

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России)**

На правах рукописи

КУТАТЕЛАДЗЕ ГЕОРГИЙ РОДИОНОВИЧ

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ
ЩАВЕЛЯ КИСЛОГО ТРАВЫ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО НА
ТЕРРИТОРИИ АЛТАЙСКОГО КРАЯ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель –
доктор фармацевтических наук,
профессор Федосеева Людмила Михайловна

Барнаул - 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Общая характеристика семейства Гречишные	11
1.2. Общая характеристика рода Щавель	12
1.3. Ботаническое описание вида щавель кислый	12
1.4. Ареал распространения и местообитание вида	16
1.5. Химический состав	18
1.6. Применение в народной медицине и народном хозяйстве.....	19
1.7. Применение в научной медицине и промышленности	22
1.8. Фармакологическое действие	23
Выводы по главе	25
ГЛАВА II ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	27
2.1. Объект исследования.....	27
2.2. Методы исследования.....	28
2.2.1. Методы макроскопического анализа	28
2.2.2. Методы микроскопического анализа.....	28
2.2.3. Методы фитохимического анализа БАС	29
2.2.4. Валидация методик количественного определения	46
2.2.5. Определение показателей доброкачественности сырья	48
2.2.6. Определение сроков годности сырья.....	48
2.2.7. Методы фармакологических исследований	48
2.2.8. Статистическая обработка результатов исследований	52
ГЛАВА III ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЩАВЕЛЯ КИСЛОГО ТРАВЫ	53
3.1. Фенольные соединения	53
3.1.1. Флавоноиды и фенолокислоты.....	53
3.1.2. Дубильные вещества.....	69
3.1.3. Антраценпроизводные.....	82
3.1.4. Кумарины.....	84

3.1.5. Изучение фенольных соединений методом ВЭЖХ	85
3.2. Аминокислоты.....	94
3.3. Органические кислоты и аскорбиновая кислота	96
3.4. Углеводы.....	99
3.5. Сапонины	101
3.6. Липофильные соединения.....	101
Выводы по главе	105
ГЛАВА IV ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И	
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАСТОЯ ТРАВЫ ЩАВЕЛЯ	
КИСЛОГО	107
4.1. Изучение острой токсичности настоя травы щавеля кислого.....	107
4.2. Изучение специфической активности настоя травы щавеля кислого .	108
4.2.1. Исследование противовоспалительной активности.....	109
4.2.2. Исследование антиоксидантной активности	113
Выводы по главе	115
ГЛАВА V СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЩАВЕЛЯ КИСЛОГО ТРАВЫ	116
5.1. Определение подлинности щавеля кислого травы.....	116
5.1.1. Изучение морфологических признаков щавеля кислого травы.....	116
5.1.2. Изучение анатомического строения щавеля кислого травы	118
5.2. Определение показателей доброкачественности щавеля кислого	
травы.....	129
5.3. Определение экстрактивных веществ.....	129
5.4. Определение сроков заготовки щавеля кислого травы.....	135
5.5. Определение срока годности сырья	136
Выводы по главе	137
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	139
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	142
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	178
ПРИЛОЖЕНИЯ	179

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Поиск новых лекарственных растений и их внедрение в медицинскую практику – одна из важнейших задач современной фармации. Перспективным является изучение пищевых растений, полезные свойства и относительная безопасность которых подтверждается многовековым опытом использования не только в народном хозяйстве, но и в народной медицине. Это позволяет их рассматривать в качестве потенциальных источников лекарственного растительного сырья для расширения номенклатуры лекарственных средств на фармацевтическом рынке РФ [7, 81, 96].

Интерес представляют растения семейства гречишные (*Polygonaceae* Juss.). Одним из них является щавель кислый (*Rumex acetosa* L.), который произрастает на территории Российской Федерации, в том числе в Алтайском крае [56, 77, 91].

В народной и традиционной медицине щавель кислый применяют как кровоостанавливающее, желчегонное, противоаллергическое, противовоспалительное, антибактериальное и витаминное средство [2, 158, 175, 179, 183]. Листья и молодые стебли, собранные до цветения, используют в качестве пищевого продукта [127, 147].

Экстракт щавеля кислого входит в состав комплексного растительного препарата «Синупрет» (Bionorica, Германия) для лечения заболеваний придаточных пазух носа, как компонент, отвечающий за секретолитическое, противоотечное и антибактериальное действие [83, 166]. В эксперименте обнаружены: антипролиферативная, противоопухолевая, гастропротективная, антиоксидантная, противовирусная и антимикробная активность [149, 152, 153, 163, 180].

Сведения об изученности и комплексных исследованиях в РФ отсутствуют.

Таким образом, фармакогностическое изучение щавеля кислого представляет практический интерес для внедрения в фармацевтическую и медицинскую практику как источника биологически активных соединений.

Степень разработанности темы исследования. Опубликованы работы зарубежных авторов, посвященные фитохимическому составу и фармакологической активности щавеля кислого.

Цель исследования – фармакогностическое изучение и разработка показателей качества щавеля кислого травы, произрастающего на территории Алтайского края, для внедрения в фармацию и медицину.

Задачи исследования. Для реализации поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Изучить и проанализировать литературные данные о современном состоянии ботанических, фитохимических и фармакологических исследованиях щавеля кислого;
2. Провести морфолого-анатомическое изучение щавеля кислого травы с целью установления диагностических признаков сырья;
3. Изучить состав комплекса биологически активных соединений щавеля кислого травы с использованием химических и физико-химических методов анализа;
4. Изучить острую токсичность, противовоспалительную и антиоксидантную активность настоя травы щавеля кислого;
5. Изучить динамику накопления флавоноидов и дубильных веществ в зависимости от фазы вегетации и места произрастания;
6. Установить показатели качества щавеля кислого травы;
7. Установить сроки заготовки и сроки годности щавеля кислого травы;
8. Разработать проект нормативного документа «Щавеля кислого трава».

Связь задач исследования с проблемным планом. Регистрационный номер темы исследования - №АААА-А17-117022850157-9. Тема утверждена на заседании экспертного совета ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (протокол №2 от 15 ноября 2016 г.).

Методологическая основа, объекты и методы исследования.

Исследование проводилось в период с 2016 по 2019 гг. с использованием фармакогностических, фармакологических, химических и физико-химических методов анализа (спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография) и последующей статистической обработкой результатов.

Теоретическую основу исследования составили труды зарубежных и отечественных учёных по макроскопическому, микроскопическому и фитохимическому анализу лекарственного растительного сырья. В качестве объектов исследования использовали щавеля кислого траву, заготовленную в фазы бутонизации, цветения и плодоношения с 2016 по 2018 гг. в различающихся по природным условиям и антропогенной нагрузке пяти районах Алтайского края (Калманском, Первомайском, Курьинском, Змеиногорском и Топчихинском районах) и окрестностях г. Барнаула.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное фармакогностическое изучение щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края.

