, неровный (щавель конский и щавель водный), щетинистый (щавель курчавый) или занозистый (щавель туполистный). Цвет снаружи – коричневый (щавель конский и щавель водный) или серо-коричневый (щ. курчавый и щ. туполистный), на изломе – желтовато-оранжевый (щавель конский, щавель водный и щавель курчавый) или зелено-желтый (щавель туполистный), внутри желто-оранжевый или кирпичной красный. Запах слабый, характерный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

Измельченное сырье. Куски разной формы с встречающимися вытянутыми прямоугольными волокнами, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Цвет от светло-желтого до коричневого. Запах слабый, характерный.

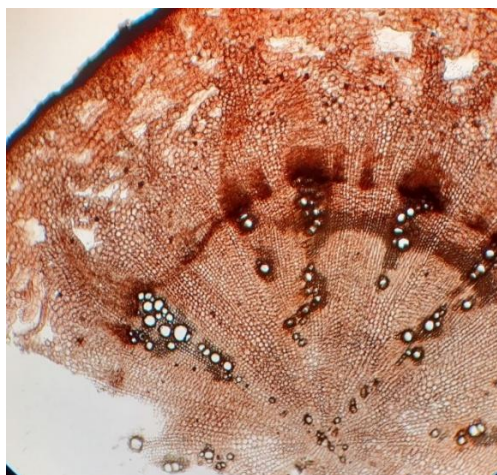
Порошок. При рассмотрении порошка под лупой (10х) или стереомикроскопом (16х) видна смесь кусков различной формы с встречающимися вытянутыми прямоугольными волокнами, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2,0 мм. Цвет от светло-желтого до коричневого. Запах слабый, характерный.

Микроскопические признаки. Цельное сырье. При рассмотрении на поперечном срезе корни снаружи покрыты пробкой, состоящей из уплощенных прямоугольных толстостенных клеток, расположенных радиальными рядами в несколько слоев. Под пробкой, в слое феллодермы располагаются склереиды округлой или овальной формы с сильно утолщенными стенками желтого цвета с срединным щелевидным просветом, в которых отсутствуют или изредка присутствуют поровые каналы. Четкая узкая линия камбия разделяет корень на коровую и древесную части. Кора, состоит из округлых клеток паренхимы с достаточно утолщенными клеточными стенками и воздухоносными полостями.

Ксилема корней содержит проводящие, механические элементы и паренхиму. Сосуды ксилемы у большинства образцов формируют группы и тяжи, ориентированные радиально и разделяемые крупными многорядными сердцевинными лучами, расширяющимися к периферии. Сосуды ксилемы сопровождаются механическими волокнами либриформа - мертвыми узкими прозенхимными клетками с сильно утолщенными пористыми стенками.

Многочисленные друзы оксалата кальция распределены равномерно в паренхимной ткани коры и древесины корней и варьируют по размеру от 12,5 мкм до 58,5 мкм в диаметре, составляя в среднем 25,5 мкм.

Клетки паренхимы всех зон корней содержат крахмал, особенно много крахмала в паренхиме коры и сердцевинных лучах. Крахмальные зерна преимущественно простые, округлой или овальной формы.

