

На правах рукописи

ГУДКОВА
Алевтина Алексеевна

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

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Москва – 2020

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный консультант:

доктор фармацевтических наук, профессор

Сорокина Алла Анатольевна

Официальные оппоненты:

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, заведующий кафедрой

Потанина Ольга Георгиевна – доктор фармацевтических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Центр научных исследований и разработок Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра), директор

Ханина Миниса Абдуллаевна – доктор фармацевтических наук, профессор, Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», кафедра химии, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России), г. Курск

Защита состоится «21» октября 2020 г. в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета ДСУ 208.002.01 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119019, г. Москва, Никитский бульвар, д.13.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Zubovskiy bulvar, d. 37/1 и на сайте <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « »

2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета ДСУ208.002.01
доктор фармацевтических наук,
профессор

Демина Наталья Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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

Семейство гречишных *Polygonaceae* Juss. включает значительное видовое разнообразие и широкий спектр жизненных форм. На количественный состав родов и видов семейства *Polygonaceae* Juss. существуют различные взгляды: П.Ф. Маевский насчитывает около 40 родов и более 800 видов, согласно А.Л. Тахтаджяну - около 30 - 35 родов и более 1000 видов. Единого мнения по поводу номенклатуры семейства гречишные нет и в зарубежных источниках. В род *Persicaria* Mill. (ранее *Polygonum* L.) в настоящий момент включено **66** видов (по данным информационной базы The Plant List). Официальными видами, разрешенными к медицинскому применению на территории РФ в качестве лекарственных растительных препаратов, а также как растительная субстанция для получения фитопрепаратов, обладающих кровоостанавливающим эффектом, являются горец перечный и горец почечуйный. Трава этих видов включена в Государственную Фармакопею РФ XIV изд. Другие виды рода горец: горец земноводный (наземная и водная формы), горец малый, горец узловатый, горец щавелелистный, горец шероховатый и др., не подлежат заготовке и рассматриваются как возможные примеси.

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

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

Степень разработанности темы исследования

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

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

Цель настоящего исследования - фармакогностическое изучение растений рода горец (*Persicaria* Mill.), характеризующихся близкородственными связями, основанное на сравнительном анализе морфолого-анатомических характеристик и профиля биологически активных соединений метаболома (на примере растений, произрастающих в Воронежской обл.) и экспериментальное обоснование возможности их использования в качестве лекарственного растительного сырья.

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

1. Проанализировать и обобщить научные и нормативные данные по вопросам ресурсной базы, химического состава, стандартизации и медицинского использования видов рода горец;
2. Провести сравнительное изучение морфолого-анатомических признаков 10 видов сырья горцев, произрастающих на территории Воронежской области: горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) для установления идентификационных признаков сырья;
3. Изучить возможность применения перспективных методов микроскопического анализа (петиолярная анатомия, люминесцентная и растровая электронная микроскопия) для идентификации и анализа индивидуальных особенностей изучаемых видов горцев;
4. Провести изучение состава БАВ горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью современных физико-химических методов (ТСХ, СФ, ВЭЖХ-МС, капиллярный электрофорез, хромато-масс-спектрокопия, и др.);
5. Провести сравнительную количественную оценку отдельных групп БАВ среди объектов исследования. Выявить наиболее перспективные виды горцев для получения инновационных лекарственных растительных препаратов;
6. Разработать методики количественного определения отдельных групп БАВ для видов рода горец используемых и перспективных к внедрению в медицинскую практику для включения их в действующую нормативную документацию;
7. Изучить состав и особенности накопления БАВ и минеральных веществ в сырье изучаемых видов горцев на примере фармакопейных и примесных к ним видах горцев;
8. Изучить характеристики безопасности сырья растений рода горец (содержание тяжелых металлов и мышьяка, пестицидов, радионуклидов, микотоксинов и микробиологической чистоты);
9. Изучить возможность использования сырья горцев в качестве фармацевтической субстанции растительного происхождения для получения жидких экстрактов на примере травы горца почечуйного и травы горца щавелелистного;

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

Новизна исследования и полученных результатов

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

С помощью современных физико-химических методов (СФ, ВЭЖХ-МС, капиллярный электрофорез, хромато-масс-спектрокопия, и др.) впервые получены научно обоснованные данные о химическом составе горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы). Впервые проведен сравнительный анализ комплекса биологически активных соединений (БАВ) травы растений рода горец. Выявлены соединения, выступающие хемотаксономическими маркерами. Дана их качественная характеристика и количественная оценка, для чего разработаны и валидированы методики, адаптированные к изучаемому сырью. Предложены показатели, характеризующие содержание БАВ в траве горца почечуйного и траве горца щавелелистного (содержание экстрактивных веществ и флавоноидов). Впервые проведено изучение характеристик подлинности и химического состава свежезаготовленной травы горца почечуйного. Установлен состав минерального комплекса. Получены, охарактеризованы и установлены нормы качества жидких экстрактов горца почечуйного травы и горца щавелелистного травы. Впервые методом компьютерного моделирования, *in silico* установлены приоритетные направления фармакологического скрининга, возможные

побочные эффекты и токсическое действие 10 изучаемых видов горцев в зависимости от состава фенольного комплекса БАВ. В результате эксперимента *in vivo* впервые экспериментально установлено наличие выраженной капилляропротекторной активности жидких экстрактов (1:1) травы горцев почечуйного, щавелелистного и перечного и гемостатической активности слабой степени выраженности жидкого экстракта горца почечуйного травы. Научная новизна выполненного исследования подтверждена патентом РФ (№2605855, 28.01.2015) и положительным решением по заявке на получение патента РФ (№ 2019115706, 22.05.2019).

Теоретическая значимость

Изученные в работе виды рода горец, относящиеся к ряду *Lapathiiformes* перспективны к внедрению в медицинскую практику в качестве лекарственного растительного сырья наряду с горца почечуйного и горца перечного травой. Это дополнительно способствует решению проблемы фармацевтической науки, направленной на видовое расширение сырьевой базы для получения новых лекарственных растительных препаратов за счет использования близкородственных видов. Проведенные комплексные исследования показали целесообразность объединения представителей рода горец ряда *Lapathiiformes* в цикл полиморфных видов, который перспективен к внедрению в медицинскую практику в качестве лекарственного растительного сырья.

Значимость полученных автором результатов для науки и практики

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

Получены новые сведения по составу метаболома 10 видов горцев. На основе проведенных исследований, разработаны пять проектов фармакопейных статей,

предоставленные в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, что является важным для регистрации неофициальных видов рода горец и внедрения их в медицинскую практику.

Сформулированные рекомендации по идентификации изучаемых видов по морфолого-анатомическим признакам, отражены в монографии «Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.».

Основные положения, выдвигаемые на защиту

- Результаты изучения морфологических признаков травы горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью стереомикроскопии, люминесцентной микроскопии и растровой электронной микроскопии;
- Результаты анатомического изучения травы горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью классического микроскопирования и петиолярной анатомии;
- Результаты сравнительного изучения состава метаболома травы горца почечуйного, горца перечного, горца малого, горца щавелелистного, горца шероховатого, горца войлочного, горца узловатого, горца Бриттингера, горца земноводного (водная и наземная формы) с помощью современных физико – химических методов анализа;
- Результаты изучения состава минерального комплекса травы представителей рода горец;
- Результаты определения безопасности применения представителей рода горец на примере горца почечуйного травы;
- Результаты проведения фармакологического скрининга жидкого экстракта горца почечуйного травы и горца щавелелистного травы на наличие гемостатической и капилляропротекторной активности.

Методология и методы исследования

Методология исследования базируется на анализе литературных данных, оценке степени изученности и актуальности темы исследования. Теоретическую основу исследования составили труды российских (Комаров В.Л., Высочина Г.И., Ворошилов

В.Н., Вагабова Р.А., Редкокашин Д.Е., Куркина А.В., Чистякова А.С. и др.) и зарубежных (Smolarz H.D., Chomenka J, Ishfad H., Лукіна І. А., F. Steinmetz E., Linda J., Akeroyd J. R. и др.) исследователей, работы которых были направлены на решение проблем таксономии, идентификации видов и изучение химического состава и фармакологических свойств отдельных представителей рода горец.

В качестве объектов в работе использовали образцы травы представителей семейства *Polygonaceae* Juss. (гречишные) рода *Persicaria* Mill. (горец), рядов *Amphibiae* Kom., *Hydropiperiformes* Kom., *Persicariaeformes* Kom., *Lapathiiformes* Worosch, заготовленные в Воронежской области в период с 2014 по 2018 гг.

В работе были применены современные физико-химические методы: хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), хромато-масс-спектрометрия, спектрофотометрия (СФ), титриметрия, а также иммунно-ферментный анализ, микробиологические методы и др. Изучение морфолого-анатомических особенностей проводили с помощью метода прямой микроскопии в проходящем и отраженном свете (стереомикроскопия, люминесцентная микроскопия) и растровой электронной микроскопии. Оценку фармакологической активности проводили согласно руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Для валидации разработанных методик и статистической обработки результатов использовали ОФС.1.1.0012.15 «Валидация фармакопейных методик» и ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» ГФ РФ XIII и XIV изд.

Достоверность научных положений и выводов

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

Апробация работы

Основные результаты исследования доложены на конференциях: 5-ая Всероссийская с международным участием научно-методическая конференция «Фармообразование - 2013» (Воронеж, 2013); III, IV и V научно-практич. конф. «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 2015, 2016, 2017); VII и VIII научно-практич. конф. «Актуальные вопросы оценки безопасности применения лекарственных средств» (Москва, 2016, 2017); 6-ая международная научно-методическая конференция «Фармообразование - 2016» (Воронеж, 2016), 7-ая международная научно-методическая конференция «Фармообразование - 2018» (Воронеж, 2018), международная научная конференция "Перспективы лекарственного растениеводства" (Москва, 2018), научно-практическая конференция «IV Гаммермановские чтения 2019» (Санкт-Петербург, 2019), международный XXIII конгресс Phytopharm 2019 (Санкт-Петербург, 2019).

Апробация настоящей диссертационной работы прошла на совместном заседании кафедр фармацевтической химии и фармацевтической технологии, фармакологии; управления и экономики фармации и фармакогнозии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» 26.06.2019 г. и на научной межкафедральной конференции кафедры фармацевтического естествознания и кафедры химии Института Фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 20.12.2019 г.

Личный вклад автора

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

Внедрение результатов исследования

Проведенные исследования послужили основой для разработки фармакопейной статьи (ФС) «Горца почечуйного трава», которая включена в ГФ РФ XIV изд., а также проектов ФС: «Горца почечуйного трава свежая», «*Polygoni persicariae* L. *herbae*, *Persicaria* - Настойка гомеопатическая матричная», «Горца щавелелистного трава», «Горца почечуйного экстракт жидкий», «Горца щавелелистного экстракт жидкий»

(проекты ФС направлены в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). Разработаны проекты «Инструкция по заготовке и сушке горца щавелелистного травы», «Инструкция по заготовке и сушке горца почечуйного травы». Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии, кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, при подготовке курсов повышения квалификации по направлению «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» фармацевтического факультета Воронежского государственного университета, кафедры ботаники и микологии медико-биологического факультета Воронежского государственного университета, а также стали основой для написания монографии А.А. Гудковой, А.С. Чистяковой, А.А. Сорокиной «Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук

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

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 62 печатных работы: 21 статья в научных журналах (из них 19 статей в журналах, входящих в список ВАК, в том числе 2 из которых входят в базу Scopus), 25 статей в сборниках научных трудов и материалах конференций, 13 тезисов, 2 патента РФ на изобретения, 1 монография: «Экспериментально-теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.» (Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2020).

Объем и структура диссертации

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

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили образцы травы представителей семейства *Polygonaceae* Juss. (гречишные) рода *Persicaria* Mill. (горец), заготовленные в Воронежской области в 2013 – 2018 гг.:

Таблица 1 - Виды рода *Persicaria* Mill. (Горец), используемые в работе

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

Идентификацию объектов проводили с использованием определителей растений и гербарных образцов, предоставленных кафедрой ботаники и микологии ФГБОУ ВО ВГУ. Растительное сырье заготавливали в момент массового цветения, срезая облиственные цветущие побеги и высушивая воздушно-теневым способом. Фиксацию свежезаготовленных объектов проводили с использованием спирта этилового 95%.

Морфолого–анатомический анализ видов рода *Persicaria* Mill. проводили согласно ОФС.1.5.3.0003.15 ГФ РФ XIII изд. и XIV изд. «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» с использованием прямого микроскопа Olympus SC50

(Япония) в отраженном свете (светлое поле) при увеличении $\times 100$, «Биомед-2М» (Россия) с объективами $\times 40$, $\times 100$, «Биомед-6» (Россия) с объективами $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$. Визуализация диагностических признаков проводилась с помощью цифровой видеокамеры «Levenchuk» C310 NG и программным обеспечением Top View ($\times 86$). Изучение объектов с помощью люминесцентной микроскопии осуществляли на оптическом микроскопе Nikon ECLIPSE Ni-E/Ni-U (Япония) (Центр коллективного пользования ФГБОУ ВО ВГУ (ЦКП ВГУ), Микромед 3 ЛЮМ, оснащенный корпусом люминесцентной насадки (Россия) (Научно – исследовательская лаборатория почетного доктора ВГУ проф. Михаэля А. Поппа). При изучении объектов методом петиолярной анатомии, одревесневшие оболочки клеток выявляли обработкой микропрепаратов 1% раствором флороглюцина и 25% раствором серной кислоты. Исследования образцов методом растровой электронной микроскопии проводили на электронном микроскопе JSM-6510LV (ЦКП ВГУ). Биометрические характеристики устанавливали с помощью окуляр-микрометра.

Определение экстрактивных веществ проводили по ОФС.1.5.3.0006.15 ГФ РФ XIV изд. «Определение экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» с помощью метода 1.