Установлено, что комплекс БАС исследуемого сырья включает простые фенолы (пирокатехин), стильбены – ресвератрол, флавоноиды (кверцетин и его гликозиды рутин и гиперозид, кверцетрин; кемпферол и его гликозиды кемпферол-7-О-рамнозид, кемпферол-3-О-рамнозид), фенолокислоты (кофейная кислота, п-кумаровая кислота и ее производные); дубильные вещества (гидролизуемые - производные галловой и эллаговой кислот, конденсированные – производные катехина); антраценпроизводные (фисцион, реин, эмодин); кумарины (производные кумарина, 7-метоксикумарина), аминокислоты (глутамин, аспарагиновая кислота, α -аланин, аспарагин, валин, β -аланин), органические кислоты (щавелевая, яблочная, лимонная, винная, янтарная), аскорбиновую кислоту, моносахариды (глюкоза, ксилоза, галактоза), тритерпеновые сапонины,

липофильные соединения (хлорофиллы, каротиноиды, α -токоферол, витамин K₁).

Разработаны и валидированы методики количественного определения флавоноидов и дубильных веществ в щавеля кислого траве методом спектрофотометрии (акты апробации методик АО «Органика» от 28 февраля 2019 г.).

Изучена зависимость накопления флавоноидов и дубильных веществ от фазы вегетации щавеля кислого.

Выявлены антиоксидантная активность (в опыте *in vitro*), противовоспалительное действие при остром воспалении (на модели «каррагенинового» отека) и хроническом воспалении (на модели «хлопчатобумажной гранулемы»).

Установлены показатели подлинности и доброкачественности ЛРС. Получено свидетельство о государственной регистрации базы данных №2019620115 (приложение 12).

Практическая значимость работы. По результатам исследований доказана возможность использования щавеля кислого травы для расширения ассортимента ЛРС. Разработан проект фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава» и «Инструкция по сбору и сушке щавеля кислого травы» (приложение 7, 11). Отправлены для рассмотрения в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России проект фармакопейной статьи, пояснительная записка к проекту фармакопейной статьи, инструкция по сбору и сушке щавеля кислого травы (приложение 9). Получены документы о включении проекта фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава» в план разработки проектов фармакопейных статей (приложение 10).

Степень внедрения. Теоретические положения и результаты экспериментальных исследований используются в учебном процессе кафедры фармации ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (акт внедрения от 5 апреля 2019 г.), кафедры фармации НГИУВ – филиала ФГБОУ ДПО «Российская

медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (акт внедрения от 8 апреля 2019 г.); на фармацевтическом предприятии ЗАО «Эвалар» (акт внедрения от 2 апреля 2019 г.) (приложение 13).

Апробация научных результатов. Основные результаты исследований доложены на научно-практических конференциях: II Итоговая научно-практическая конференция научного общества молодых учёных, инноваторов и студентов АГМУ (г. Барнаул, 2017 г.), XIX городская научно-практическая конференция молодых ученых «Молодежь – Барнаулу» (г. Барнаул, 2017 г.), научно-практическая конференция «Современная медицинская наука: достижения и перспективы» в рамках Недели науки АГМУ 2018 (г. Барнаул, 2018 г.), III Итоговая научно-практическая конференция научного общества молодых учёных, инноваторов и студентов АГМУ (г. Барнаул, 2018 г.), II Всероссийский межвузовский GxP-саммит с международным участием «Выбор лучших. Время вперёд» (г. Сочи, 2018 г.), XX городская научно-практическая конференция молодых ученых «Молодежь – Барнаулу» (г. Барнаул, 2018 г.), Сателлитная дистанционная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Фундаментальная наука в современной медицине 2019» (г. Минск, 2019 г.), Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Природные соединения и здоровье человека», посвященная 100-летию образования ИГМУ (г. Иркутск, 2019 г.), III Всероссийский межвузовский GxP-саммит с международным участием «Выбор лучших. Время вперёд» (г. Ярославль, 2019 г.).

Публикации по теме исследования. Основные результаты исследований изложены в 18 научных публикациях, в т.ч. 3 – в изданиях, рецензируемых ВАК.

Личное участие автора в получении результатов. Вклад автора в работу является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования, в написании глав диссертации и научных

статей. Автор самостоятельно освоил методы и методики работы. Провёл статистическую обработку полученных данных.

Основные положения, выносимые на защиту: результаты фитохимического, фармакогностического исследования щавеля кислого травы; определение острой токсичности и специфической активности настоя травы щавеля кислого.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Область исследования и полученные результаты соответствуют пунктам 2, 5, 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 217 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, трех глав, отражающих результаты собственных экспериментальных исследований, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, приложений.

Работа иллюстрирована 39 таблицами и 55 рисунками.

Список литературы включает 186 источников, в том числе 48 – на иностранных языках.

Во введении изложена актуальность и степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, обозначена новизна и практическая значимость проведённых исследований; описаны положения, выносимые на защиту.

Первая глава содержит аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы: ботаническую характеристику изучаемого вида; данные по его распространению на территории России и Алтайского края; информацию об использовании растения в различных сферах человеческой деятельности, в т.ч. в научной и народной медицине; информацию о химическом составе щавеля кислого.

Вторая глава посвящена описанию объектов, методов и методик исследования.

В третьей главе приведены результаты фитохимического изучения комплекса БАС щавеля кислого травы.

В четвёртой главе изложены результаты определения острой токсичности, противовоспалительной и антиоксидантной активности настоя щавеля кислого травы.

В пятой главе приведены результаты макроскопического, микроскопического анализа, установлены показатели подлинности и доброкачественности сырья, использованные для разработки проекта нормативного документа. Установлены срок заготовки и срок годности сырья.

В приложении приведены спектры фенольных соединений щавеля кислого травы, обнаруженных методом ВЭЖХ, результаты изучения качества сырья при хранении, проект нормативного документа на ЛРС, инструкция по сбору и сушке ЛРС, основные документы, подтверждающие внедрение результатов диссертационной работы.

ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая характеристика семейства Гречишные

Семейство Гречишные (*Polygonaceae* Juss.) насчитывает около 1110 видов, относящихся к 43 родам и 4 подсемействам. Жизненные формы представлены однолетними и многолетними травами, кустарниками, деревьями и лианами. Листья простые, листорасположение - очередное, супротивное, часто с прикорневой розеткой. Характерным признаком данного семейства является наличие раструба – сильно разросшихся прилистников, охватывающих стебель [39, 136].

Цветки актиноморфные обычно обоеполые, реже однополые, мелкие, белые, зеленоватые или розоватые, часто трехчленные, собраны в метельчатые или кистевидные соцветия, либо располагаются одиночно в пазухах листьев. Околоцветник простой чашечковидный, из 3(4) – 6 сросшихся листочков, расположенных в два круга. Тычинок 2(6) – 9, между их основанием часто располагаются нектарники. Гинецей псевдомонокарпный, образован 3(2,4) сросшимися плодолистиками, несет один семязачаток. Завязь верхняя [39, 136].

Представители семейства широко распространены в районах с умеренным климатом, присутствуют в Западной Африке, тропических регионах Южной Америки и Юго-Восточной Азии. Во флоре России оно представлено 15 родами и почти 200 видами, в средней полосе Европейской России произрастают 5-8 родов с 48 видами, часть из которых - заносные растения [39].