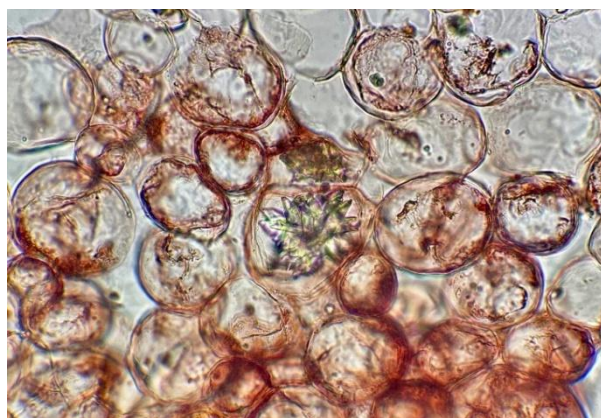


А

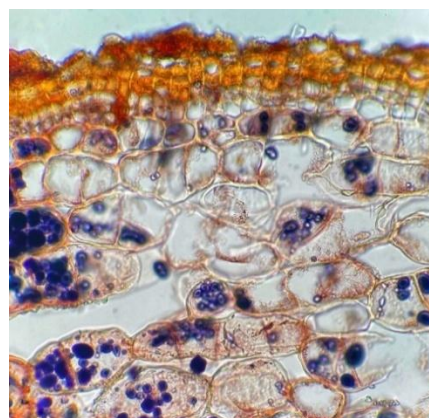


Б

Рисунок Д.1 – Корни щавеля (поперечный срез). А – общий вид корня вторичного строения (40×); Б - сосуды и механические волокна ксилемы (400×), окраска флороглюцином



А



Б

Рисунок Д.2 – Корни щавеля (поперечный срез). А – друзы оксалата кальция (400×), Б – пробка, крахмальные зерна (100×), окраска раствором Люголя

Измельченное сырье. При рассмотрении "давленного" микропрепарата диагностическое значение имеют фрагменты пробки, участки сосудов ксилемы, клетки паренхимы с округлыми многочисленными, собранными в небольшие группы, друзами оксалата кальция, механические волокна и склереиды. По сравнению с цельным сырьем диагностическое значение утрачивают зерна крахмала, разрушающиеся при специфической пробоподготовке «давленного» препарата.

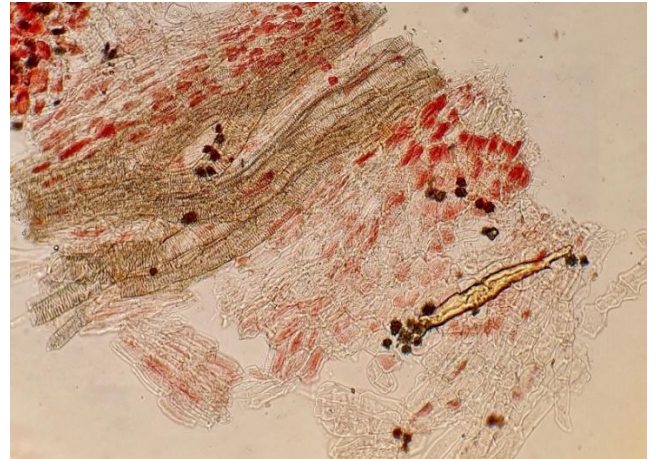
Склереиды (каменистые клетки) представляют собой удлиненные веретеновидные клетки желтоватого цвета с заостренными концами.

Сосуды ксилемы в давленном препарате встречаются одиночно или группами и имеют лестничное, сетчатое, реже - пористое вторичное утолщение клеточных стенок.

Механические волокна либриформа диагностируются в виде длинных узких желтоватых клеток с толстыми редкопористыми стенками, встречающихся, как правило, вместе с сосудами ксилемы.

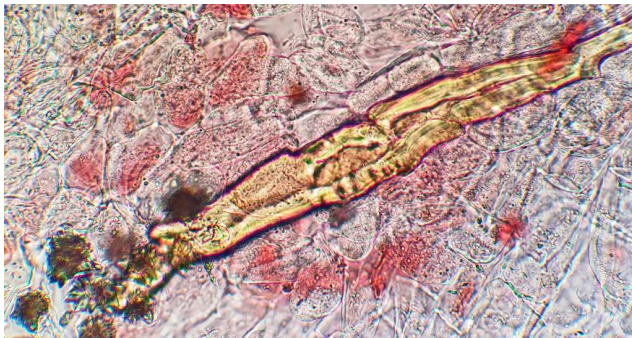


А



Б

Рисунок Д.3 – Корни щавеля (давленный препарат). А – группа склерид (400×); Б – друзы оксалата кальция (40×)