Количественное определение полисахаридов, аскорбиновой кислоты, суммы органических кислот (ОК) в пересчете на яблочную, дубильных веществ в пересчете на танин проводили согласно действующей нормативной документации. Спектры поглощения исследуемых объектов получали в УФ – и видимой областях с помощью приборов СФ – 2000-01(Россия) и Hitachi U-1900 (Япония). Спектральный диапазон приборов – от 200 до 750 нм.

Качественный анализ и количественную оценку содержания простых восстанавливающих сахаров, пантотеновой кислоты, холина, полного состава аминокислот (АК), свободных органических кислот определяли методом капиллярного электрофореза («Капель-105/105М», «Люмэкс», СПб, Россия). Содержание тиамина и рибофлавина анализировали методом флуориметрии («ФЛЮОРАТ® - 02», Россия).

Качественный состав флавоноидов изучали методом ТСХ в системе этилацетат : муравьиная кислота : вода (10:2:3), детектирование зон флавоноидов проводили 5% спиртовым раствором хлорида алюминия с последующим проявлением в УФ – свете. Количественное содержание флавоноидов и гидроксикоричных кислот (ГКК)

устанавливали методом ВЭЖХ с использованием системы ВЭЖХ Agilent 1100 (Agilent Technologies, США), оснащенной бинарным насосом, дегазатором, термостатируемым автосемплером, термостатом колонок, диодно-матричным спектрофотометрическим (Agilent 1100 Series Diode Array) и времяпролетным масс-спектрометрическим детектором (Agilent 6200 TOFLC/MS).

Анализ элементного состава осуществляли методом хромато-масс-спектрологии (ХМС) с индуктивно связанной плазмой на приборе «ELAN-DRC», определение тяжелых металлов и мышьяка проводили методом атомно – абсорбционной спектрологии («ААС Квант-2А», Россия). Присутствие пестицидов (ДДТ и его метаболиты, ГХЦГ), устанавливали методом газовой хроматографии на приборе «Цвет 500М» (Россия); радионуклидов (Цезий-137, Стронций-90) - на комплексном универсальном спектрометре УСК «Гамма-Плюс» с использованием программного обеспечения «Прогресс» (Россия).

Присутствие в сырье микотоксинов методом непрямого иммуноферментного анализа определяли согласно ГОСТ 31653-2012. Исследование образцов на микробиологическую чистоту проводили в соответствии с ОФС.1.2.4.0002.15 ГФ РФ XIII изд. «Микробиологическая чистота».

Получение и оценку качества жидких экстрактов проводили согласно ОФС.1.4.1.0021.15 ГФ РФ XIV изд. «Экстракты».

Оценку вероятности наличия того или иного фармакологического эффекта, а также побочных и токсических эффектов проводили методом компьютерного моделирования *in silico*.

В доклинических исследованиях на наличие гемостатической активности использовали тест «время остановки кровотечения», капилляропротекторной активности модель ксилоловых петехий, согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» на 30 белых аутбрендных мышах – самцах, которым в течение 3-х дней с помощью внутрижелудочного зонда вводили образцы жидких экстрактов (ЖЭ) в дозе 50 мг/кг в виде суспензии сухого остатка ЖЭ в 1% крахмальной слизи. Препарат сравнения – «Жидкий экстракт горца перечного травы» (ЖЭ ГПер) заводского производства (ООО Камелия НПП, сер.010119).

В качестве стандартных образцов использовались коммерчески доступные индивидуальные вещества: рутин ($\geq 94\%$, Sigma), гиперозид ($\geq 95\%$, HWI ANALYTIK

GMBH), изокверцитрин ($\geq 94\%$, HWI ANALYTIK GMBH), авикулярин (ChromaDex), кемпферол-3-глюкозид ($\geq 95\%$, PhytoLab), витексин ($\geq 96\%$, Fluka), изовитексин ($\geq 99\%$, Extrasynthese), лютеолин-7-глюкозид ($\geq 98\%$, Extrasynthese), мирицетин (appr. 85%, Sigma), кверцетин ($\geq 98\%$, Sigma), кемпферол ($\geq 99\%$, Extrasynthese), изорамнетин ($\geq 99\%$, Fluka), лютеолин ($\geq 99\%$, Extrasynthese), апигенин ($\geq 95\%$, Sigma), хлорогеновая кислота ($\geq 95\%$, Sigma), кофейная кислота ($\geq 98\%$, Sigma), феруловая кислота ($\geq 99\%$, Aldrich), розмариновая кислота ($> 96\%$, Aldrich), кафтаровая кислота ($\geq 98\%$, Fluka), п-кумаровая кислота ($\geq 98\%$, Sigma), синаповая кислота ($\geq 98\%$, Sigma) танин, галловая кислота, простые сахара (рамноза, глюкоза, ксилоза, фруктоза), органические кислоты (аскорбиновая, винная, щавелевая, лимонная, яблочная, янтарная), аминокислоты (пролин, глицин, глутаминовая кислота, метионин, фенилаланин, аргинин, валин, лейцин) ($\geq 98\%$, ЗАО «Вектон», СПб, Россия). В работе использовали растворители и реактивы марки х.ч. и ч.д.а. (ЗАО «Вектон», СПб, Россия), отвечающие требованиям соответствующей НД.

Разработанные методики валидированы, полученные результаты статистически обработаны, согласно требованиям действующей нормативной документации с помощью программы «Microsoft Excel 2010».

Результаты исследования

Изучение морфолого-анатомических особенностей видов рода горец

Одной из важных проблем при заготовке растительного сырья, особенно характеризующегося наличием близкородственных видов, является определение его видовой принадлежности. Учитывая широкое распространение видов рода горец, первым этапом являлось проведение исследований, позволяющих дать диагностическую характеристику отдельных видов, что имеет практический интерес для предотвращения фальсификации сырья на этапе его заготовки. Основные морфологические признаки представителей рода горец были изучены с помощью стереомикроскопии. Выявлены и визуализированы основные идентификационные характеристики изучаемых видов (рисунок 1). Установлена вариабильность признаков в пределах секций рода. Выявлено, что наиболее яркими особенностями, определяющими подлинность объектов, являются: наличие и строение трихом на раструбе и листовой пластинке, а также выделительного аппарата. Отличительной особенностью наземной формы горца земноводного является

наличие на обеих сторонах листа и главной жилке крупных и многочисленных пучковых волосков.

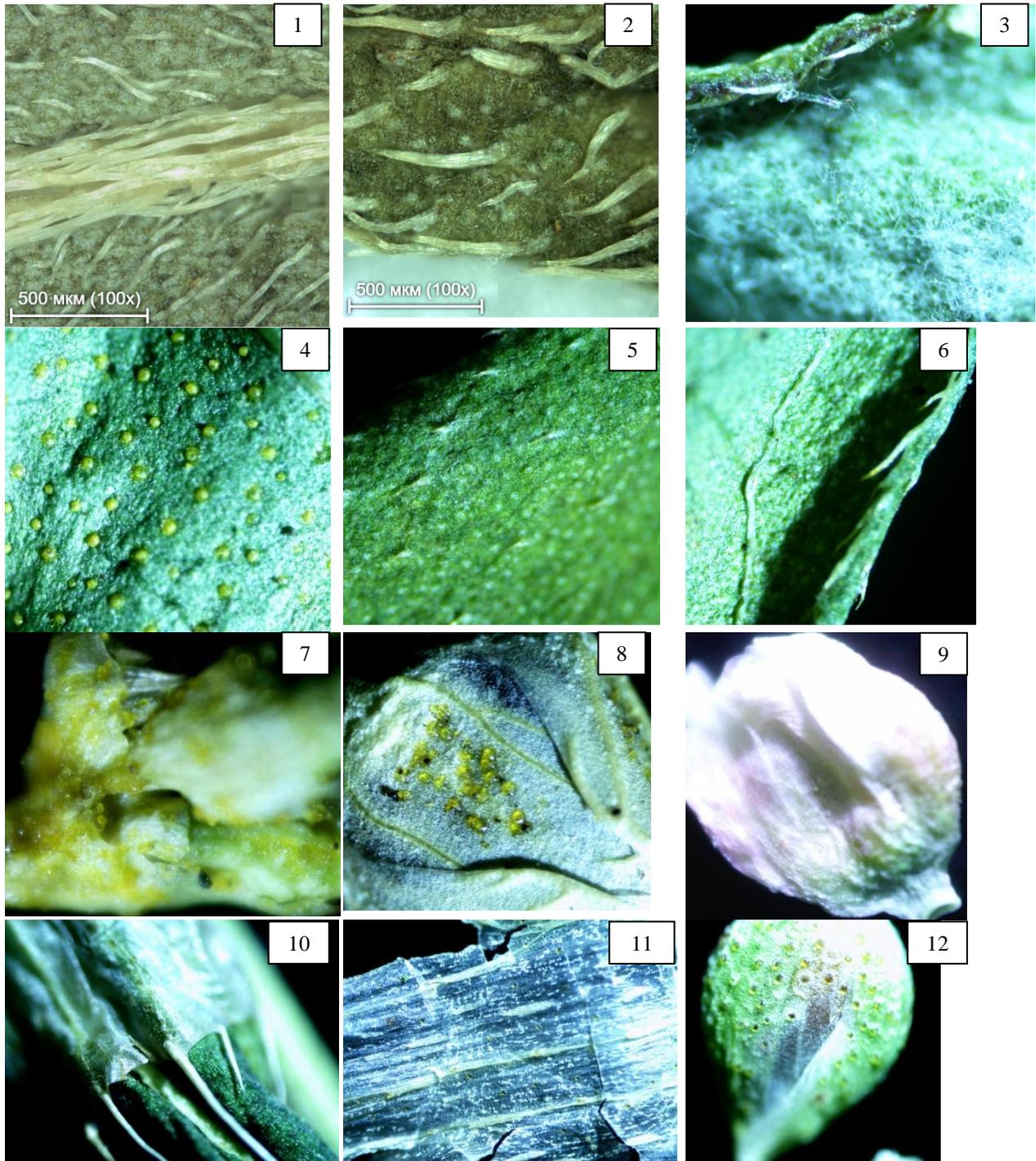


Рисунок 1 - Морфологические особенности видов рода горец: 1 – нижняя сторона, 2 – верхняя сторона листа горца земноводного (наземная форма) (ув. $\times 100$); 3 – нижняя сторона листа горца узловатого (ув. $\times 100$); 4 – верхняя сторона листа горца Бриттингера (ув. $\times 100$); 5 – верхняя сторона, 6 – нижняя сторона листа горца почечуйного (ув. $\times 100$); 7 – цветонос горца войлочного (ув. $\times 100$); 8 – околоцветник горца щавелелистного (ув. $\times 40$); 9 – цветок горца узловатого (ув. $\times 40$); 10, 11 – раструб (ув. $\times 100$), 12 - околоцветник горца перечного (ув. $\times 40$)

Мелкие пучковые волоски и отсутствие железок на поверхности листа, цветоносах и венчике являются признаками горца почечуйного. Идентификационной характеристикой видов ряда *Lapathiiformes* является присутствие в основном на молодых листьях нитевидных волосков, желтоватых железок снизу листа, цветоносах и венчике (исключение – горец узловатый). Главным признаком горца перечного является наличие на всех частях растения желтоватого цвета вместилищ.

Впервые показана возможность использования метода люминесцентной микроскопии для анализа подлинности изучаемых видов (рисунок 2). Абсолютно для всех исследуемых горцев характерно наличие люминесценции пучковых волосков, железок и некоторого содержимого вместилищ и отсутствие свечения пленчатых волосков (как на жилках листа, так и на поверхности раструбов) и друз оксалата кальция. Выявлено, что отличительной особенностью горца Бриттингера является люминесценция вместилищ, расположенных на листьях, железок раструба и цветка. На жилке у основания листа горца почечуйного и на его черешке выявлены вместилища, не визуализируемые при проведении других видов микроскопического анализа. В отличие от остальных видов, на всех морфологических частях горца перечного сильно люминесцируют вместилища и четырехклеточные железки (на листьях) (которые также характерны для горца малого, но имеют менее интенсивное свечение).

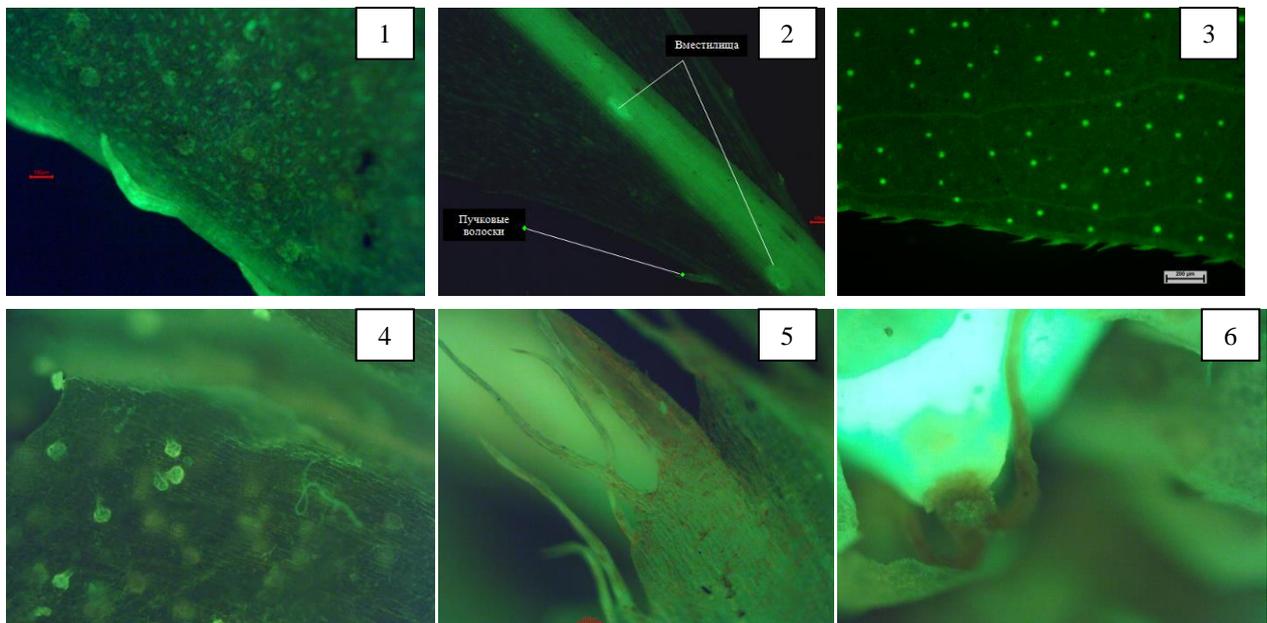


Рисунок 2 - Люминесценция видов рода горец: 1 - фрагмента листа горца шероховатого (ув. $\times 40$); 2 – листа горца почечуйного (ув. $\times 40$); 3 – горца перечного (ув. $\times 40$); 4 – фрагмент раструба горца Бриттингера (ув. $\times 100$); 5 – горца почечуйного (ув. $\times 40$); 6 – фрагмент плода горца войлочного (ув. $\times 100$)

При установлении анатомических характеристик изучаемых видов применяли различные способы пробоподготовки объектов, что позволило выявить максимальное количество диагностических признаков. При проведении анализа свежего сырья было рекомендовано использование спирта этилового 95%, сочетающего процессы обесцвечивания и консервирования объектов. Выявлены маркерные характеристики, определяющие подлинность каждого из 10 видов рода горец (рисунок 3), в частности для **раструба** всех видов горцев характерны пленчатые волоски и друзы оксалата кальция.