Среди растений семейства Гречишные есть как пищевые (гречиха, щавель, ревень) и лекарственные (горцы перечный, почечуйный, воробьиный, щавель конский), так и злостные сорняки (щавелек, некоторые виды горцов) [80].

1.2. Общая характеристика рода Щавель

Род Щавель (*Rumex L.*) насчитывает около 200 видов, распространенных преимущественно в Северном полушарии. Во флоре России около 60 видов, в среднерусском регионе - около 20. Это травянистые растения, большинство из которых предпочитает кислые почвы. Цветки невзрачные, с травянистым или пленчатым околоцветником, собраны в крупные метельчатые соцветия. Околоцветник простой, из 6 листочков, но 3 внутренних более крупные, при плодах они обычно разрастаются и часто имеют мозолистые утолщения - желвачки [32, 137].

На территории Алтайского края род представлен 12 видами [50, 56].

1.3. Ботаническое описание вида щавель кислый

Щавель кислый, или обыкновенный (*Rumex acetosa L., Acetosa pratensis Mill.*) - двулетнее травянистое двудомное растение с прямостоячим бороздчатым ветвистым стеблем высотой 30-100 см и коротким мочковатым корнем. В нижней части стебель растения имеет красноватый оттенок. В первый год жизни не образует генеративных побегов, формирует мощную розетку листьев. Во второй год жизни весной происходит регенерация прикорневой розетки листьев из почек возобновления, расположенных на корневой шейке развиваются 2-4 генеративных побега (рисунок 1) [32, 95].

Листья простые, цельнокрайние, яйцевидно - продолговатые со стреловидным или копьевидным основанием, на верхушке тупо заостренные или заостренные, с ярко выраженной центральной жилкой. Листовая пластинка может достигать длины 15 - 20 см. Прикорневые листья длинночерешковые, собраны в розетку, стеблевые - очерёдные, нижние стеблевые - длинночерешковые, далее по стеблю короткочерешковые или почти сидячие (рисунок 2) [32, 137, 177].



А



Б

Рисунок 1 - Общий вид растения первого года (А) и второго года (Б) вегетации [171]



А



Б

Рисунок 2 - Листья щавеля кислого: А - прикорневые листья, Б - стеблевые листья [125]

У основания черешков стеблевых листьев прилистники срастаются в красноватый бахромчато – надрезанный пленчатый раструб, охватывающий стебель (рисунок 3).



Рисунок 3 - Раструб щавеля кислого [172]

Растение двудомное, цветки актиноморфные однополые, мелкие, розоватые, красноватые или желтоватые, собраны в негустые кисти, образующие узкую метелку (рисунок 4) [98].



Рисунок 4 - Мужское (А) и женское (Б) соцветия щавеля кислого [170]

Отмечено большое количество в популяции особей данного вида с женскими соцветиями (до 90%) и низкое количество с мужскими соцветиями (до 10%) [35]. Околоцветник состоит из 6 лепестков, расположенных в два круга (рисунок 5).

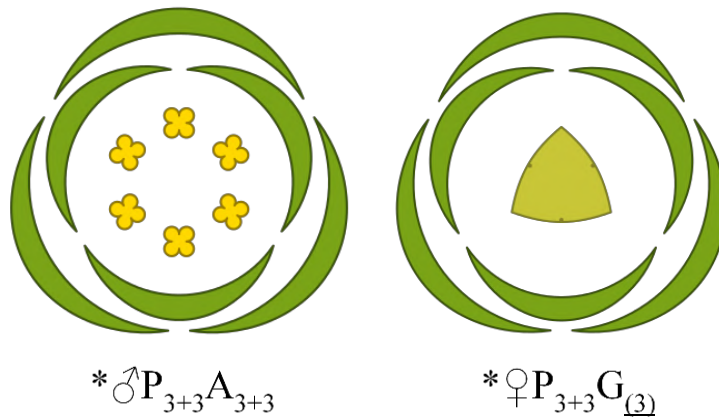


Рисунок 5 - Диаграммы и формулы цветков [139]

У тычиночных цветков доли околоцветника продолговато – овальные, наружные немного мельче внутренних, андроцей состоит из 6 тычинок; у пестичных цветков наружные доли отогнуты вниз и прижаты к цветоножке, внутренние – прямостоячие, разрастающиеся при плодах (наружные доли отсыхают), гинецей псевдомонокарпный, состоит из пестика с тремя короткими нитевидными столбиками и кистевидными рыльцами (рисунок 6) [131].

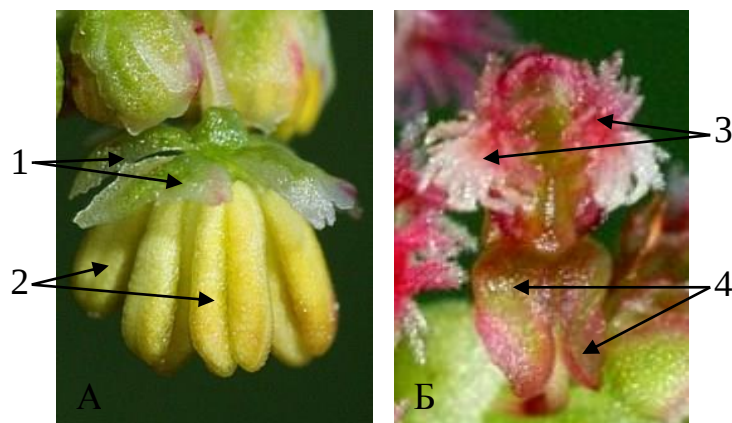


Рисунок 6 – Тычиночный цветок (А) и пестичный цветок (Б) щавеля кислого: 1, 4 – наружные доли околоцветника, 2 – тычинки, 3 – кистевидные рыльца [170]

Плод - псевдомонокарпный блестящий трехгранный темно-коричневый орешек, заключенный в разросшиеся доли околоцветника (рисунок 7).



Рисунок 7 - Плод щавеля кислого [172]

Цветет растение с конца мая по август, плодоносит с конца июля по сентябрь [19].

1.4. Ареал распространения и местообитание вида

Вид щавель кислый встречается почти повсеместно [129]. В диком виде *R. acetosa* широко распространен на лугах в Европе и Азии. Привнесен в Южную Африку, Северную Америку и Чили (рисунок 8) [22, 160].