А



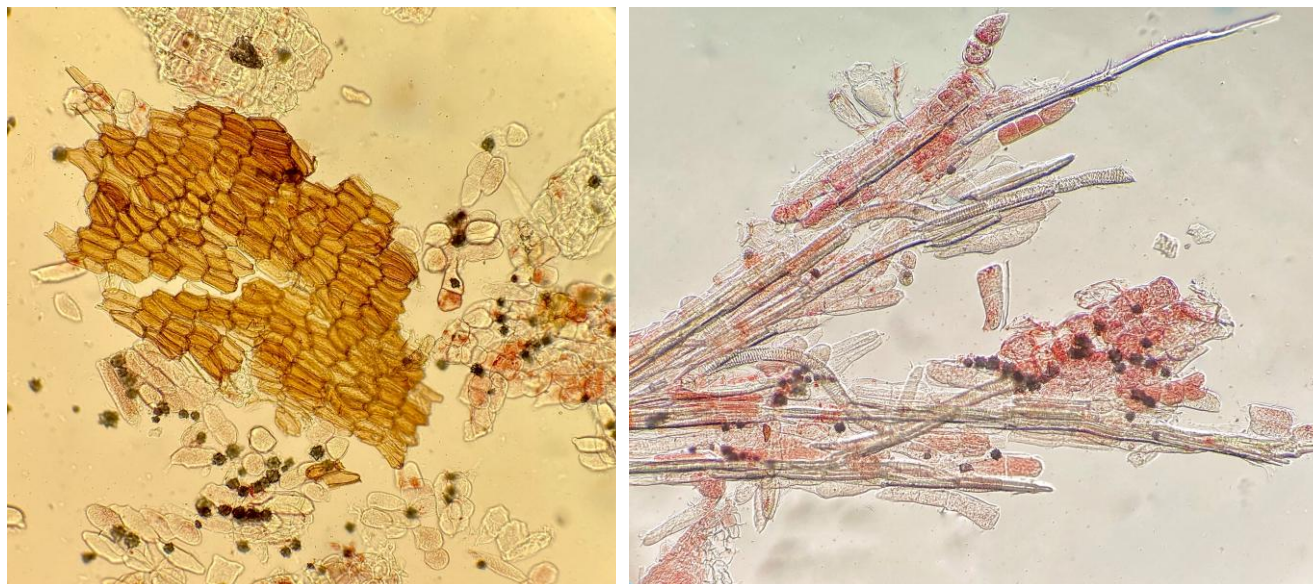
Б

Рисунок Д.4 – Измельченные корни щавеля (давленный препарат). А – фрагмент паренхимы с друзами оксалата кальция, склереида (400×); Б – сосуды ксилемы (400×)

Порошок. Диагностическое значение имеют фрагменты пробки, участки сосудов ксилемы, клетки паренхимы с округлыми многочисленными, собранными в небольшие группы, друзами оксалата кальция, механические волокна и склериды.

Склериды округлой или удлинённой формы, с затупленными или закругленными концами желтого цвета со щелевидным просветом посередине, длина от 83 до 1000 мкм, ширина от 25 до 245 мкм.

Определение основных групп биологически активных веществ



А

Б

Рисунок Д.5 – Порошок сырья корни щавеля (давленный препарат).

А – фрагмент пробки, клетки паренхимы, друзы оксалата кальция (40×);

Б – волокна, сосуды, клетки паренхимы, друзы оксалата кальция (40×)

Тонкослойная хроматография

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой или полимерной подложке размером 10 × 15 см наносят 10 мкл испытуемого раствора (см. раздел «Количественное определение» приготовление раствора Б испытуемого раствора) и рядом 20 мкл раствора стандартного образца (СО) 8-*O*-β-*D*-глюкозида эмолина (см. раздел «Количественное определение» приготовление раствора А СО 8-*O*-β-*D*-глюкозида эмолина). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей *n*-бутанол – уксусная кислота ледяная – вода (4:1:5), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80 – 90 % длины пластинки от линии старта, ее

вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают diazoreактивом, нагревают при 100 – 105 °С в течение 5 мин и просматривают при дневном свете.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции розового цвета на уровне зоны адсорбции розового цвета на хроматограмме раствора СО 8-О-β-D-глюкозида эмолина; допускается обнаружение других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 13 %.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 10 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье* – не более 5 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %.