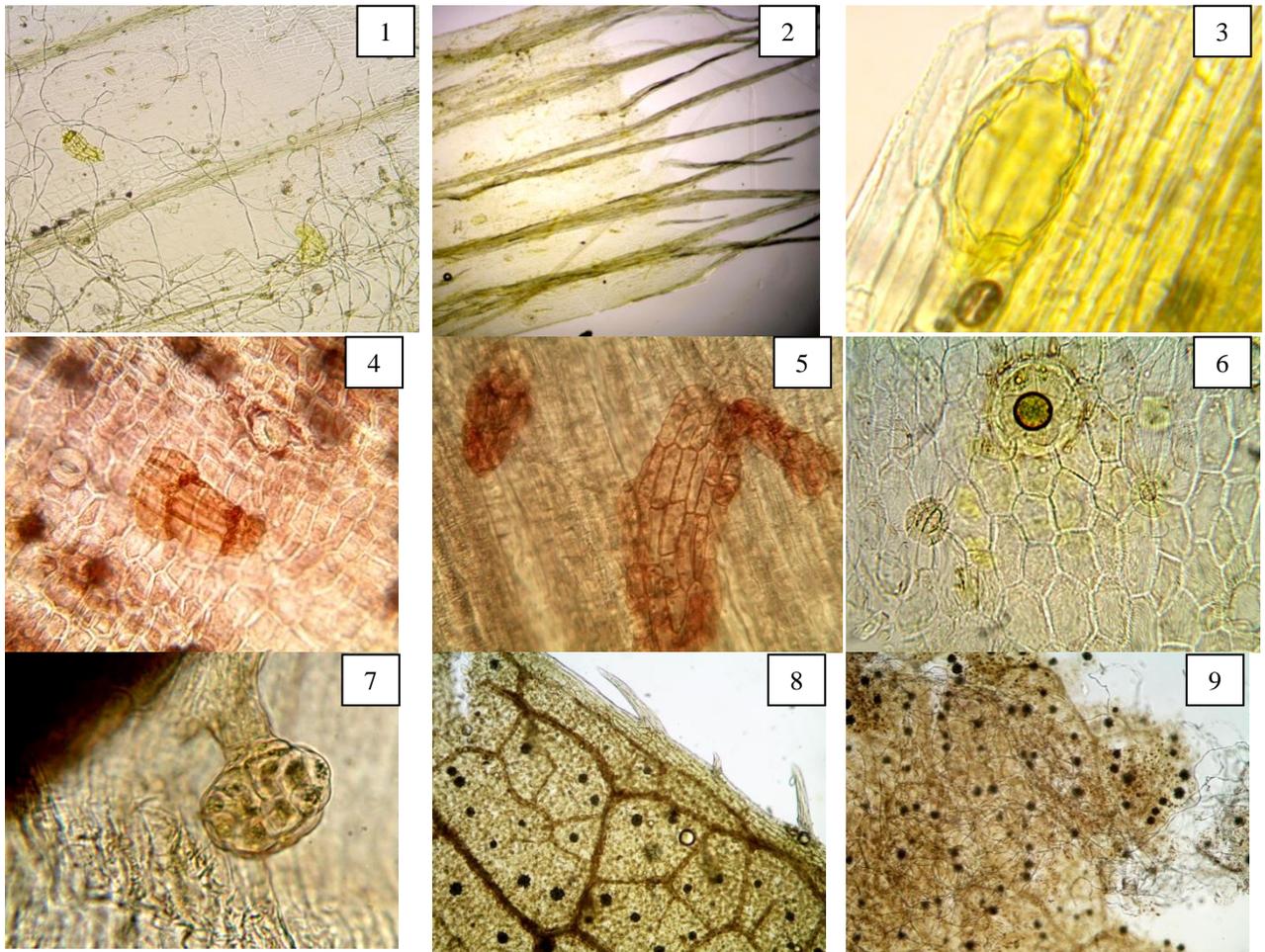


Рисунок 3 - Анатомические признаки видов рода горец: 1 – пленчатые и нитевидные волоски раструба горца войлочного (ув. $\times 100$), 2 – реснитчатые волоски раструба горца малого (ув. $\times 40$), 3 - вместилище на стебле горца щавелелистного (ув. $\times 400$), 4 - пленчатые волоски водной формы горца земноводного (ув. $\times 400$), 5 – пленчатые волоски стебля горца щавелелистного (ув. $\times 400$), 6 – вместилище и железка на околоцветнике горца перечного (ув. $\times 400$), 7 – железка на околоцветнике горца шероховатого (ув. $\times 400$), 8 – фрагмент листа почечуйного (ув. $\times 100$), 9 – фрагмент листа горца узловатого (ув. $\times 100$)

Вместилища встречаются только на раструбах горца перечного; в анатомии **листа** следует отметить наличие железок (5-15 выделительных клеток), крупных, многочисленных друз. У горца малого визуализируются мелкие желтоватые пленчатые волоски; на **стебле** встречаются друзы оксалата кальция вдоль проводящих пучков и пленчатые волоски. Вместилища и железки являются особенностью строения стебля горца земноводного (НФ), перечного, шероховатого, щавелелистного; на **цветках** всех изучаемых видов встречаются друзы оксалата кальция и железки, однако, у горца земноводного (ВФ), почечуйного, узловатого они встречаются очень редко и могут отсутствовать. Крупные вместилища характерны лишь для горца перечного.

Для всех анатомо–диагностических признаков установлены биометрические характеристики.

На примере поперечного среза стебля горца почечуйного (рисунок 4) установлена его первичная структура с кольцом из чередующихся сложных и простых пучков, со временем стебель приобретает вторичную структуру, коллатеральные пучки становятся открытого типа. Все пучки окружены обкладкой из склеренхимы. В клетках коры и сердцевины присутствуют друзы.

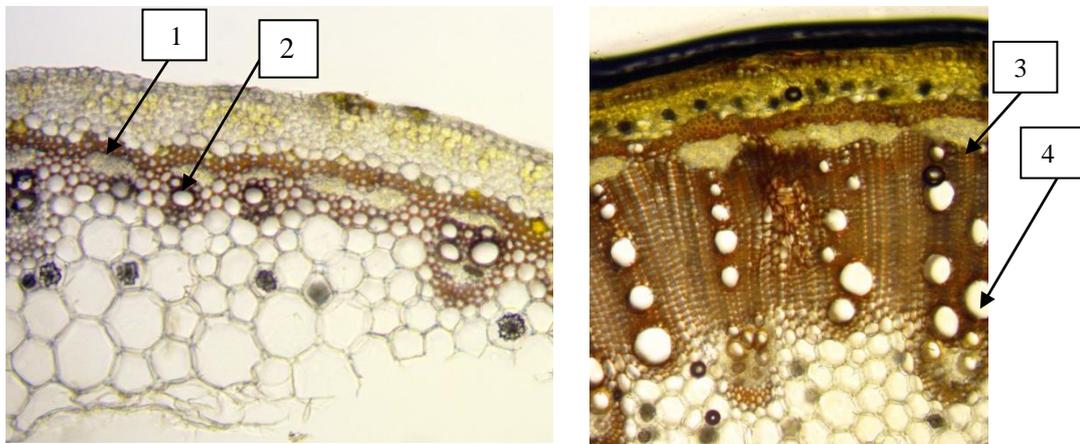


Рисунок 4 - Поперечный разрез стебля горца почечуйного (ув. ×400): 1 – первичная флоэма, 2 – первичная ксилема, 3 – вторичная флоэма, 4 – вторичная ксилема

При изучении вариабильности анатомо-диагностических признаков при измельчении сырья на примере горца почечуйного травы, показано, что наиболее изменениям подвергаются структуры стебля, раструба, фрагменты цветка и плода.

Впервые для идентификации видов предложено применение петиолярной анатомии, позволяющей использовать картину поперечного среза черешка в качестве идентификатора каждого вида горцев, по типу «отпечатков пальцев» (рисунок 5).

Объекты имели существенные различия в форме среза, по количеству проводящих пучков, их расположению, количеству кристаллических включений, наличию аэренхимы.

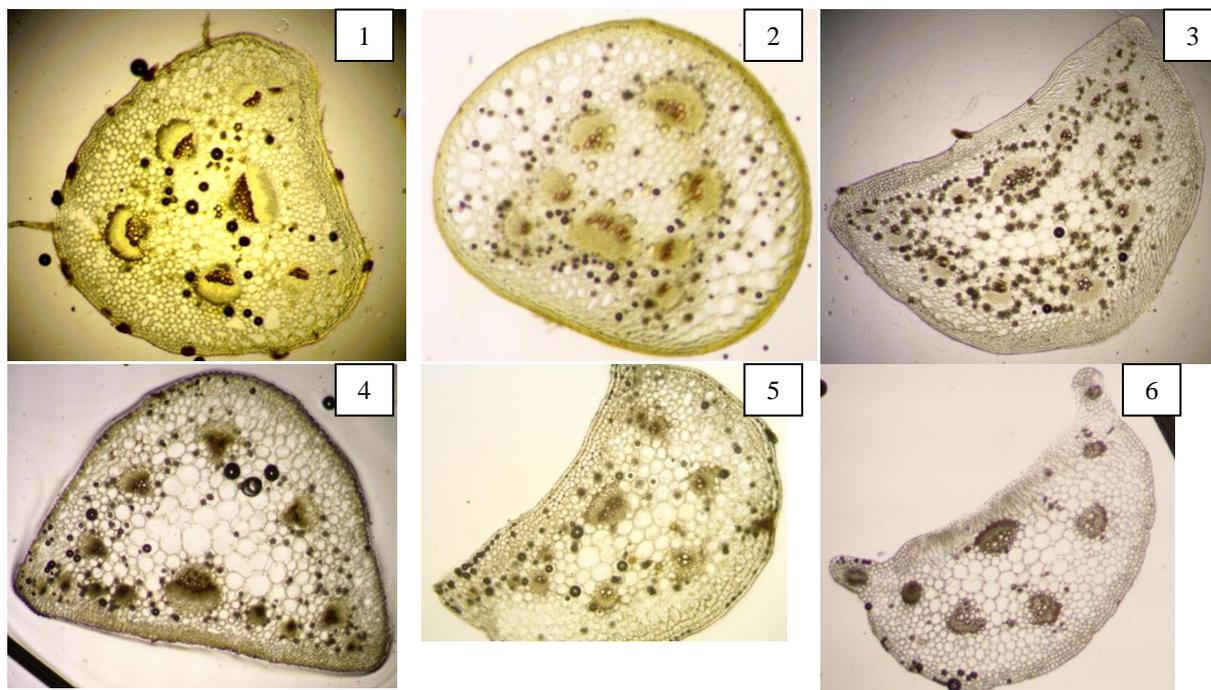


Рисунок 5 - Картина поперечного среза черешка горца земноводного 1 – наземная (ув. ×100), 2 – водная форма (ув. ×40), 3 – горца узловатого (ув. ×40), 4 – горца Бриттингера (ув. ×100), 5 – горца почечуйного (ув. ×100), 6 – горца перечного (ув. ×40)

Впервые для анализа морфологии поверхности листовой пластинки видов рода горец использован метод растровой электронной микроскопии (РЭМ) (рисунок 6). Были дополнены сведения об анатомии листа горца малого, имеющего на поверхности листа крупные многоклеточные железки, а также 4-х клеточные полые образования с утолщенными клеточными стенками, предположительно, места прикрепления железок в виде 4-х клеточной ножки.

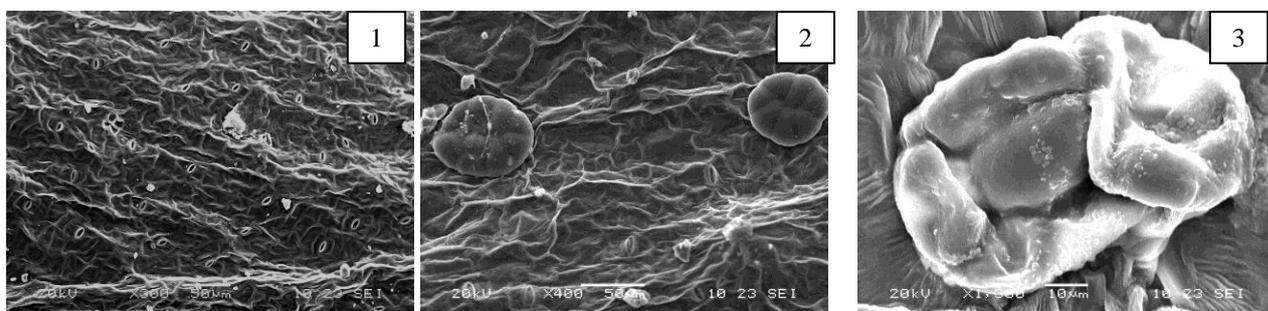


Рисунок 6 - Изучение видов рода горец методом РЭМ: 1 – верхняя сторона листа горца перечного, 2 – верхняя сторона листовой пластинки горца малого, 3 – железка на околоцветнике горца почечуйного

Такие же 4-х клеточные образования встречаются и на листовой пластинке горца перечного. На примере цветка горца почечуйного выявлено, что клетки эпидермиса сильно вытянуты, с продольными извилистыми складками на поверхности, визуализированы пучковые волоски. Уточнено строение железок, они редкие, овальные, многоклеточные, на короткой ножке. На основании проведенного эксперимента предложен дизайн исследования морфолого – анатомических признаков растений рода горец (рисунок 6).