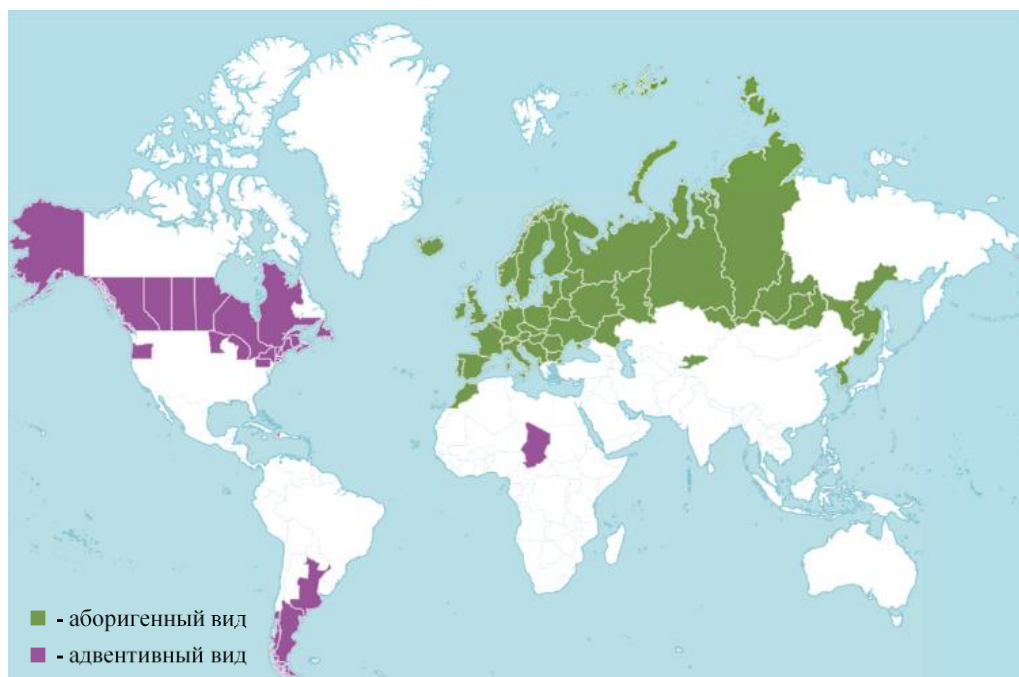


Рисунок 8 - Ареал распространения вида *R. acetosa* в мире [160]

В России щавель кислый встречается в Европейской части, включая Арктику, на Кавказе, в Центральной, Западной Сибири (Тюменская область, Алтайский край и республика Алтай) и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке (Амурская область, Приморский край и Сахалинская область) (рисунок 9) [32, 91, 134].

В Алтайском крае щавель кислый произрастает повсеместно, но чаще встречается в Красногорском, Краснощековском, Третьяковском и Чарышском районах [56, 92].

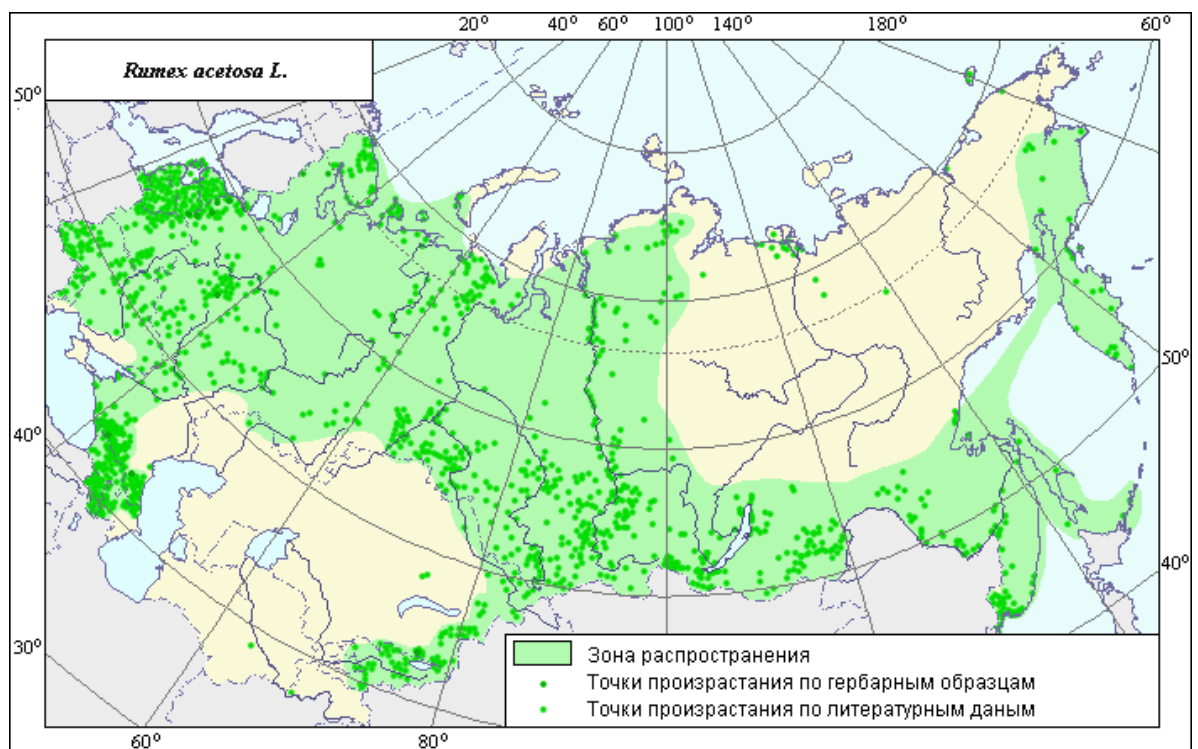


Рисунок 9 - Ареал распространения вида *R. acetosa* в РФ [129]

Вид *R. acetosa* издавна и широко возделывается и послужил исходным материалом для создания многочисленных сортов. Культивируется во всем мире, наиболее широко – Западной Европе. В России разводится повсеместно, как приусадебная культура, а вблизи крупных городов – в промышленных масштабах [21, 24].

Щавель кислый растет на кислых и нейтральных умеренно влажных и влажных почвах; выносит близкое залегание грунтовых вод, но отрицательно

реагирует на длительное затопление. Обычно встречается на сырых и суходольных лугах, опушках леса, полянах, берегах водоемов, травянистых склонах, галечниках, у дорог [69, 98, 132].

1.5. Химический состав

В доступной отечественной и зарубежной литературе приводятся сведения о химическом составе щавеля кислого, однако представленные данные носят фрагментарный характер и нет достоверных сведений о комплексном фитохимическом изучении растения [19, 55, 133, 161].

В растении обнаружены: аскорбиновая кислота (до 145 мг%), каротиноиды (8 мг%), Е; флавоноиды (1,4 – 1,64 мг%) — кверцетин, дельфинидин, цианидин, рутин, гиперозид; фенолокислоты: кофейная, галловая, протокатеховая, хлорогеновая, *n*-кумаровая; органические кислоты: виннокаменная и щавелевая, большое количество щавелевокислого кальция и щавелевокислого калия (0,56 – 0,93%); дубильные вещества: танин; антраценпроизводные: производные хризацина (6,18 мг/г) - хризофанол, румицин, реин, эмодин, фисцион; полифенольные соединения: непозид и его агликон неподин, сесквитерпеновые лактоны. Микроэлементы - железа 2 мг%, меди 0,6 мг%, фтора 0,13 мг%, марганца 9 мг%, цинка 1,5 мг%, молибдена 0,19 мг%, никеля 0,62 мг%, мышьяка 0,2 мг%, стронция 10 мг%, натрия 140 мг%, калия 579 мг%, фосфора 130 мг% и магния 36 мг% [6, 19, 94, 173, 186].