Измельченное сырье: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, - не более 5%. частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, - не более 5%.

Порошок: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, - не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, - не более 5%.

Посторонние примеси

Корневища с остатками неотделенных стеблей. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 5 %.

Кусочки корней короче 2 см. *Цельное сырье* – не более 3 %.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 1 %.

Минеральная примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 0,5 %.

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, измельченное сырье, порошок:* сумма антраценпроизводных в пересчете на 8-*O*- β -*D*-глюкозид эмолина – не менее 3 %.

Цельное сырье, измельченное сырье, порошок: сумма дубильных веществ в пересчете на танин – не менее 4%. Определение дубильных веществ в пересчете на танин проводят в соответствии с требованиями ОФС "Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах" (метод 1).

Приготовление растворов.

*Раствор СО 8-*O*- β -*D*-глюкозида эмолина.* Около 0,02 г (точная навеска) СО 8-*O*- β -*D*-глюкозида эмолина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл спирта 96 % при нагревании. Затем содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор А СО 8-*O*- β -*D*-глюкозида эмолина). Срок годности раствора 30 сут.

1,0 мл раствора А СО 8-*O*- β -*D*-глюкозида эмолина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивают, затем раствор переносят в колбу вместимостью 50 мл и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 15 мин и охлаждают (раствор Б СО 8-*O*- β -*D*-глюкозида эмолина).

Щелочно-аммиачный раствор. 50,0 г натрия гидроксида растворяют при перемешивании в 870 мл воды. После охлаждения к раствору прибавляют 80 мл аммиака раствора концентрированного и перемешивают. Срок годности раствора 1 сут.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 %. Колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью до $\pm 0,01$ г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (раствор А испытуемого раствора)

1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивают и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником (раствор Б испытуемого раствора). После охлаждения измеряют оптическую плотность раствор Б испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют: 1 мл спирта 70 % помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивают и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО 8-О- β -D-глюкозида эмодина. В качестве раствора сравнения используют: 1 мл спирта 96 % помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивают, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником.

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозида эмодин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

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

где A – оптическая плотность раствор Б испытуемого раствора;
 A_0 – оптическая плотность раствора Б СО 8-О-β-D-глюкозида эмодина;
 a – навеска сырья, г;
 a_0 – навеска СО 8-О-β-D-глюкозида эмодина, г;
 P – содержание основного вещества в СО 8-О-β-D-глюкозида эмодина, %;
 W – влажность сырья, %.

Допускается содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозида эмодин вычислять с использованием удельного показателя поглощения 8-О-β-D-глюкозида эмодина с щелочно-аммиачным раствором по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность раствор Б испытуемого раствора;
 $A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения 8-О-β-D-глюкозида эмодина с щелочно-аммиачным раствором при длине волны 520 нм, равный 160;
 a – навеска сырья, г;
 W – влажность сырья, %.

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».