Изучение гидрофильной фракции метаболома видов рода горец

Для определения величины гидрофильных и липофильных компонентов низкомолекулярной части метаболома исследуемых видов был изучен показатель «Экстрактивные вещества» (ЭВ) (таблица 2).

Таблица 2 - Содержание экстрактивных веществ в траве видов рода горец

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

Максимальный выход ЭВ из всех объектов (табл.2) наблюдался при экстракции 40% спиртом этиловым, это связано с преобладанием во всех изучаемых видах суммы гидрофильных соединений.

Таблица 3 – Суммарное содержание групп биологически активных веществ в видах рода горец

Содержание, %	Виды горцев									
	почечуйный	войлочный	щавелелист- ный	узловатый	Бриттингера	щероховатый	перечный	малый	земноводный (НФ.)	земноводный (водн.)
Сумма полисахаридов	4,0 ± ,1	4,0 ± 0,3	5,2 ± 0,5	5,4 ± 0,5	2,5 ± 0,1	7,0 ± 0,8	4,2 ± 0,2	8,6 ± 0,9	4,6 ± 0,2	5,3 ± 0,3
Аскорбиновая кислота	0,17 ±0,01	0,070 ±0,006	0,110 ±0,007	0,080 ±0,004	0,13 ±0,01	0,110 ±0,007	0,15 ±0,01	0,10 ±0,01	0,08 ±0,005	0,11 ±0,01
Сумма органических кислот в пересчете на яблочную	5,60 ±0,20	4,03 ±0,12	5,47 ±0,30	7,18 ±0,40	6,90 ±0,30	5,25 ±0,20	5,16 ±0,20	4,47 ±0,16	5,28 ±0,18	4,73 ±0,11
Сумма аминокислот в пересчете на глутаминовую	1,54 ±0,09	0,95 ±0,04	0,75 ±0,05	2,29 ±0,11	1,19 ±0,04	1,19 ±0,06	1,73 ±0,09	0,85 ±0,05	0,75 ±0,02	0,66 ±0,04
Дубильных веществ в пересчете на танин	28,10 ±0,70	28,90 ±0,82	28,50 ±0,65	30,7 ±1,1	11,8 ±0,1	15,4 ±0,2	12,30 ±0,12	9,50 ±0,04	15,5 ±0,7	33,3 ±1,4
Дубильных веществ, осаждаемых желатином	18,3 ±0,4	13,7 ±0,3	14,7 ±0,6	17,0 ±0,9	7,20 ±0,05	10,30 ±0,08	7,20 ±0,05	4,70 ±0,03	9,60 ±0,04	17,9 ±0,9
Дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту	4,90 ±0,04	7,00 ±0,05	7,70 ±0,07	6,30 ±0,03	5,90 ±0,02	7,60 ±0,05	5,30 ±0,04	3,80 ±0,02	2,30 ±0,01	6,10 ±0,07
Сумма флавоноидов в пересчете на рутин	2,24 ±0,12	2,50 ±0,15	4,36 ±0,24	5,63 ±0,45	4,39 ±0,32	2,16 ±0,10	2,46 ±0,10	1,35 ±0,08	1,72 ±0,03	1,67 ±0,05

Наибольшее содержание ЭВ характерно для горцев шероховатого (47,8%), щавелелистного (36,2%) и узловатого (38,5%).

Проводя предварительную оценку качественного состава БАВ методом ТСХ, в изучаемых видах горцев показаны различия в составе АК, простых сахаров и флавоноидов.

Оценивая количественное содержание основных групп БАВ (таблица 3), установлено, что наибольшее количество суммы полисахаридов характерно для горцев малого (8,6%), аскорбиновой кислоты – в траве горца почечуйного (0,17%) и перечного (0,15%).

Суммарное содержание ОК в пересчете на яблочную, АК в пересчете на глутаминовую и флавоноидов в пересчете на рутин в большем количестве характерно для горца узловатого (7,18%, 2,29% и 5,63% соответственно) (таблица 3).

Наибольшее количество дубильных веществ, в пересчете на танин выявлено у горцев узловатого, войлочного, щавелелистного и почечуйного (30,7%, 28,9%, 28,5% и 28,1% соответственно). Установлено, что суммарное содержание БАВ в горце малом в 2 раза ниже, чем в горце перечном (искл. полисахариды). Две формы горца земноводного имеют сходные количества БАВ в составе, за исключением суммы дубильных веществ, содержание которой в водной форме в 2 раза выше, чем в наземной (таблица 3).

На примере травы горца почечуйного методом ВЭЖХ–ДМД-МС установлено содержание ГкК (2,01 мкг/г), среди которых идентифицированы хлорогеновая и криптохлорогеновая.

Количественное содержание фенольных соединений в горце почечуйном и примесных к нему видах (представители ряда *Lapathiiformes*) сходно.

Углубленное изучение качественного состава и оценку количественного содержания свободных сахаров, свободных органических кислот и полный состав аминокислот проводили методом капиллярного электрофореза (КЭ).

По содержанию простых сахаров, виды можно расположить в следующем порядке (по убыванию) (таблица 4): горец перечный (0,83%) → горец малый → горец земноводный (НФ) → горец щавелелистный → горец почечуйный → горец земноводный (ВФ) (0,014%). Изучаемые виды различались по количественному содержанию отдельных сахаров, однако, доминирующим по количеству сахаром во всех объектах являлась фруктоза.

Таблица 4 - Содержание простых сахаров в изучаемых видах горцев

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

Наиболее высокое содержание ОК, определенное методом КЭ, установлено для горца перечного (13,4%) и горца земноводного (10,7%) (НФ). Самое низкое количество ОК характерно для горца войлочного (2,6%) (таблица 5). К наиболее распространенным ОК в траве изучаемых горцев относятся муравьиная и щавелевая кислоты. Наибольшее количество муравьиной кислоты (6,69%) установлено в горце земноводном (НФ), на одном уровне муравьиная кислота содержалась в горцах перечном и малом (4,71 и 4,41% соответственно), наименьшее количество наблюдалось в горце щавелелистном (2,84%). Щавелевая кислота превалирует в горце перечном. Выявлено, что янтарная кислота может являться маркерным компонентом для горца земноводного (ВФ).

Таблица 5 - Содержание органических кислот в видах рода горец

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

Методом КЭ изучен полный состав АК, во всех объектах показано присутствие 17 аминокислот (таблица 6), 7 из которых являются незаменимыми. Для каждого объекта выявлены преобладающие АК. Суммарное содержание АК наиболее высокое в траве горца щавелелистного (9,33%) и горца почечуйного (8,37%). При этом, доля незаменимых АК в их сумме выше в горце войлочном (44%) и горце малом (41,3%), а заменимых АК - в горце почечуйном (73,7%). Впервые установлена схожесть состава АК горца почечуйного и горца щавелелистного.

Таблица 6 - Содержание аминокислот в видах рода горец

Наименование показателя	Содержание аминокислот в горцах, %						
	1	2	3	4	5	6	7
Аланин (Ala)	0,65	0,42	0,68	0,47	0,49	0,43	0,38
Валин* (Val)	0,49	0,29	0,47	0,33	0,32	0,32	0,27
Лейцин+изолейцин* (Leu+Ile)	0,88	0,62	0,95	0,73	0,63	0,69	0,59
Метионин* (MeU)	0,12	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,10
Серин (Ser)	0,42	0,22	0,39	0,31	0,27	0,28	0,26
Тирозин (Tyr)	0,28	0,21	0,28	0,17	0,15	0,19	0,16
Треонин* (Thr)	0,68	0,41	0,62	0,48	0,45	0,45	0,39
Фенилаланин* (Phe)	0,72	0,37	0,61	0,42	0,40	0,40	0,27
Цистеин (Cys)	0,09	0,05	0,08	0,06	0,05	0,06	0,04
Глутаминовая кислота (Glu)	1,79	0,82	1,25	0,80	0,68	0,78	0,63
Аспарагиновая кислота (Asp)	0,69	0,40	0,67	0,45	0,50	0,43	0,38
Аргинин (Arg)	0,58	0,35	0,51	0,52	0,23	0,50	0,20
Лизин* (Lys)	0,56	0,35	0,53	0,34	0,32	0,36	0,30
Пролин (Pro)	0,52	0,33	0,54	0,42	0,42	0,41	0,39
Гистидин (His)	0,40	0,21	0,25	0,18	0,23	0,17	0,17
Глицин (Gly)	0,46	0,25	0,47	0,37	0,35	0,33	0,24
Суммарное содержание аминокислот, %	9,33	5,37	8,37	6,12	5,57	5,88	4,77
Содержание незаменимых аминокислот, %	3,45	2,37	2,2	2,11	2,3	2,3	1,92
Содержание заменимых аминокислот, %	5,88	3,75	3,37	3,26	3,58	3,58	2,85

*1 – щавелелистный, 2 – войлочный, 3 – почечуйный, 4- перечный, 5 – малый, 6 – земноводный (НФ), 7 – земноводный (ВФ)

Принимая во внимание, что главной группой соединений растений рода горец являются флавоноиды, следующий этап работы посвящен их изучению. Одним из обязательных требований современной НД на ЛРС является определение основных групп БАВ с помощью ТСХ (таблица 7). Исследуемые объекты различались не только по количеству зон, но и по цвету свечения в УФ-свете. На треках было обнаружено от 3 до 9 соединений флавоноидной природы, среди которых с помощью стандартных

образцов идентифицированы рутин ($R_f - 0,55$), кверцетин ($R_f - 0,81$) и кемпферол ($R_f - 0,88$), также на пластинках присутствовали неидентифицированные зоны веществ.

Таблица 7 - Величины R_f зон флавоноидов видов рода горец

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

Далее были адаптированы и валидированы две спектрофотометрические методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного и траве горца щавелелистного (таблица 8). Относительная ошибка определения составила $\pm 4,12\%$ и $\pm 5,00\%$ соответственно (таблица 9).

Таблица 8 – Условия количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного и траве горца щавелелистного

Вид горца	Размер частиц сырья	Соотношение сырье - экстрагент	Время экстракции	Кратность экстракции	Время созревания окраски	Стабильность комплекса
Почечуйный	1 мм	1:50	60 мин	1	40 мин	10 мин
Щавелелистный	1 мм	1:30	30 мин	3	35 мин	10 мин

Таблица 9 - Валидационные характеристики методик количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Параметр	Горца почечуйного трава	Горца щавелелистного трава	Горца почечуйного трава свежая
Специфичность	+	+	+
Линейность	$y=0,6109x-0,1262$ $R^2=0,9919$	$y=0,4255x+0,0046$ $R^2=0,9913$	$y=0,0812x+0,0219$ $R^2=0,993$
Правильность, %	$R=99,8$	$R=99,6$	$R=99,39$
Сходимость, %	$SD=2,5$; $RSD=1,60$	$SD=1,14$; $RSD=2,11$	$SD=1,06$; $RSD=3,73$
Средняя ошибка определения, %	$\varepsilon_{cp}=4,12$	$\varepsilon_{cp}=5,0$	$\varepsilon_{cp}=5,10$

Используя адаптированные методики, установлено, что наибольшее содержание флавоноидов характерно для видов ряда *Lapathiiformes* - горца узловатого (5,63%), горца Бриттингера (4,39%) и горца щавелелистного (4,36%). Горец почечуйный, горец перечный, горец войлочный, горец шероховатый содержат близкое количество суммы флавоноидов в пересчете на рутин – от 2,10% до 2,50%.

Методом ВЭЖХ-ДМД-МС в траве изучаемых видов горцев показано присутствие более 45 различных соединений флавоноидной природы и установлено их количественное содержание (таблица 10).