В корнях найдены: дубильные вещества (7 - 15%), антрахиноны (0,79-1,2%): хризофанол, алоэ – эмодин, эмодин, фисцион, реин, 8-О-β-D-гликозид хризофанола, 8-О-β-D-гликозид эмодина, ω-ацетокси-алоэ-эмодин, полифенольное соединение непозид, антоцианы (1,5 мг%), флавоноиды производные флавонола (4 – 5,3%), фенолокислоты (7 – 10%), водорастворимые пектины (4,1%), протопектин и пектиновая кислота (9,6%), аминокислоты (5 – 6,9%), витамин К₁, аскорбиновая кислота (8,8 мг%), органические кислоты (0,32%) [41, 76, 99, 181].

В надземной части обнаружены: фенолкарбоновые кислоты: протокатеховая, кофейная, хлорогеновая, галловая; флавоноиды в виде С – гликозидов (2,6 – ди-О-ацетилизориентин, 2,6 – ди-О-ацетилориентин, 2 – О - ацетилизориентин, 2 – О – ацетилориентин, изориентин и ориентин), О – гликозидов (авикулярин, гиперин, рутин, мирицетин) и агликонов (кверцетин, кемпферол) флавонов; катехин и его производные (эпикатехин, эпикатехин – 3 – О - галлат), флороглюцин и его производные; антрахиноны: хризофанол, эмодин, фисцион; щавелевая кислота (12%); аскорбиновая кислота, витамины В, Е, каротиноиды [19, 143, 159, 179].

В листьях идентифицированы: щавелевая кислота (по данным Филоновой О.В. 0,32% - 1,26%), аскорбиновая кислота, витамин К₁, каротиноиды; фенолкарбоновые кислоты: *n*-кумаровая, кофейная, феруловая; флавоноиды (0,5%): гиперин (0,05%), рутин, витексин, антоцианы цианидин и дельфинидин; дубильные вещества (7 - 15%, в осенних до 27%), антрацепроизводные группы 1,8 - диоксиантрахинона (1,59 мг/г) [123, 19, 23, 186].

В соцветиях содержатся флавоноиды (кемпферол, кверцетин, рутин). Содержание флавоноидов в мужских цветках - 1,19%, в женских - 1,32%. Найдена аскорбиновая кислота [23, 25, 26].

В плодах обнаружены аскорбиновая кислота, витамин К₁, каротиноиды; флавоноиды кверцетин, гиперин, рутин; антрохиноны (0,83 мг/г): хризофанол, эмодин, фисцион. Семена содержат флавоноиды и жирное масло (до 5%) [19, 186].

1.6. Применение в народной медицине и народном хозяйстве

Настой листьев употребляют внутрь при цинге, кровотечениях и при склонностях к кровотечениям, как противоядие при некоторых отравлениях (укусах змей и насекомых), в качестве средства, стимулирующего деятельность печени, усиливающего образование желчи, как «кровоочистительное» (антиаллергическое) средство при различных сыпях и

зуде кожи [2, 73, 102, 158, 183]. Наружно - при кровоточивости десен, для полоскания горла при ангине, в виде примочек при хронических, долго незаживающих ранах и трофических язвах. Пасту из листьев используют для уменьшения отека носовых проходов и дыхательных путей [2, 84, 142, 150, 155].

Горячий настой травы используют для лечения гастрита и язвенной болезни желудка [141].

Настой травы назначают как противогинготное, витаминное средство при разрыхлении десен, кровоочистительное, потогонное и диуретическое средство [179].

Сок из надземной части в смеси с соками надземной части настурции, листьев трилистника водяного, листьев одуванчика лекарственного и молочной сыворотки применяют для лечения мочекаменной болезни [87].

В китайской медицине измельченный свежий корень считается эффективным средством при кожных заболеваниях [17].

Отвар из корней щавеля кислого принимают внутрь при поносах, при поносах с кровью и дизентерии, болях в пояснице и ревматизме, а в виде порошка - в качестве слабительного средства [104].

Корни и плоды используются также как противогнилостное, противогинготное средство, при кровотечениях, а семена - при кровохарканье, внутренних кровотечениях, туберкулезе легких, «лихорадке крови» (септикопиемии) [9, 17]

Извлечением из корней и надземной части коренные народы Алтая окрашивали шерсть в палевый, коричневый и черный цвета [52].

Согласно древним трактатам «Дзэйцхар Мигчжан» и «Дун-бэ» в тибетской медицине корни применялись при ранах и гнуан (запущенных болезнях), надземная часть - для лечения ран, отравлений, нарывов и «жара костей» [5, 11].

Растение описано у древнеримских авторов: поэта Вергилия, драматурга Плавта, в «Естественной истории» Плиния Старшего. В «Каноне

врачебной науки» Авиценны описаны целебные свойства щавеля кислого [49, 79].

Щавель кислый известен людям еще со времен Древнего Рима и Древней Греции, его родиной принято считать умеренный пояс Западной Европы: там он произрастает повсеместно, широко применяется в пищу и ценится за свои уникальные вкусовые качества [12].

Во многих странах Северного полушария щавель кислый активно культивируется в качестве овощной культуры. По свидетельствам литературных источников щавель кислый выращивали на полях монастырей в швейцарских Альпах вместе с другими овощными культурами и травами [12].

Как лекарственное растение щавель кислый был известен еще античным медикам. Известный римский врач Квинт Серен Самоник (III в. н. э.) в «Медицинской книге» рекомендовал его для лечения вновь открывшихся ран и грудных желез [4].

В своем трактате «*De viribus herbarum*» (О свойствах трав) Одо из Мена в стихах описывает щавель кислый как гастропротективное, противогнилостное средство, средство при кожных болезнях, диарее и дизентерии [124].

Считалось, что кислый сок щавеля придает воинам отваги перед битвой. В Средневековых рукописях описано применение свежего щавеля как средство против чумы. Он должен был «освежать больного» (восстанавливать силы), помогать против внутреннего жара и чумной лихорадки [4].

Щавель кислый ввели в культуру. Самое раннее упоминание о возделывании щавеля относится к Франции XII века, в качестве культивируемого растения он описан в XIV веке. В России же культивирование щавеля произошло тремя веками позже, в XVII веке [33, 93].

При раскопках на Камчатском полуострове в нижней части миоцена в вулканических осадках учеными были обнаружены хорошо сохранившиеся, довольно крупные листья. Экспертиза установила сходство найденного растения с одним из произрастающих ныне видов щавеля. Затем его плоды были найдены на Иртыше, Урале, Дону, в Воронежской области [57].

В годы Первой и Второй мировых войн щавель кислый рекомендовался в странах-участниках в качестве источника витамина С и других биологически активных соединений [54, 103].

В настоящее время листья и молодые стебли, собранные до цветения, используют в пищу [127, 147].

1.7. Применение в научной медицине и промышленности

Наземная часть *R. acetosa* используется в европейской традиционной медицине при воспалительных заболеваниях полости рта [154, 174].