Таблица Д.1 – Лист изменений к ФС.2.5.0052.15 «Щавеля конского корни»

№	Текст ФС.2.5.0052.15 «Щавеля конского корни»	Текст в новой редакции для проекта ФС «Щавеля корни»
Дополнение к существующему тексту ФС		
1.	Собранные осенью или весной, тщательно отмытые и высушенные корни дикорастущего многолетнего травянистого растения щавеля конского – <i>Rútex confértus Willd.</i> , сем. гречишных – <i>Polygonaceae</i> .	Собранные весной или во время цветения, тщательно отмытые и высушенные корни дикорастущих многолетних травянистых растений щавеля конского – <i>Rútex confértus Willd.</i> , щавеля – щавеля курчавого <i>Rútex crispus L.</i> , щавеля туполистного – <i>Rútex obtusifolius L.</i> , щавеля водного – (<i>Rútex aquāticus L.</i>), сем. гречишных – <i>Polygonaceae</i> .
2.	Внешние признаки. Цельное сырье. Цельные или продольно разрезанные корни, твердые, продольно-морщинистые, прямые или слегка изогнутые, длиной 3 – 10 см, толщиной 2 – 10 см. Излом неровный. Цвет снаружи – темно-коричневый, на изломе – желтовато-коричневый или серовато-коричневый, внутри – желто-оранжевый. Запах слабый, своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.	Внешние признаки. Цельное сырье. Цельные или продольно разрезанные корни, твердые, продольно-морщинистые, прямые или слегка изогнутые, длиной 5 – 25 см, шириной у основания 0,7 – 1,5 см. Излом неровный, волокнистый, неровный (щавель конский и щавель водный), щетинистый (щавель курчавый) или занозистый (щавель туполистный). Цвет снаружи – коричневый (щавель конский и щавель водный) или серо-коричневый (щ. курчавый и щ. туполистный), на изломе □ желтовато-оранжевый (щавель конский, щавель водный и щавель курчавый) или зелено-желтый (щавель туполистный), внутри желто-оранжевый или кирпичной красный. Запах слабый, характерный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.
Внесение новых разделов ФС		
3.	Добавлен раздел: Внешние признаки. Измельченное сырье.	Измельченное сырье. Куски разной формы с встречающимися вытянутыми прямоугольными волокнами, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Цвет от светло-желтого до коричневого. Запах слабый, характерный.

Продолжение Таблицы Д.1

4.	Добавлен раздел: Внешние признаки. Порошок	<i>Порошок.</i> При рассмотрении порошка под лупой (10х) или стереомикроскопом (16х) видна смесь кусков различной формы с встречающимися вытянутыми прямоугольными волокнами, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2,0 мм. Цвет от светло-желтого до коричневого. Запах слабый, характерный.
Дополнение к существующему тексту ФС		
5	<p>Микроскопические признаки. Цельное сырье. При рассмотрении на поперечном срезе должно быть видно вторичное строение корня: пробковый слой состоит из старых слущивающихся слоев и новых слоев, состоящих из ровных 3 – 5 рядов клеток правильной прямоугольной формы. К центру от пробки находится основная паренхима коровой части корня, прямоугольные клетки которой имеют более или менее утолщенные клеточные стенки, неправильное очертание полостей и располагаются рядами – от 8 до 10. К центру от камбия расположены элементы вторичной ксилемы, а к периферии – вторичная флоэма. Во вторичной ксилеме хорошо заметны 3 – 4 широких первичных радиальных луча паренхимы, достигающих центра корня, первичной ксилемы. На продольном срезе коровой части хорошо заметны элементы механической ткани – склереиды. Они представлены клетками округлой 3 формы, желтого цвета с срединным щелевидным просветом, в которых отсутствуют или изредка присутствуют поровые каналы. Лубяные волокна локализируются во флоэме корня и в поперечном сечении имеют продолговатую, прозенхимную форму.</p>	<p>Микроскопические признаки. Цельное сырье. При рассмотрении на поперечном срезе корня снаружи покрыты пробкой, состоящей из уплощенных прямоугольных толстостенных клеток, расположенных радиальными рядами в несколько слоев. Под пробкой, в слое феллодермы располагаются склереиды округлой или овальной формы с сильно утолщенными стенками желтого цвета с срединным щелевидным просветом, в которых отсутствуют или изредка присутствуют поровые каналы. Четкая узкая линия камбия разделяет корень на коровую и древесную части. Кора, состоит из округлых клеток паренхимы с достаточно утолщенными клеточными стенками и воздухоносными полостями. Ксилема корней содержит проводящие, механические элементы и паренхиму.</p> <p>Сосуды ксилемы у большинства образцов формируют группы и тяжи, ориентированные радиально и разделяемые крупными многорядными сердцевинными лучами, расширяющимися к периферии. Сосуды ксилемы сопровождаются механическими волокнами либриформа - мертвыми узкими прозенхимными клетками с сильно утолщенными пористыми стенками. Друзы оксалата кальция распределены равномерно в паренхимной ткани коры и древесины корней и варьируют по размеру от 12,5 мкм до 58,5 мкм, составляя в среднем по размеру 25,5 мкм. Клетки паренхимы коры содержат многочисленные друзы оксалата кальция. Клетки паренхимы всех зон корней содержат крахмал, особенно много крахмала в паренхиме коры и сердцевинных лучах. Крахмальные зерна преимущественно простые округлой или овальной формы.</p> <p><i>Добавлено 4 рисунка</i></p>