Таблица 10 - Содержание флавоноидов в траве изучаемых видов рода горец

№	Флавоноиды	Содержание, мг/г						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Мирицетин-3-вицианозид	0,07	--	--	--	--	--	--
2	Кверцетин-3-вицианозид	1,54	--	--	--	--	--	--
3	Кемпферол-3-вицианозид	0,97	--	--	--	--	--	--
4	Апигенин-7-глюкозид	0,10	--	--	--	--	--	--
5	Апигенин + пентоза + гексоза (С-гликозид)	0,13	--	--	--	--	--	--
6	Лютеолин + глюкоза + глюкуроновая кислота (С-гликозид)	0,16	--	--	--	--	--	--
7	Мирицетин-глюкуронид	--	--	--	--	--	0,58	--
8	Мирицетин-3-галактозид	--	--	--	следы	0,07	0,16	0,61
9	Кверцетин-самбубиозид	--	--	0,82	--	--	--	--
10	Кверцетин-глюкуронид	--	--	--	0,10	0,09	2,98	1,64
11	Мирицетин-3-глюкуронид	--	0,18	--	0,13	0,24		--
12	Производное кверцетина	--	--	--	2,54	1,71	--	--
13	Рутин	0,27	--	0,07	--	--	--	--
14	Производное кверцетина	--	--	--	1,72	0,66	--	--
15	Витексин	--	--	0,03	--	--	--	--
16	Кемпферол-глюкуронид	--	--	--	--	--	0,62	--
17	Производное мирицетина	--	--	--	--	--	0,08	1,46
18	Кверцетин-3-сульфат	--	0,62	--	--	--	--	--
19	Гиперозид	0,35	0,83	--	0,95	1,57	0,95	1,96
20	Изокверцитрин	0,36	--	0,57	7,70	-	--	--
21	Кверцетин-3-глюкуронид	--	3,30	--	--	10,94	2,07	3,59
22	Производное кверцетина	--	--	--	--	3,42	--	--
23	Кверцетин-малонил-галактозид/глюкозид	--	--	--	0,15	0,29	--	--
24	Кемпферол-3-галактозид	--	--	0,08	1,18	1,11	--	--
25	Кверцетин-рамнозид	--	--	1,09	--	--	--	--
26	Кверцетин-арабинозид	--	0,53	--	--	--	--	--
27	Астрагалин	--	0,15	0,18	2,57	2,79	0,04	--
28	Кемпферол-3-глюкуронид	--	0,09	--	--	--	0,19	0,29
29	Производное кемпферола	--	--	--	0,80	1,39	--	--
30	Кверцитрин	0,50	--	--	--	--	0,13	1,32

31	Изорамнетин-3-сульфат	--	3,10	--	--	--	--	--
32	Изорамнетин-3-гликозид	--		--	--	--	--	--
33	Изорамнетин-3-гликуронид	--		--	--	--	--	--
34	Производное кемпферола	--	--	--	1,37	1,61	--	--
35	Кемпферол-рамнозид	--	--	0,07	--	-	--	--
36	Производное кемпферола	--	--	--	0,60	0,89	--	--
37	Мирицетин	--	--	--	--	--	0,03	0,05
38	Ацилированное производное кемпферола	--	--	--	0,31	0,40	--	--
39	Ацилированное производное кемпферола	--	--	--	0,27	0,43	--	--
40	Изорамнетин-сульфат	--	0,39	--	--	--	--	--
41	Кемпферид-3-сульфат	--	0,47	--	--	--	--	--
42	Изомеры рамназин-сульфата	--	6,85	--	--	--	--	--
43	Лютеолин	0,17	--	0,06	--	--	--	--
44	Кверцетин	--	0,21	0,05	0,06	0,25	--	0,12
45	Кемпферол	--	--	--	--	0,10	--	--
	Сумма неидентифицированных соединений	7,43	0,01	8,27	2,40	3,41	0,43	0,11
Сумма флавоноидов		12,05	16,73	11,29	25,61	31,37	8,26	11,15

*1 – горец почечуйный, 2- горец перечный, 3- горец малый, 4 – горец войлочный, 5 – горец щавелелистный, 6 – горец земноводный (НФ), 7 – горец земноводный (ВФ)

Выявлены маркерные компоненты, характерные для каждого конкретного вида. В траве горца почечуйного маркерными являются вицианозиды мирицетина, кверцетина и кемпферола, не проявившиеся на хроматограммах других видов, для горца перечного это гликозиды изорамнетина и сульфированные производные – изомеры рамназин – сульфата, кемпферола – 3 сульфат, изорамнетина сульфат, уникальность горца малого заключается в наличии кверцетина самбубиозида, кемпферола и кверцетина рамнозидов и витексина (С-гликозид). Растения ряда *Lapathiiiformes* имеют сходный состав флавоноидов, представленный производными кверцетина и кемпферола. Ацилированные производные кверцетина и кемпферола характерны для травы горца щавелелистного. Уникальной особенностью наземной формы горца земноводного является наличие глюкуроновых производных мирицетина и кемпферола. Обе формы горца земноводного содержат мирицетин, отличием водной формы от наземной является отсутствие в составе кверцетина. Наибольшее содержание флавоноидов, установленное методом ВЭЖХ – ДМД – МС, характерно для травы горцев щавелелистного и войлочного (31,37 мг/г и 25,61 мг/г соответственно), что почти в 3 раза выше, чем в горце почечуйном (12,05 мг/г) и почти в 2 раза больше, чем в горце перечном (16,37 мг/г).

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

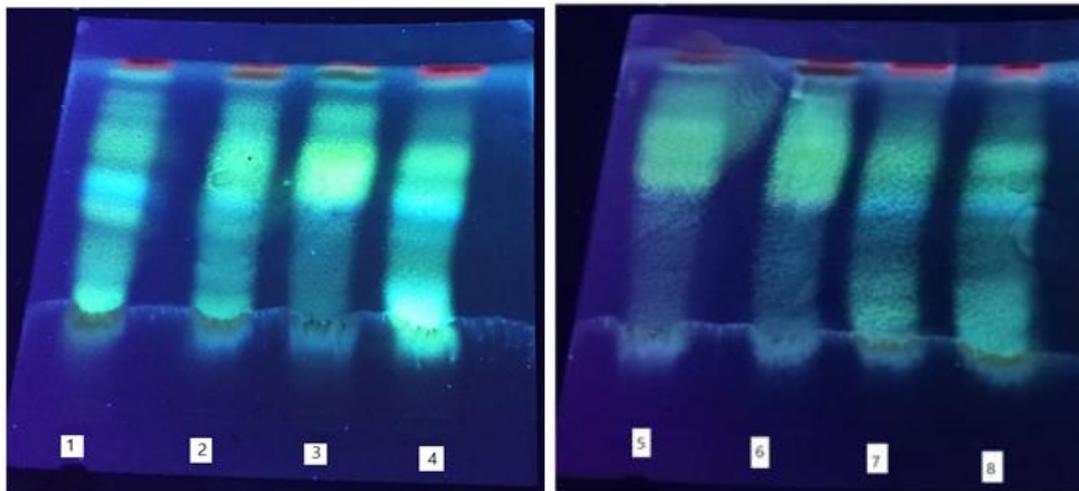


Рисунок 7 - Хроматографическая картина зон флавоноидов травы горца почечуйного различных мест заготовки: 1 – п.г.т. Усмань; 2 – г. Кисловодск; 3 – пос. Головинка; 4 – г. Севастополь; 5 – г. Острогжск; 6 – г. Тамбов; 7 – п.г.т. Панино; 8 – г. Геленджик

Методом ТСХ на примере горца почечуйного травы выявлен компонент с величиной R_f $0,71 \pm 0,02$, присутствующий у растений, не зависимо от места произрастания. Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин варьировало от $0,92 \pm 0,005\%$ до $4,40 \pm 0,03\%$.

На примере горца почечуйного травы выявлено влияние процесса высушивания на количество БАВ, а также установлены нормы качества для горца почечуйного травы свежей, перспективной для получения гомеопатических средств (таблица 11). Максимальное количество ЭВ извлекается и в свежей и в высушенной траве водой и спиртом этиловым в концентрации 20% и 40%. Однако, содержание ЭВ, ДВ и АсК в высушенной траве выше, чем в свежей. Количество суммы флавоноидов в пересчете на рутин незначительно, а суммы свободных полисахаридов почти в три раза выше в свежезаготовленной траве.

Исследование минерального состава проводили методом ХМС с индуктивно связанной плазмой, в результате чего в видах рода *Persicaria* Mill. было идентифицировано 56 элементов (таблица 12).

При изучении накопления наиболее важных для человека элементов выявлено, что наибольшее количество К (2,9%) и Mg (1,09%) содержит горец малый, Ca в большей степени накапливается в надземных частях горца войлочного (2,08%). При расчете коэффициента биологического накопления, выявлено, что для всех видов наибольшая аккумуляция характерна для Mg, P, K, Ca, Zn, Sr, Ba, Mn.

Таблица 11 - Числовые показатели горца почечуйного травы высушенной и свежей (n=5, p-0,95)

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

Таблица 12 - Содержание основных элементов в видах рода горец

Элемент	Содержание, %			
	Горец войлочный	Горец малый	Горец почечуйный	Горец перечный
Калий (K)	1,404	2,963	2,435	1,703
Натрия (Na)	0,131	0,161	0,176	0,314
Магний (Mg)	0,979	1,098	0,569	0,916
Кальций (Ca)	2,084	1,395	0,824	0,154
Фосфор (P)	0,530	0,581	0,631	0,500
Железо (Fe)	0,023	0,024	0,018	0,025
Медь (Cu)	$8 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-5}$	$7,8 \cdot 10^{-5}$	$7,2 \cdot 10^{-4}$
Цинк (Zn)	0,011	0,012	0,003	0,003
Марганец (Mn)	0,037	0,038	0,017	0,065
Кобальт (Co)	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,6 \cdot 10^{-5}$	$3,5 \cdot 10^{-5}$	$9,4 \cdot 10^{-5}$
Никель (Ni)	$8,2 \cdot 10^{-5}$	$9,0 \cdot 10^{-5}$	$5,1 \cdot 10^{-5}$	$3,8 \cdot 10^{-5}$
Хром (Cr)	$1,79 \cdot 10^{-4}$	$2,2 \cdot 10^{-4}$	$4,4 \cdot 10^{-4}$	$3,5 \cdot 10^{-4}$

Методом РЭМ установлено наибольший процент в составе элементов имеет углерод и кислород, что объяснимо органической природой изучаемых образцов.

Ведущим элементом в выделенной области листа горца почечуйного является калий, горца малого - магний и кальций, горца перечного – кальций (таблица 13).

Таблица 13 - Содержание элементов в растениях рода горец, установленное РЭМ

Элемент	Содержание элементов в траве горцев, %											
	почечуйном		войлочном		земноводном		земноводном (НФ)		малом		перечном	
	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.	Вес.	Атом.
С	33,8	42,8	46,4	55,0	46,2	54,6	48,4	57,2	29,9	38,6	16,5	22,2
О	54,6	51,9	47,2	42,0	48,8	43,3	45,1	40,0	57,1	55,3	72,1	72,7
Mg	2,7	1,7	2,8	1,6	1,2	0,7	1,9	1,1	3,9	2,5	1,7	1,2
К	7,7	3,0	2,5	0,9	2,3	0,8	3,3	1,2	5,8	2,3	5,8	2,4
Ca	1,1	0,4	1,2	0,4	1,5	0,5	1,2	0,4	3,2	1,2	3,7	1,5

Подобраны оптимальные условия и разработана методика количественного определения содержания кальция и магния в растительных объектах с помощью комплексометрического титрования после их озоления и прокаливания (патент №2605855 от 28.01.15). Установлена валидность разработанной методики (таблица 14, 15).

Таблица 14 - Условия количественного определения кальция и магния в растительном сырье

Этап работы	Ca ²⁺	Mg ²⁺
Озоление	2 часа при t=500°, до постоянной массы	
Очистка от сопутствующих соединений	Растворение в 10% HCl	
Очистка от ионов Mg ²⁺	Доведение раствором натрия гидроксида 30% до сильно щелочного рН и отфильтровывание осадка	
Оптимизация рН	рН = 11-12	рН = 8-9
Индикатор	Эриохром темно-синий	Пирокатехиновый фиолетовый
Титрование	Титрование 0,05 М Трилоном Б	
Переход окраски индикатора	От розовато-сиреневой до фиолетово-синей	От сине-зеленой в темно-вишневую

Таблица 15 - Валидационные характеристики методики количественного определения кальция и магния в траве горца почечуйного

Характеристика	Значение для Ca ²⁺	Значения для Mg ²⁺
Специфичность	+	+
Правильность	R= 98,3 %	R=99,05 %
Сходимость	SD=3,70%, RSD= 2,38%	SD=0,31%, RSD 2,32%
Линейность	y=0,0801x+0,0005; R ² =0,9925	y=0,0313x - 0,0039; R ² =0,9980
Средняя ошибка определения	ε _{ср} =1,60%	ε _{ср} =1,84%

Методика апробирована на 10 видах рода горец в ходе сравнительного изучения содержания в них кальция и магния. Больше всего кальция обнаружено в траве горца почечуйного, а наименьшее содержание (в три раза) - в траве горца щавелистного.

Большее количество магния характерно для травы горца малого, почечуйного и узловатого (таблица 16).

Таблица 16 - Содержание кальция и магния в золе и лекарственном растительном сырье на примере рода горец

Объект исследования	Содержание кальция, %		Содержание магния, %	
	в золе	в растении	в золе	в растении
Горец почечуйный	4,78±0,20	0,76±0,05	0,20±0,02	0,030±0,005
Горец щавелелистный	3,78±0,10	0,23±0,01	0,19±0,01	0,010±0,005
Горец шероховатый	3,57±0,20	0,38±0,02	0,18±0,01	0,020±0,005
Горец Бриттингера	2,69±0,20	0,36±0,02	0,15±0,01	0,020±0,005
Горец узловатый	1,82±0,10	0,25±0,02	0,20±0,01	0,030±0,005
Горец войлочный	5,12±0,30	0,51±0,03	0,14±0,01	0,010±0,005
Горец земноводный (НФ)	4,00±0,20	0,33±0,02	0,19±0,01	0,020±0,005
Горец земноводный (ВФ)	3,16±0,10	0,32±0,02	0,21±0,01	0,020±0,005
Горец перечный	4,86±0,20	0,36±0,02	0,16±0,01	0,010±0,005
Горец малый	4,01±0,20	0,58±0,03	0,28±0,02	0,040±0,005

**Изучение показателей безопасности видов рода горец
(на примере горца почечуйного)**

Необходимость анализа безопасности использования изучаемых видов в медицинской практике продиктована тем, что они являются сорняками и широко распространены по всей территории России, в т.ч. на неблагоприятных для заготовки территориях. В результате исследования, установлено, что содержание экотоксикантов в сырье находилось на допустимом НД уровне (таблица 17).

Таблица 17 - Содержание экотоксикантов в горца почечуйного траве

Определяемые показатели	Горца почечуйного трава	Почва с места произрастания	Нормы содержания по НД (не более ...)
Пестициды, мг/кг			
ДДТ и его метаболиты	менее 0,007	менее 0,007	0,10
ГХЦГ (α, β, γ-изомеры)	менее 0,001	менее 0,001	0,10
Радионуклиды, Бк/кг			
Цезий-137	менее 0,001	менее 0,001	400,00
Стронций-90	менее 0,001	менее 0,001	200,00
Токсичные элементы, мг/кг			
Свинец	0,2000±0,010	8,650±1,810	6,00
Кадмий	0,0400±0,008	0,110±0,020	1,00
Ртуть	0,0052±1·10 ⁻⁴	0,014±0,004	0,10
Мышьяк	0,1620±0,020	1,960±0,37	0,50

В результате определения микробиологической чистоты выявлено, что изучаемый объект соответствует требованиям ОФС ГФ РФ XIV изд. «Микробиологическая чистота», (категория 4А «Лекарственные растительные препараты и лекарственное растительное сырье, применяемые в виде настоев и отваров, приготовленных с использованием кипящей воды») и может быть использован в официальной медицине для получения лекарственных форм (таблица 18).