Монография на щавеля кислого листья (*Rumicis acetosa folia*) входила в Лондонскую, Эдинбургскую, Дублинскую фармакопеи и затем в объединённую Британскую фармакопею. Использовали свежие листья как жаропонижающее и диуретическое средство при лихорадке и кожных болезнях. Расчет дозы для применения и стандартизацию сырья проводили по количественному содержанию оксалата калия [146, 182].

Экстракт из щавеля кислого входит в состав комплексного растительного препарата «Синупрет» (Bionorica, Германия), используемый для лечения заболеваний придаточных пазух носа, в качестве компонента отвечающего за секретолитическое, противоотечное и антибактериальное действие [83, 166].

Экстракт из листьев и всей надземной части применяют в косметологии как вяжущее и витаминизирующее средство [165].

Для пищевой промышленности щавель кислый обычно выращивают в двух - трехлетней культуре. Используют свежие листья щавеля кислого соответствующие ГОСТ 34301 - 2017 «Щавель и шпинат свежие» [28].

В Российской Федерации зарегистрировано 5 сортов щавеля кислого: Бельвильский, Крупнолистный, Широколистный, Никольский, Малахит. Общая площадь посевов в России 18 тыс. га. Средняя урожайность - от 10 до 20 т/га [43, 60].

В экспериментах по селекции выведены морозостойкие сорта щавеля кислого с высоким содержанием сахаров, каротина и низким содержанием органических кислот (к-15, Франция; к-24 и к-26, Казахстан), с высоким содержанием аскорбиновой кислоты (к-23, Казахстан), с низким содержанием органических кислот и низким содержанием щавелевой кислоты (вр.к-186, Чечено – Ингушетия), с низким содержанием щавелевой кислоты (к-3, ЗСОКСОС и к-25, Казахстан; к-17, Белорусия) [43].

Тропиной Л.П. с соавторами в 70-е годы XX века в лаборатории интродукции пищевых растений при Центральном Сибирском ботаническом саду проводились исследования по интродукции и акклиматизации щавеля кислого в условиях лесостепи Западной Сибири. Изучалась биология роста и развития щавеля кислого, качество урожая различных сроков посева. Установили, что при весеннем посеве в первый год при благоприятных погодных условиях через 20-30 дней образуется розетка листьев, пригодных для сбора, затем начинается массовое цветение. После созревания семян листья отрастают вторично, к осени формируется розетка с зачаточными цветочными почками. При летнем посеве (конец июня - начало июля) к осени успевает сформироваться продуктивная часть растений и на второй год жизни дает высокий урожай. Зеленая фитомасса при весеннем посеве первый год примерно составляет 12 кг/10м², при летнем - 8 кг/10м². На второй год – 21 кг/10м² и 24 кг/10м² соответственно [27, 107].

1.8. Фармакологическое действие

Для щавеля кислого изучены следующие виды действия: вяжущее, кровоостанавливающее, ранозаживляющее, антиоксидантное, противогинготное, сосудоукрепляющее, сосудорасширяющее,

«кровоочистительное» (противоаллергическое), антитоксическое, обезболивающее, желчегонное, гастропротективное при гиперацидном гастрите, антипролиферативное, противоопухолевое, противовирусное, противопаразитарное [149, 153, 180].

Антипролиферативная активность фенольного комплекса надземной части щавеля кислого изучалась в дозах 25, 50, 75 и 100 мг/мл на модели клеток *HaCaT* (нераковые immortalized кератиноциты человека) с использованием МТТ-теста. По данным Kusekova Z. с соавторами наибольшей активностью обладает экстракт фенольных соединений в дозе 25 мг/мл [162].

Противоопухолевое действие обусловлено содержанием в корнях полисахаридного комплекса, который в эксперименте на мышах угнетал рост имплантированной солидной саркомы 180 и усилением активности фагоцитоза и компонента комплемента C_3 [156].

В опытах *in vitro* доказана антипролиферативная активность хлороформных экстрактов из надземной части против культуры клеток *HeLa* (эпителиальная аденокарцинома шейки матки) и *MCF7* (грудная эпителиальная аденокарцинома) [163].

Гастропротективное действие связано с наличием антрохинона эмодина, который предотвращает эффекты гиперацидного гастрита: воспаление, отек, кровотечение и потерю эпителиального слоя [141].

Противовирусное действие обусловлено наличием эпикатехин - 3 - О - галлат - (4 β →8) - эпикатехин - 3' - О-галлата - (процианидин - В2 - ди - галлата), который защищает клетки от проникновения вируса гриппа А и вируса простого герпеса первого типа путем блокирования адсорбции на поверхности клетки и вмешательства в процесс пенетрации путем взаимодействия с белком оболочки гликопротеином D [149, 152].

В эксперименте с изолированной грудной крысиной аортой, преконтрактированной фенилэфрином, спиртовой экстракт из надземной части обладал **спазмолитическим действием** в диапазоне доз от 0,1 до

100 мг/мл. В опыте с культурой клеток *HUVEC* (эндотелиальные клетки пупочной вены человека) установлено, что эффект вазодилатации зависит от целостности эндотелия сосуда и продукции оксида азота. Вазодилатация опосредована активацией нескольких внутриклеточных молекулярных механизмов: эндотелиальных PI₃-киназа/AKT и Ca²⁺-eNOS-NO сигнальных путей, и мышечного NO-sGC-cGMP сигнального пути [169, 180].

В эксперименте *in vitro* показано, фракции спиртового извлечения из щавеля кислого листьев обладали значительной **антиоксидантной активностью**: фракция агликонов в дозе 45,10 мг/мл (активность захвата свободных радикалов) и этилацетатная фракция в дозе 2,68 мг/мл (активность захвата активных форм кислорода) проявляли наибольшей антиоксидантной активностью. Установлено, что агликоновая фракция проявляла **цитопротективный эффект** при индуцированном повреждении эритроцитов человека синглетным кислородом в дозе 25 мг/мл [157, 168].

В эксперименте *in vitro* хлороформный, н – гексановый и водный экстракты из щавеля кислого корней и надземной части показали **антимикробную активность** против штаммов *S. epidermidis*, *S. aureus*, *MRSA*, *B. subtilis*, *M. catarrhalis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* [167].

Следует отметить, что из-за содержания щавелевой кислоты и ее солей употреблять щавель в больших количествах не рекомендуется [176].

Противопоказаниями к применению препаратов щавеля кислого являются: тяжелые заболевания почек, печени, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, нарушение обмена веществ, острые гастриты, колиты [34, 70].

Выводы по главе

Щавель кислый - двулетнее травянистое растение семейства гречишные, широко распространенное на территории Российской Федерации и Алтайского края в том числе.

Установлено, что растение содержит флавоноиды, дубильные вещества, антраценпроизводные, фенолокислоты, органические кислоты, аскорбиновую кислоту полисахариды, витамины группы В, сесквитерпеновые лактоны, каротиноиды, витамин Е, витамин К₁ и богатый микроэлементный состав.