Продолжение Таблицы Д.1

Внесение новых разделов ФС		
6	<p>Добавлен раздел: Микроскопия. <i>Измельченное сырье.</i></p>	<p><i>Измельченное сырье.</i> При рассмотрении "давленного" микропрепарата диагностическое значение имеют фрагменты пробки, участки сосудов ксилемы, клетки паренхимы с округлыми многочисленными, собранными в небольшие группы, друзами оксалата кальция, механические волокна и склереиды. По сравнению с цельным сырьем диагностическое значение утрачивают зерна крахмала, разрушающиеся при специфической пробоподготовке «давленного» препарата. Склереиды (каменистые клетки) представляют собой удлиненные веретеновидные клетки желтоватого цвета с заостренными концами. Сосуды ксилемы в давленном препарате встречаются одиночно или группами и имеют лестничное, сетчатое, реже - пористое вторичное утолщение клеточных стенок. Механические волокна либриформа диагностируются в виде длинных узких желтоватых клеток с толстыми редкопористыми стенками, встречающихся, как правило, вместе с сосудами ксилемы.</p> <p style="text-align: right;"><i>Добавлено 4 рисунка</i></p>
7	<p>Добавлен раздел: Микроскопия. <i>Порошок.</i></p>	<p><i>Порошок.</i> Диагностическое значение имеют фрагменты пробки, участки сосудов ксилемы, клетки паренхимы с округлыми многочисленными, собранными в небольшие группы, друзами оксалата кальция, механические волокна и склереиды. Склереиды округлой или удлиненной формы, с затупленными или закругленными концами желтого цвета со щелевидным просветом посередине, длина от 83 до 1000 мкм, ширина от 25 до 245 мкм.</p> <p style="text-align: right;"><i>Добавлено 2 рисунка</i></p>

Продолжение Таблицы Д.1

Дополнение к существующему тексту ФС		
8.	Дополнен раздел: ИСПЫТАНИЯ, Измельченность сырья.	<p><i>Измельченное сырье:</i> частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, - не более 5%. частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, - не более 5%.</p> <p><i>Порошок:</i> частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, - не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, - не более 5%.</p> <p>Во все показатели качества внесены разделы измельченное сырье и порошок</p>
9.	Дополнен раздел: ИСПЫТАНИЯ, Количественное определение. Цельное сырье, измельченное сырье и порошок.	<p><i>Цельное сырье, измельченное сырье, порошок:</i> сумма антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозид эмодаина – не менее 3 %.</p> <p><i>Цельное сырье, измельченное сырье, порошок:</i> сумма дубильных веществ в пересчете на танин – не менее 4%.</p> <p>Определение дубильных веществ в пересчете на танин проводят в соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1).</p>