Таблица 18 - Результаты определения микробиологической чистоты травы горца почечуйного

Определяемые микроорганизмы	Содержание в траве горца почечуйного	Требования НД		
		ГФ РФ		СанПиН 2.3.2.1078-01
		категория 4А	категория 3Б	
КМАиФАМ, КОЕ/г	$7 \cdot 10^3$	Не более 10^7	не более 10^4	$5 \cdot 10^5$
БГКП (коли-формы) в 0,01 г КОЕ/г	Не обнаружены	Не более 10^2	Отсутствие <i>Escherichia coli</i> в 1 г	Отсутствие в 0,01 г
<i>S. aureus</i> в 0,1 г	Не обнаружены	---	Отсутствие в 1 г	---
Патогенные (в т.ч. сальмонеллы) в 25 г	Не обнаружены	---	Отсутствие <i>Salmonella spp.</i> в 10 г	Отсутствие в 10 г
Дрожжи, КОЕ/г	115	Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^5	Общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 10^2	100
Плесени, КОЕ/г	30			10^3

В ходе микроскопического анализа травы горца почечуйного, была выявлена зараженность сырья плесневыми грибами класса дейтеромицетов. Установлено, что контаминация сырья происходит на месте произрастания растения до момента его заготовки (таблица 8). Результаты определения содержания микотоксинов в траве горца почечуйного свидетельствуют о ее соответствии требованиям НД (таблица 19).

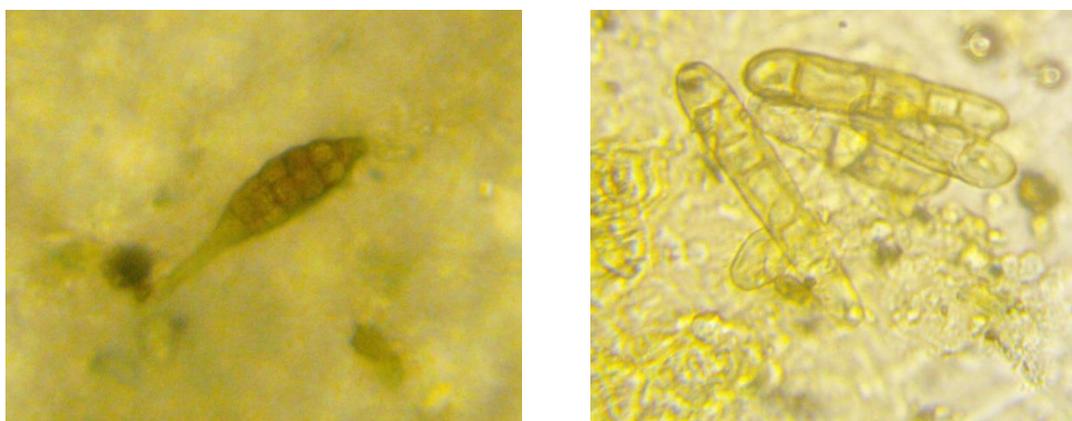


Рисунок 8 - Конидии альтернарии и гелиминтоспория на раструбе горца почечуйного (ув. $\times 400$)

Таблица 19 - Содержание микотоксинов в траве горца почечуйного

Наименование микотоксина	Результаты анализа, мг/кг	Допустимые нормы, не более ... мг/кг
Афлатоксин В ₁	Менее 0,002	0,005
Охратоксин А	Менее 0,005	0,005
Т-2	Менее 0,02	0,1
Зеараленон	Менее 0,02	0,2
ДОН	Менее 0,222	0,7

Доклинические исследования по изучению фармакологической активности жидких экстрактов горца почечуйного и горца щавелелистного травы

Методом компьютерного моделирования *in silico* для БАВ фенольной группы, содержащихся в изучаемых горцах, предположено наличие следующих видов активности: агонисты целостности мембран (искл. рутин и хлорогеновая кислота), ингибиторы проницаемости мембран (искл. астрагалин и рутин), агонисты апоптоза (искл. рутин и эллаготанины), антигеморрагические средства (искл. кверцетрин, лютеолин, танины и хлорогеновая кислота), антиоксиданты (искл. лютеолин, эллаготанины), вазопротекторы (искл. кверцетрин, танины), кардиопротекторы (искл. кверцетрин, апигенин, лютеолин, танины, хлорогеновая кислота), противоопухолевые (искл. лютеолин), гемостатический и гепатопротекторный эффекты (гиперозид, кверцетрин, витексин, изорамнетин, астрагалин, рутин), капилляропротекторы (гиперозид, витексин и изорамнетин, астрагалин, рутин); вяжущий эффект (мирицитин) (рисунок 9).

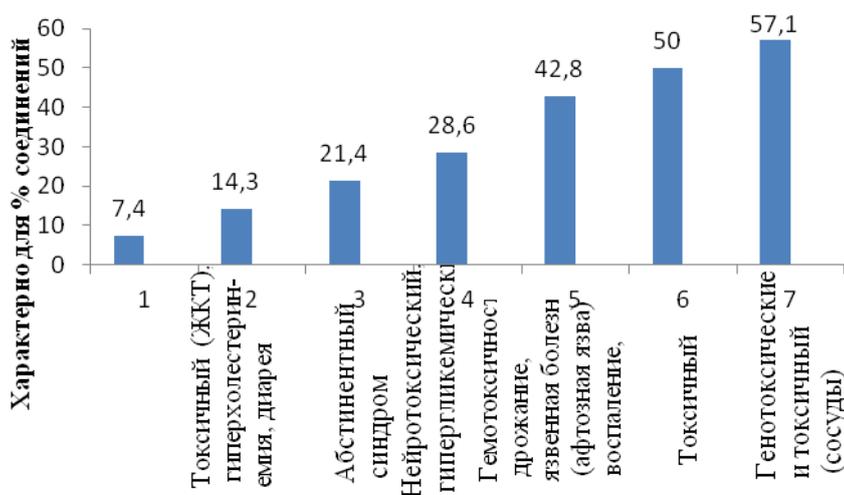


Рисунок 9 - Побочные и токсические эффекты фенольных соединений видов горцев

Галлотанины участвуют в регуляции кальциевого обмена, а также фибринолитический, иммунодепрессивный эффекты. Антагонисты холестерина – хлорогеновая кислота и галлотанины; антисептический эффект - лютеолин; антипротозойный и противогрибковый - рутин. Выявлены возможные токсические и побочные эффекты (рисунок 9).

Для проведения доклинических исследований на животных (белых аутбрендных мышах–самцах), были выбраны гемостатическая и капилляропротекторная активности. Для этого были получены жидкие экстракты (1:1) из горца почечуйного травы (ЖЭ ГП) и горца щавелелистного травы (ЖЭ ГЩ), которые отвечали требованиям ГФ РФ (таблица 20).

Таблица 20 - Характеристика жидких экстрактов (1:1) горца почечуйного и горца щавелелистного травы

Показатель	ЖЭ ГП	ЖЭ ГЩ
Прозрачность	Слегка опалесцирующая жидкость	
Цвет	Зеленовато - коричневый	Зеленоватый
Запах	Специфический	
Вкус	Горьковатый	
Содержание спирта, %	66	65
Сухой остаток, %	6,8	11,2
Тяжелые металлы	Отсутствуют	
Содержание суммы флавоноидов %	0,98±0,055	1,60±0,024

Установлено, что в жидком экстракте травы горца щавелелистного (ЖЭ ГЩ) сухой остаток (11,2%) и содержание суммы флавоноидов (16 мг/мл) почти в два раза выше, чем в жидком экстракте травы горца почечуйного (ЖЭ ГП) (6,8% и 9,8 мг/мл соответственно).

ЖЭ ГП при краткосрочном курсовом применении (3 дня, перорально, 50 мг/кг) в тесте остановки кровотечения не оказывал существенного влияния на кровопотерю и незначительно (на 17,4%) снижал время остановки кровотечения, что свидетельствует о наличии кровоостанавливающей активности слабой степени выраженности (таблица 21). Препаратом сравнения служил «Жидкий экстракт горца перечного травы» (ЖЭ ГПер) заводского производства (ООО Камелия НПП, сер.010119).

Таблица 21 - Сравнительная характеристика кровоостанавливающей активности ЖЭ ГП, ЖЭ ГЩ и ЖЭ ГПер

Группа	Время остановки кровотечения, мин.	Кровопотеря, г
Контроль	5,97±0,738	0,004±0,001
ЖЭ ГПер	9,18±1,293	0,010±0,001
разница с контролем, %	+53,8	+39,1
ЖЭ ГП	4,93±0,775	0,050±0,040
разница с контролем, %	-17,4	-
ЖЭ ГЩ	7,08±1,029	0,004±0,001
разница с контролем, %	+18,6	-

ЖЭ ГП и ЖЭ ГЩ на модели ксилоловых петехий при краткосрочном курсовом применении (3 дня, перорально, 50 мг/кг) значительно увеличивали время появления окрашивания (не менее чем на 80%) и время отчетливого окрашивания (не менее чем на 35%), что свидетельствует о наличии достаточно выраженной капилляропротекторной активности, превосходящей на данной модели эффективность ЖЭ ГПер (таблица 22).

Таблица 22 - Сравнительная характеристика капилляропротекторной активности ЖЭ ГП, ЖЭ ГЩ и ЖЭ ГПер

Группа животных	Время появления окрашивания, мин.	Время отчетливого окрашивания, мин.	Количество животных без признаков отчетливого окрашивания в течение 15 мин., %
Контроль	2,91±1,081	4,09±2,579	20,0
ЖЭГПер	2,73±0,908	12,72±1,004	20,0
разница с контролем, %	-6,3	+30,7	0
ЖЭГП	5,35±0,00	13,84±1,158	80,0
разница с контролем, %	+83,3	+42,2	+60,0
ЖЭГЩ	6,47±1,334*	13,23±1,101	0
разница с контролем, %	+122,3 +2,22 раза	+35,9	-20,0

*Примечание: * - P<0,05 – достоверность различий в опытных группах по сравнению с контролем*

На основании проведенных исследований сформулирован научно-методический подход к внедрению близкородственных видов растений в медицинскую практику (на примере рода горец) (рисунок 11).

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Информационно – аналитический обзор показал фрагментарность изучения метаболома представителей рода горец и отсутствие системного подхода к их идентификации. Выявлена необходимость совершенствования НД, регламентирующей заготовительный процесс и оценку качества официального растительного сырья и фитопрепаратов на его основе.

2. В результате анатомо-морфологического исследования выявлены и визуализированы основные морфологические и микроскопические признаки изучаемых видов горцев, установлена частота встречаемости диагностических признаков и их биометрические характеристики и проведено их сравнение. Предложены усовершенствованные методики подготовки свежезаготовленного растительного сырья.

3. С использованием современных перспективных методов микроскопического анализа получены новые данные для идентификации и подтверждения подлинности 10 изучаемых видов горцев. Выявлены различия между видами по характеру люминесценции вместилищ, расположенных на листьях, железок раструба и цветка (люминесцентная микроскопия). На основании данных петиолярной анатомии предложено использовать строение поперечного среза медиальной части черешков листьев (форма поперечного среза, количество и расположение проводящих элементов) в качестве идентификатора вида. Показана возможность применения метода растровой электронной микроскопии (РЭМ) в микроскопическом анализе лекарственного растительного сырья. С использованием метода РЭМ выявлены дополнительные особенности морфологии поверхности листовой пластинки видов рода горец.

4. Впервые с использованием различных хроматографических методов (ТСХ, ВЭЖХ и др.) для 10 видов рода горец, произрастающих в Воронежской обл., определен качественный состав и количественное содержание БАВ (дубильных веществ, органических кислот, гидроксикоричных кислот, аскорбиновой кислоты, аминокислот, полисахаридов, простых сахаров). Методом ВЭЖХ определен флавоноидный состав видов. Показано присутствие более 45 различных соединений флавоноидной природы. Флавоноидный профиль растений является маркером представителей рода горец. Выявлены индивидуальные компоненты, характерные для каждого конкретного вида.

На примере травы горца почечуйного установлен маркерный компонент с величиной R_f $0,71 \pm 0,02$, присутствующий у растений, независимо от места произрастания.

5. Выявлены отличия в составе и содержании отдельных групп БАВ для изучаемых видов горцев в сравнении с фармакопейными видами. В траве горцев щавелелистного и войлочного содержится 31,37 мг/г и 25,61 мг/г (соответственно) флавоноидов, что почти в 3 раза выше, чем в горце почечуйном (12,05 мг/г) и почти в 2 раза больше, чем в горце перечном (16,37 мг/г). Содержание полисахаридов в растениях колеблется от 8,6% (трава горца малого) до 2,5% (трава горца Бриттингера). Больше всего органических кислот в пересчете на яблочную (7,18%) в траве горца узловатого, меньшее содержание (4,03%) – в траве горца войлочного. Аскорбиновой кислотой наиболее богаты горцы почечуйный и перечный (0,17% и 0,15% соответственно). Самое высокое содержание суммы свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую (2,29%) характерно для травы горца узловатого. Горец щавелелистный может быть перспективным источником холина (2915 мг/кг).

Полученные данные по составу и содержанию БАВ в растениях рода горец позволяют считать наиболее перспективным для внедрения в медицинскую практику видом горец щавелелистный.

6. Разработаны и валидированы спектрофотометрические методики определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве горца почечуйного (высушенной и свежей) и траве горца щавелелистного. Относительная ошибка определения составила $\pm 4,12\%$, $5,1\%$ и $5,0\%$ соответственно.