Надземная и подземная части щавеля кислого используются в народной медицине в качестве витаминного, противогинготного, кровоостанавливающего средства.

Зарубежными авторами установлена антиоксидантная, противовоспалительная, противовирусная и антимикробная активности.

Достаточно хорошо изучена биология роста и развития растения, описаны особенности вегетации: на первый год образуется розетка прикорневых листьев, на второй - цветоносный побег.

Растение издавна используется в пищевой промышленности.

Ввиду недостаточной изученности фитохимического состава комплекса биологически активных соединений и отсутствия нормативной документации на лекарственное растительное сырье использование щавеля кислого в научной медицине ограничено.

Все вышесказанное указывает на целесообразность проведения фармакогностического изучения щавеля кислого с целью расширения перечня лекарственных растений и ассортимента лекарственного растительного сырья для применения в медицине и фармации.

ГЛАВА II ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект исследования

Объектом исследования послужило воздушно-сухое сырье - щавель кислого трава, заготовленная в фазы бутонизации, цветения и плодоношения. Заготовку вели с 2016 по 2018 гг. в различающихся по природным условиям и антропогенной нагрузке пяти районах Алтайского края (Калманском, Первомайском, Курьинском, Змеиногорском и Топчихинском) и окрестностях г. Барнаула (таблица 1). На рисунке 10 представлен щавель кислый, произрастающий в окрестностях с. Повалиха Первомайского района Алтайского края.

Таблица 1 – Районы, места и даты заготовки ЛРС – щавеля кислого трава

Район и место сбора	Фаза вегетации	Дата сбора		
		2016 г.	2017 г.	2018 г.
Калманский район, с. Новороманово	Бутонизация	15.05.2016	10.05.2017	19.05.2018
	Цветение	09.07.2016	21.06.2017	19.06.2018
	Плодоношение	21.08.2016	17.08.2017	30.08.2018
Первомайский район, с. Повалиха	Бутонизация	09.05.2016	13.05.2017	07.05.2018
	Цветение	05.07.2016	26.06.2017	30.06.2018
	Плодоношение	30.08.2018	24.08.2017	02.09.2018
Курьинский район, с. Краснознаменка	Бутонизация	14.05.2016	09.05.2017	08.05.2018
	Цветение	07.07.2016	02.07.2017	12.07.2018
	Плодоношение	04.08.2016	22.08.2017	29.08.2018
Змеиногорский район, с. Лазурка	Бутонизация	10.05.2016	10.05.2017	18.05.2018
	Цветение	24.06.2016	01.07.2017	16.06.2018
	Плодоношение	26.08.2016	03.09.2017	25.08.2018
Топчихинский район, пос. Кировский	Бутонизация	14.05.2016	08.05.2017	10.05.2018
	Цветение	29.06.2016	21.06.2017	12.06.2018
	Плодоношение	17.08.2016	22.08.2017	19.08.2018
Окресности г. Барнаул	Бутонизация	15.05.2016	14.05.2017	17.05.2018
	Цветение	02.07.2016	24.06.2017	10.07.2018
	Плодоношение	05.09.2016	30.08.2017	30.08.2018



Рисунок 10 – Щавель кислый в условиях естественного фитоценоза (на примере Первомайского района Алтайского края, с. Повалиха)

2.2. Методы исследования

2.2.1. Методы макроскопического анализа

Макроскопический анализ сырья проводили по методикам, описанным в общей фармакопейной статье (ОФС) ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» Государственной фармакопеи (ГФ) XIV издания [30].

2.2.2. Методы микроскопического анализа

Микроскопический анализ проводили по общеизвестным методикам в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» ГФ XIV издания [10, 30].

Готовили поверхностные препараты и поперечные срезы, которые выполняли лезвием от руки. Для исследования использовали микроскоп Микромед - 2, с увеличением окуляров 7х, 10х, объективов 4х, 10х, 40х, 90х и 100х. Объекты фотографировали фотоаппаратом «Canon». Снимки редактировали с помощью программы Adobe Photoshop 8.0.

2.2.3. Методы фитохимического анализа БАС

Для проведения **качественного анализа БАС** получали извлечения из сырья. В качестве экстрагентов использовали воду очищенную, спирт этиловый различной концентрации, гексан, хлороформ, эфир диэтиловый, этилацетат, спирт н-бутиловый.

Определение дубильных веществ, флавоноидов, кумаринов, антраценпроизводных, сапонинов, полисахаридов, липофильных веществ, аскорбиновой кислоты, органических кислот, аминокислот проводили по общепринятым методикам [16, 53, 67, 75, 145].

Идентификацию БАС и определение их количественного содержания в сырье проводили химическими и физико-химическими методами анализа: тонкослойной хроматографией (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ), прямой и дифференциальной спектрофотометрией (СФМ).

2.2.3.1. Определение флавоноидов и фенолокислот

Для проведения качественного анализа флавоноидов щавеля кислого травы получали извлечение в соотношении 1:10. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%. Экстракцию проводили на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин [16].

Для обнаружения флавоноидов в траве щавеля кислого проводили следующие реакции: цианидиновая проба (проба Шинода), цианидиновая проба по Брианту, с ацетата свинца основного раствором 2%, с аммония гидроксида 10% раствором, алюминия хлорида (III) 2% раствором, борно - лимонная реакция (реакция Вильсона), с ванилина раствором 1% в хлористоводородной кислоте концентрированной (реакция Запрометова) [53, 67, 145].

Для разделения и идентификации флавоноидов **методом ТСХ** использовали пластинки «Sorbfil ПТСХ-II-B» и восемь систем растворителей

[51, 78, 130, 164]. Подбирали систему с наилучшей разделяющей способностью (таблица 2).

Таблица 2 – Системы для исследования флавоноидов методом ТСХ

№	Система растворителей	Соотношение растворителей
1.	спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода	4:1:2
2.	спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода	4:1:1
3.	ацетонитрил - спирт н-бутиловый – аммиака раствор 10% водный - хлороформ	30:5:1:120
4.	этилацетат – уксусная кислота концентрированная - вода	8:1:1
5.	этилацетат – уксусная кислота концентрированная - вода	7:1:2
6.	этилацетат – кислота муравьиная - вода	10:2:3
7.	хлороформ – спирт этиловый 95%	8:2
8.	хлороформ – этилацетат – уксусная кислота ледяная	4:10:5

В качестве свидетелей использовали 0,1% растворы РСО рутина, гиперозида, ориентина, кверцетина, изорамнетина и апигенина («Sigma-Aldrich»). Полученные хроматограммы высушивали при комнатной температуре. Детектирование пятен веществ на хроматограммах осуществляли в УФ - свете (254 нм, 365 нм) до и после обработки пластинок хромогенными реактивами (алюминия хлорида раствор спиртовой 5%, аммиака пары) [53].

Для количественного определения суммы флавоноидов в щавеля кислого траве методом дифференциальной спектрофотометрии разрабатывали методику.