7. Впервые изучен состав минерального комплекса видов рода горец, произрастающих в Воронежской обл., который представлен 56 элементами и установлены коэффициенты их биологического накопления. В сырье изучаемых горцев наибольшее накопление характерно для Mg, P, K, Ca, Zn, Sr, Ba, Mn. Установлено, что содержание тяжелых металлов и мышьяка во всех изучаемых видах не превышает ПДК, установленных НД. Выявлена зависимость между количественным содержанием кальция в объектах исследования, частотой встречаемости и размером друз оксалата кальция. Разработанный способ определению содержания минеральных компонентов метаболома в траве горца почечуйного защищен патентом RUS 2605855.

8. Установлено, что содержание экотоксикантов и микробиологическая чистота травы горцев, произрастающих в Воронежской обл., находятся на допустимом НД

уровне. Показана целесообразность разработки методик оценки уровня микотоксинов, продуцируемых плесневыми грибами рода *Альтернэрия* в ЛРС. Содержание афлотоксина В, охратоксина А, Т-2 токсина, зеараленона и ДОН не превышает нормативов, рекомендуемых СанПин.

9. В лабораторных условиях изготовлены жидкий экстракт горца почечуйного травы и жидкий экстракт горца щавелелистного травы, даны их характеристики и определены показатели качества. Установлено, что содержание сухого остатка в ЖЭ из травы горца щавелелистного (11,2%) и содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин (16 мг/мл), в два раза выше, чем в ЖЭ горца почечуйного травы (6,8 % и 9,8 мг/мл соответственно).

10. *In silico* спрогнозированы возможные виды фармакологической активности, токсических и побочных эффектов фенольных соединений, выявленных в составе видов рода горец. В экспериментах на животных для жидкого экстракта травы горца почечуйного показано наличие кровоостанавливающего эффекта слабой степени выраженности (снижает время остановки кровотечения на 17,4% по сравнению с контролем). Для жидких экстрактов горца почечуйного и горца щавелелистного при краткосрочном курсовом применении установлено наличие выраженной капилляропротекторной активности.

Практические рекомендации.

Результаты диссертационного исследования использованы при разработке нормативной документации на горца почечуйного траву, вошедшую в ГФ РФ XIV изд. Проекты НД на другие виды сырья и лекарственные растительные препараты необходимы для регистрации неофицинальных видов растительного сырья и фитопрепаратов, а также организации процессов заготовки сырья.

Перспективы дальнейшей разработки темы.

Результаты морфолого – анатомического исследования могут лечь в основу ключей-определителей, используемых для экспресс-идентификации растительного сырья, как при заготовке, чтобы максимально исключить ошибки при сборе, так и при разработке современной НД для стандартизации и оценки качества растительного сырья видов рода горец. Изученные в работе виды горцев перспективны к внедрению в качестве лекарственного растительного сырья и лекарственной растительной субстанции для получения фитопрепаратов наряду с горца почечуйного и горца перечного травой.

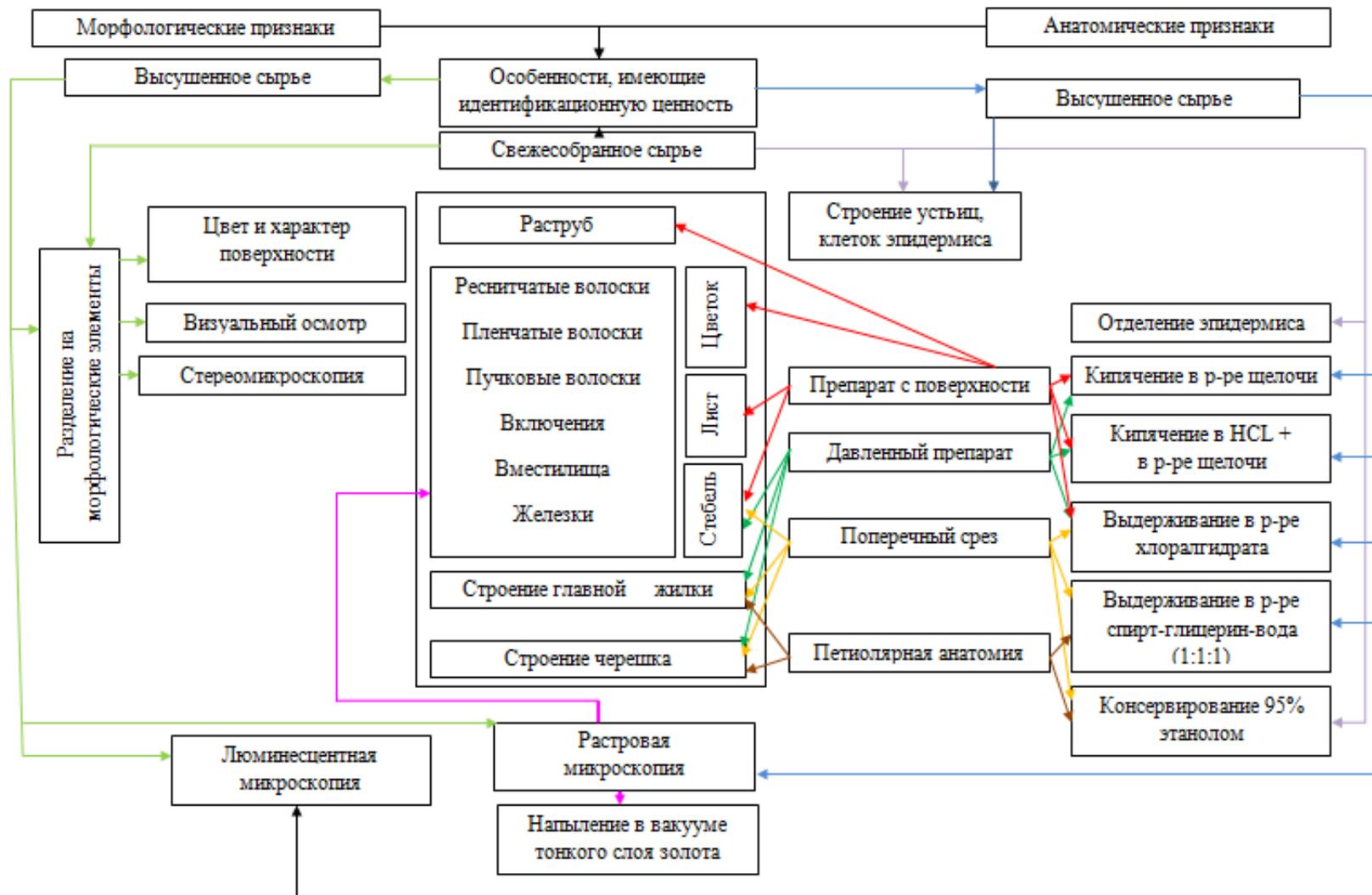


Рисунок 10 - Дизайн исследования морфолого – анатомических признаков видов рода *горец*

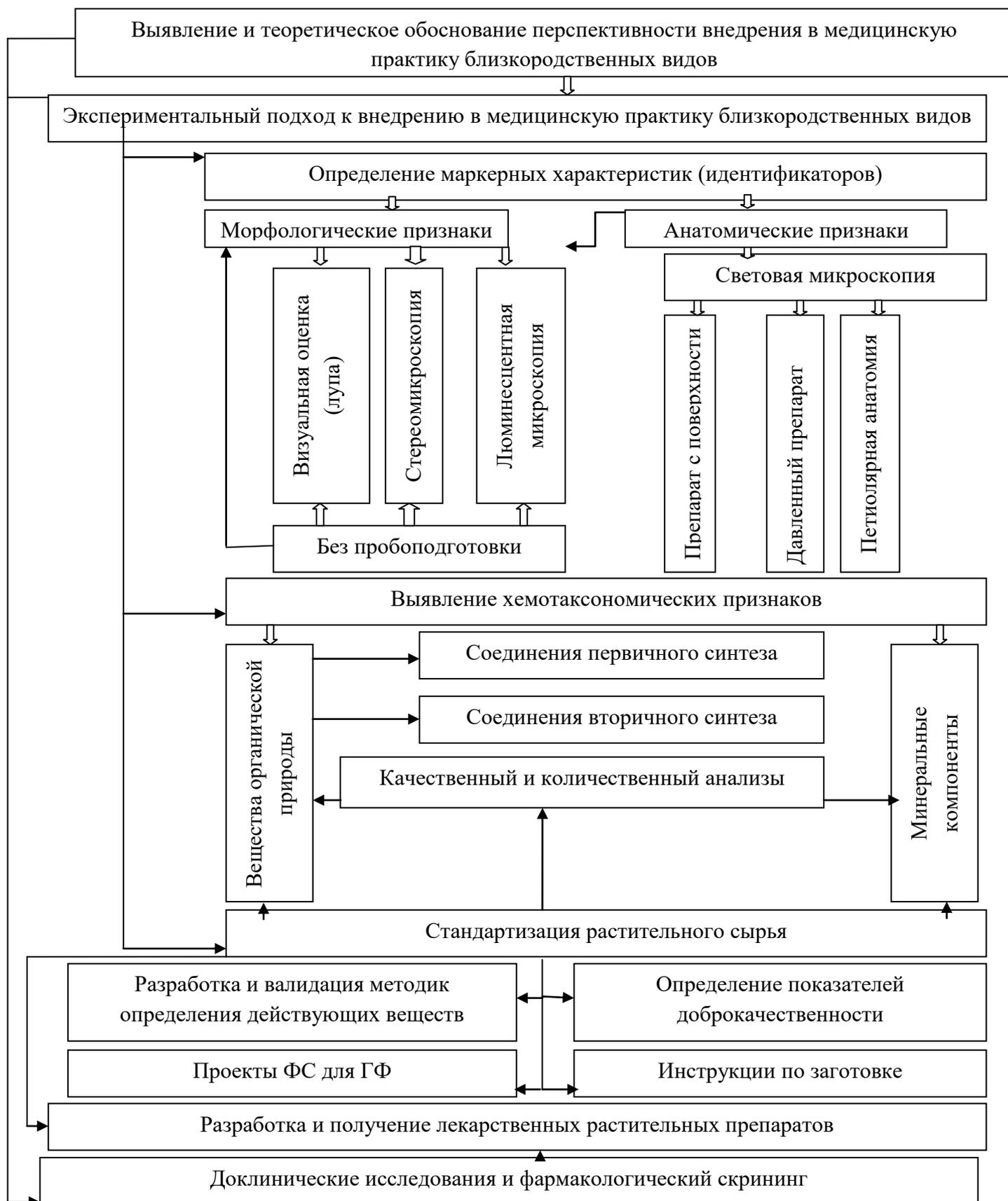


Рисунок 11 - Научно-методический подход к внедрению близкородственных видов растений в медицинскую практику (на примере рода горец)

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов / **А.А. Мальцева (Гудкова)**, О.В. Тринеева, А.С. Чистякова, А.И. Сливкин // **Фармация**. — 2013. — № 1. - С. 13-16.
2. Количественное определение флавоноидов в траве горца почечуйного / **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, [и др.] // **Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация**. — 2013. — № 2. – С. 199-202.
3. Количественное определение дубильных веществ в траве горца почечуйного / **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, [и др.] // **Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация**. —2013. — № 2. - С. 203-205.
4. Органические и оксикоричные кислоты в траве горца почечуйного / А.А. Сорокина, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Чистякова [и др.] // **Фармация**. — 2013. — № 6. - С. 12-13.
5. Дубильные вещества травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Ткачева, С.А. Логунова // «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ»: Сб. ст. по итогам 5 междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование 2013», г. Воронеж, 2013. – С. 596-599.
6. Антиоксидантная активность замороженной травы горца почечуйного / А.С.Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Ткачева, С.А. Логунова // «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ»: Сб. ст. по итогам 5 междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование 2013», г. Воронеж, 2013. – С. 593-594.
7. Определение суммы свободных аминокислот в траве горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, [и др.] / «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ»: Сб. ст. по итогам 5 междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование 2013», г. Воронеж, 2013.- С. 599-601.
8. Влияние степени измельченности травы горца почечуйного на выход флавоноидов / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Ткачева, С.А. Логунова // «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ»: Сб. ст. по итогам 5 междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование 2013», г. Воронеж, 2013. – С. 595-596.
9. Количественное определение полисахаридов в траве горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А.Мальцева (Гудкова)**, С.А. Логунова, [и др.] // Пути и формы совершенствования

фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ» Сб. ст. по итогам 5 междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование 2013», г. Воронеж, 2013.- С. 588-590.

10. Чистякова А.С. ТСХ анализ флавоноидов горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, С.А. Логунова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. г. Пятигорск, 2013.- Вып. 68.- С. 343.

11. Жидкие лекарственные формы из травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Сорокина, [и др.] // **Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация.** — 2014. — № 2. - С. 129-131 .

12. Оценка мембранстабилизирующего действия препаратов травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Сорокина, [и др.] // **Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация.** -2014.— №4. – С.140 – 143.

13. Определение коэффициента водопоглощения горца почечуйного травы / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.И. Сливкин, [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. г. Пятигорск, 2014. – Вып. 69.- С. 100-102.

14. Изучение аминокислот травы горца почечуйного методами тонкослойной и бумажной хроматографии / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)** [и др.] // Материалы конференции «Молодые ученые и фармация XXI века»: сб. науч. тр. – Москва: ВИЛАР, 2014.- С. 192- 194.

15. Получение жидкого экстракта (1:1) травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.И. Сливкин, [и др.] // Состояние и перспективы оптимизации и эффективности в фармакогнозии, технологии и клинике: сб. науч. тр. г.Ярославль, 2014.- С. 250-252.

16. Фитохимический анализ травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Сорокина [и др.] // Сеченовский вестник. - №1.- 2014.- С. 113-114.

17. Изучение анатомо–диагностических признаков растительного сырья «Трава горца почечуйного» // А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Сорокина, [и др.] // **Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация.** Воронеж, 2015. – №1. – С. 160 – 166.

18. Чистякова А.С. ТСХ-анализ свободных сахаров травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Ткачева // Сб. матер. 5-й междунар. науч. – практич. телеконф., Белгород, 2015. – С. 152 – 154.

19. Ткачева А.С. Определение коэффициента спиртопоглощения травы горца почечуйного / А.С. Ткачева, А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)** // SCIENCE4HEALTH 2015.

Клинические и теоретические аспекты современной медицины : Сб. матер. VI междунар. науч. конф.. Москва, РУДН, 2015.- С.67.

20. Игнатова А.О. Исследование травы горца почечуйного на содержание тяжелых металлов / А.О. Игнатова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Чистякова // SCIENCE4HEALTH 2015.

Клинические и теоретические аспекты современной медицины :Сб. матер. VI междунар. науч. конф.. Москва, РУДН, 2015.- С. 71.

21. Сравнительное изучение микродиагностических особенностей некоторых видов горцев / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Сорокина // Сеченовский вестник. - №1.- 2015 . – С.93-94.

22. Определение некоторых макро- и микроэлементов в траве горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Сорокина, Л.С. Шикунова// Сеченовский вестник. - №1.–2015. – С. 32-33.

23. Элементный состав горцев почечуйного и перечного / **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, [и др.] // **Фармация**. – 2016. - №2. – С. 14-18.

24. **Мальцева (Гудкова) А.А.** О возможности использования циркуляционного экстрагирования для выделения витамина К из растительного сырья / **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.С. Чистякова, Л.С. Шикунова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически – активных веществ: Сб. ст. по итогам 6-й Междунар. науч.-метод. Конф. «Фармобразование-2016», Воронеж, 2016. - С. 382-384.

25. Чистякова А.С. Изучение состава полисахаридов травы горца почечуйного методом ТСХ / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)** // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически – активных веществ: Сб. ст. по итогам 6-й Междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование-2016», Воронеж, 2016. - С. 589-592.

26. Чистякова А.С. Определение некоторых экотоксикантов в траве горца почечуйного, заготовленной в Воронежской области / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)** // Сеченовский вестник. - 2016. - № S2.- с. 40-41.

27. Чистякова А.С. Безопасность применения травы горца почечуйного, произрастающего на территории Воронежской области / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, А.А. Сорокина// Сеченовский вестник. - 2016. - № S1. - с. 24.

28. Микроскопические особенности горца почечуйного и возможных примесей / **А.А.Мальцева (Гудкова)**, А.С.Чистякова, А.А.Сорокина, А.И.Сливкин // **Фармация**. - 2017. - Т. 66. - № 1. - С. 29-32.
29. Гидроксикоричные кислоты травы горца почечуйного / И.Б. Перова, К.И. Эллер, **А.А. Мальцева (Гудкова)** [и др.] // **Фармация**. - 2017. - Т. 66. - № 5. – С. 27-30.
30. Флавоноиды травы горца почечуйного / И.Б. Перова, К.И. Эллер, **А.А. Мальцева (Гудкова)** [и др.] // **Фармация**. - 2017. - Т. 66. - № 2. - С. 15-19.
31. Сравнительное изучение анатомических признаков наземных частей растений *Persicaria amphibia* (L.) Delarbre и *Persicaria maculosa* (Gray.) / **А.А. Гудкова**, А.С.Чистякова, В.В. Негрбов, [и др.] // **Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация**. - 2017 - № 4. - С. 99-105.
32. Исследование состава травы горца почечуйного методом газовой хромато-масс-спектрометрии / А.С. Чистякова, **А.А. Гудкова**, А.А. Сорокина, А.И. Сливкин // Научный результат. Медицина и Фармация.— 2017.— Т. 3.-№ 4. - С. 61-69.
33. Свежая трава горца почечуйного: разработка проекта фармакопейной статьи / **А.А. Гудкова**, А.С.Чистякова, А.А.Сорокина, А.И. Сливкин // **Фармация**. – 2017 - Т. 66 - № 8 - С. 3-8.
34. Чистякова А.С. Микродиагностические характеристики горца почечуйного травы свежей / А.С. Чистякова, **А.А. Мальцева (Гудкова)**, С.А. Каракозова // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине : Сб. тр. по итогам V науч.-практич. конф., Москва. - 2017. - С.247-250.
35. **Мальцева (Гудкова) А.А.** О зараженности растительного сырья плесневыми грибами класса Deuteromycetes / **А.А. Мальцева (Гудкова)**, И.М. Коренская // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине : Сб. тр. по итогам V науч.-практич. конф., Москва. - 2017. - С.9-10.
36. Чистякова А.С. Получение настойки гомеопатической матричной из травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Гудкова**, А.Ю. Кузнецов // Наука и инновация, Душанбе, 2018.- №2.- С.120 – 123.
37. Изучение профиля аминокислот горца почечуйного травы (*Polygoni persicariae herba*) / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, [и др.] // **Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация**.- 2018. - № 4. - С. 195-200.
38. **Гудкова А.А.** Определение микробиологической чистоты, присутствия плесневых грибов и содержания микотоксинов в лекарственном растительном сырье (на примере травы

горца почечуйного) / **А.А. Гудкова** // **Биофармацевтический журнал**. - 2018. - Т. 10. - № 6. - С. 28-32 (Scopus).

39. **Гудкова А.А.** Особенности идентификации *Persicaria maculosa* L. по анатомическим признакам / **А.А. Гудкова**, В.В. Негрбов, А.С. Чистякова // Региональные ботанические исследования как основа сохранения биоразнообразия : Сб. тр. по итогам Всеросс. (с междунар. участием) науч. конф., г.Воронеж, 2018 .— С. 200-203.
40. Сравнительное анатомическое изучение черешков горца перечного и горца малого / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, О.Н. Щепилова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств: Сб. ст. по итогам 7-й Междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование-2018», г.Воронеж, 2018.— С. 240-243.
41. Пименова И.А. Количественное содержание суммы флавоноидов в некоторых представителях рода *Polygonum* L. / И.А. Пименова, **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : Сб. ст. по итогам 7-й Междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование-2018», г.Воронеж, — С. 287-290.
42. Пименова И.А. ТСХ-анализ флавоноидов некоторых видов горцев, произрастающих в Воронежской области / И.А. Пименова, **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : Сб. ст. по итогам 7-й Междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование-2018», г.Воронеж, 2018— С. 290-293.
43. **Гудкова А.А.** Теоретический подход к идентификации представителей рода *Persicaria* Mill. по морфологическим признакам / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, О.Н. Щепилова, [и др.]// Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : Сб. ст. по итогам 7-й Междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование-2018», г.Воронеж, 2018 — С. 346-350.
44. Чистякова А.С. Сравнительный анализ антиоксидантной активности аллопатических и гомеопатических лекарственных форм из травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Гудкова**, А.Ю. Кузнецов // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : Сб. ст. по итогам 7-й Междунар. науч.-метод. конф. «Фармобразование-2018», г.Воронеж, 2018.— С. 354-357.

45. Содержание веществ – антиоксидантов в извлечениях из травы различных представителей рода *Persicaria* Mill / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, С.А. Васильева, А.Ю. Кузнецов // В сборнике: Молодые учёные и фармация XXI века Сб. тр. 6-й науч.конф. с междунар. участием. г.Москва - 2018.- С. 125-128.
46. Чистякова А.С. Сравнительное изучение водорастворимых витаминов в растительном сырье (на примере травы горца почечуйного (*Polygonum persicaria* L.) и горца щавелелистного *Polygonum lapathifolium* L.) / А.С.Чистякова, **А.А. Гудкова**// Перспективы лекарственного растениеводства: сб. науч.тр. междунар. науч.конф., г.Москва, 2018. - С. 348-352.
47. **Гудкова А.А.** Сравнительное изучение состава макроэлементов травы горца почечуйного и горца войлочного (*Polygonum persicaria* L., *Persicaria tomentosa* (Schrank) E.P. Bicknell) / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова // Перспективы лекарственного растениеводства : сб. науч.тр. междунар. науч.конф., г. Москва, 2018 .— С. 406-410.
48. Исследование мембранстабилизирующей активности аллопатических и гомеопатических лекарственных форм из травы горца почечуйного / А.С. Чистякова, **А.А. Гудкова**, С.А. Васильева, А.Ю. Кузнецов // Молодежь и системная модернизация страны : сб.науч.ст. 3-й Междунар.научн.конф. студентов и молодых ученых, г.Курск, 2018 .— Т. - С. 65-68.
49. **Гудкова А.А.** Изучение показателей качества горца почечуйного травы свежей / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, Г.Ю. Шестакова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. г.Пятигорск, 2018 .— Вып. 73. - С. 82-84.
50. Сравнительное изучение минерального комплекса травы горца почечуйного (*Polygonum persicaria* L.) и горца войлочного (*Persicaria tomentosa* (Schrank) E.P. Bicknell) / **Гудкова А.А.**, Чистякова А.С., Сливкин А.И., [и др.] // **Микроэлементы в медицине.** - 2019. - Т. 20. - № 1. - С. 25-42.
51. Идентификация представителей рода *Persicaria* Mill. по морфологическим признакам / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, [и др.] // **Фармация.** - 2019. - Т. 68. - № 1. - С. 10-19.
52. Сравнительное изучение аминокислотного состава представителей рядов *Persicariaeformes* Kom. и *Lapathiiformes* Worosch. / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, А.И. Сливкин, [и др.] // **Химия растительного сырья.** - 2019.- №4.- С. 157–162 (Scopus).
53. **Гудкова А.А.** Анатомо – диагностические маркеры в определении подлинности представителей *Persicariaeformes* Kom. и *Lapathiiformes* Worosch. семейства *Polygonaceae* Lindl. / **А.А. Гудкова** [и др.] // **Фармация.** - 2019. - №8. - С.15-22.

54. Sorokina A.A., Tikhomirova E.A., **Gudkova A.A.** Metabolomics - the basis for the development of a new pharmaceutical substance of plant origin /International Conference “Scientific research of the SCO countries: synergy and integration” Part 1: Participants’ reports in English, March 26, 2019. Beijing, PRC, p. 147 – 152.
55. Изучение качественного состава аминокислот рода *Persicariae* Mill. методом ТСХ / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, А.Ю. Кузнецов, С.А. Васильева // IV Гаммермановские чтения: сб. науч. тр., г.Москва, 2019.- С.85- 89.
56. Количественное определение аскорбиновой кислоты в некоторых представителях рода *Persicariae* Mill. / А.Ю. Кузнецов, А.С. Чистякова, **А.А. Гудкова**, [и др.] / IV Гаммермановские чтения: сб. науч. тр., г.Москва, 2019. - С. 171 — 175.
57. Количественное определение простых сахаров в траве некоторых видов рода *Persicaria* Mill. / **А.А. Гудкова**, А.С. Чистякова, А.Ю. Кузнецов, [и др.] //IV Гаммермановские чтения: сб. науч. тр., г. Москва, 2019.- С. 345 — 348.
58. **Gudkova A.A.** Using the microscopic analysis to identify closely related species of the genus *Persicaria* Mill. / **A.A. Gudkova**, A.S. Chistyakova, A.Yu. Kuznetsov // Reviews on clinical pharmacology and drug therapy, Abstracts Phytopharm-2019, Saint Petersburg, p.24-25.
59. **Gudkova A.A.** Preclinical studies of pharmacological activity of *Persicaria maculosa* herb extract / **A.A. Gudkova**, A.V. Buzlama, A.I. Slivkin // Reviews on clinical pharmacology and drug therapy, Abstracts Phytopharm - 2019, Saint Petersburg, Russia, p.25.

Патенты РФ

1. Пат. 2475724 Российская Федерация МПК G01N21/64, B01D11/02 Способ количественного определения флавоноидов в растительном сырье флуориметрическим методом / **Мальцева А.А. (Гудкова)** [и др.] ; заявитель и патентообладатель: ФГБОУ ВПО «ВГУ». - № 2011118412/15 ; заявл. 06.05.2011; опубл. 20.02.2013, Бюл №5. - 5с.
2. Пат. 2605855 Российская Федерация МПК G01N33/15, G01N31/16 Способ количественного определения кальция и магния в растительном сырье / **Мальцева А.А. (Гудкова)** [и др.] ; заявитель и патентообладатель: ФГБОУ ВПО «ВГУ». - № 2015102880/15 ; Заявл. 28.01.2015; опубл. 27.12.2016, Бюл. №36.- 8с.

Монография

Гудкова А.А., Чистякова А.С., Сорокина А.А. Экспериментально – теоретический подход к идентификации видов рода *Persicaria* Mill.: монография /А.А. Гудкова, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина : Воронежский государственный университет. – Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2020. (тираж 500 экз.).

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АК – аминокислоты;	КМАиФАМ - количество мезофильных
АсК – аскорбиновая кислота;	аэробных и факультативно-анаэробных
БАВ – биологически активные вещества;	микроорганизмов;
ВФ – водная форма горца земноводного;	КОЕ/г – колонии образующие единицы
ВЭЖХ – высокоэффективна жидкостная	на 1 грамм;
хроматография;	ЛРС – лекарственное растительное сырье;
ВЭЖХ-ДМД-МС - ВЭЖХ с	НД – нормативная документация;
диодноматричным и масс-селективным	НФ – наземная форма горца земноводного;
детекторами;	ОК – органические кислоты;
ГФ – Государственная Фармакопея;	ОФС – общая фармакопейная статья;
ГХЦГ – гексахлорциклогексан;	РФ – Российская Федерация;
ДДТ – дихлордифенилтрихлорметилметан;	РЭМ – растровая электронная микроскопия;
ЖЭ ГП – жидкий экстракт горца	СФМ – спектрофотометрия;
почечуйного;	ТСХ – тонкослойная хроматография;
ЖЭ ГПер - жидкий экстракт горца	ФС – фармакопейная статья;
перечного;	ХМС – хромато-масс-спектроскопия;
ЖЭ ГЩ - жидкий экстракт горца	ЭВ – экстрактивные вещества
щавелелистного;	
ЖЭ – жидкий экстракт;	

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность Сливкину А.И., д.фарм.н., профессору, декану фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ за консультативную помощь и поддержку на всех этапах работы, Бузламе А.В., д.мед.н., доценту, заведующему кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО ВГУ за помощь в организации и проведении фармакологических исследований, компании ООО «Бионорика» за проявленный интерес к данной работе и помощь в проведении эксперимента.