Для этого изучали влияние условий экстракции на выход флавоноидов из сырья: экстрагент, размер частиц сырья, соотношение «сырье - экстрагент», температура, кратность и продолжительность экстракции. Подбирали оптимальные условия для проведения реакции комплексообразования: концентрация алюминия хлорида раствора спиртового, время реакции комплексообразования, соотношение «аликвота – алюминия хлорида раствор спиртовой».

Далее определяли количественное содержание гидроксикоричных кислот методом СФМ по Фирордту. Для этого 1 мл спиртового извлечения травы щавеля кислого помещали в мерную колбу объемом 25 мл, доводили до метки спиртом этиловым 70%. Оптическую плотность спиртового извлечения измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны 320 ± 1 нм. Расчет производили по удельному показателю поглощения в пересчете на феруловую кислоту [90].

2.2.3.2. Определение дубильных веществ

Для обнаружения дубильных веществ готовили водное извлечение из щавеля кислого травы в соотношении 1:100 при нагревании на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение процеживали без охлаждения [16].

Дубильные вещества идентифицировали с помощью следующих химических реакций: с желатина раствором 1%, с хинина хлорида раствором 1%, с железоаммонийных квасцов раствором 1%, реакция Стиасни (с кислотой хлористоводородной разведенной и формальдегида раствором 40%), с кислоты уксусной раствором 10% и свинца ацетата среднего раствором 10%, с ванилина раствором в хлористоводородной кислоте концентрированной 1% (реакция Запрометова) [16].

Далее исследовали дубильные вещества **методом ТСХ**. На хроматографические пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-В» наносили извлечения травы щавеля кислого и 0,05% растворы РСО эпигаллокатехингаллата (ООО «Фитопанацея», Россия), галловой кислоты, танина и эллаговой кислоты («Sigma-Aldrich», США).

Использовали несколько систем растворителей, подбирали систему с оптимальной разделяющей способностью (таблица 3) [13, 71, 128, 148].

Таблица 3 - Системы для исследования дубильных веществ методом ТСХ

№	Система растворителей	Соотношение растворителей
1	спирт н-бутиловый - уксусная кислота концентрированная - вода	10:3:7
2	спирт н-бутиловый - уксусная кислота концентрированная - вода	4:1:1
3	спирт амиловый – уксусная кислота концентрированная – вода	2:1:1
4	бензол - уксусная кислота концентрированная	1:1
5	изопропиловый эфир – ацетон – муравьиная кислота концентрированная	5:4:1

После хроматографирования пластинки сушили на воздухе. Хроматограммы проявляли железоммонийных квасцов раствором 1% и ванилина 1% раствором в хлористоводородной кислоте концентрированной [45, 185].

Количественное определение дубильных веществ проводили титриметрически методом перманганатометрии и методом спектрофотометрии окрашенных продуктов реакции комплексообразования дубильных веществ с ЖТР в среде фосфатного буфера (рН = 8) [18, 30, 44].

Метод перманганатометрического титрования применялся в двух вариантах: по Левенталю – Курсанову в соответствии с ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ XIV издания и «желатиновый» метод (перманганатометрия по Левенталю – Курсанову после осаждения дубильных веществ желатином) [18, 30, 44].

Спектрофотометрическое определение суммы дубильных веществ проводили по следующей методике: около 1,0 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещали в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 70 мл воды очищенной и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 200 мл. Шрот заливали 30 мл воды очищенной и извлечение дубильных веществ

продолжали при тех же условиях в течение 15 мин. После охлаждения извлечение фильтровали в ту же колбу и доводили объем раствора водой очищенной до метки (раствор А). В мерную колбу на 50 мл отмеривали 10 мл раствора А, прибавляли 5 мл фосфатного буферного раствора (рН 8,2), 12,5 мл железо - тарtratного реактива, доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора РСО галловой кислоты, приготовленный аналогично исследуемому раствору.

Оптическую плотность полученных растворов измеряли через 10 минут на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны 545 ± 1 нм.

Раствор сравнения готовили следующим образом: в мерную колбу на 50 мл добавляли 5 мл фосфатного буферного раствора (рН 8,2), 12,5 мл железо - тарtratного реактива и довели до метки водой очищенной.

Вышеприведенную методику модифицировали. Для этого изучали влияние условий экстракции на выход дубильных веществ из сырья: экстрагент, размер частиц сырья, соотношение «сырье - экстрагент», температура, кратность и продолжительность экстракции. Подбирали оптимальные условия для проведения реакции комплексообразования: время реакции комплексообразования, соотношение «аликвота – железо-тарtratный реактив».

Количественное определение катехинов

Количественное определение катехинов осуществлялось методом СФМ окрашенных продуктов реакции катехинов с ванилиновым реактивом.

Методика: около 0,5 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещали в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 20 мл спирта этилового 40% и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут. Содержимое колбы охлаждали и фильтровали в мерную колбу на 50 мл. Раствор доводили спиртом этиловым

40% до метки (раствор А). 5 мл раствора А помещали в мерную колбу на 25 мл доводили до метки ванилина раствором 1% в хлористоводородной кислоте концентрированной.

Оптическую плотность полученного раствора измеряли через 5 минут на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны 505 ± 1 нм. В качестве раствора сравнения использовали 5 мл спирта этилового 40%, доведённого ванилина раствором в концентрированной соляной кислоте 1% до метки в мерной колбе на 50 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность 0,01% раствора стандартного образца эпигаллокатехин галлата, приготовленного аналогично исследуемым растворам.

Количественное содержание катехинов рассчитывали в пересчете на эпигаллокатехин галлат [46].

2.2.3.3. Определение антраценопроизводных

Для проведения качественного анализа антраценпроизводных щавеля кислого травы получали извлечение при соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%. Экстракцию проводили на водяной бане с обратным холодильником в течение 60 мин [75].

Обнаружение антраценпроизводных в извлечениях проводили с использованием следующих качественных реакций: реакция сублимации, реакция Борнтрегера [75].

Разделение и идентификацию антраценпроизводных проводили методом ТСХ. На хроматографические пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-В» наносили спиртовое извлечение травы щавеля кислого и 0,1% растворы РСО фисциона, реина, хризофаноловой кислоты («Sigma-Aldrich», США). Для установления оптимальной разделяющей способности использовали несколько систем растворителей (таблица 4) [58, 75, 185].

Таблица 4 - Системы для исследования антраценпроизводных методом ТСХ

№	Система растворителей	Соотношение растворителей
1.	хлороформ – спирт этиловый	4:1
2.	спирт н-пропиловый - этилацетат - уксусная кислота ледяная - вода очищенная	40:40:1:29
3.	бензол - ацетон - вода очищенная	4:1:2
4.	эфир петролейный - этилацетат - муравьиная кислота	75:25:1

После хроматографирования пластинки обрабатывали калия гидроксида раствором спиртовым 5% [185].

Определение **количественного содержания антраценпроизводных** в сырье осуществляли методом СФМ по реакции взаимодействия антраценпроизводных с щелочно-аммиачным раствором по следующей методике: около 1,0 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70 %. Колбу закрывали пробкой и взвешивали с точностью до $\pm 0,01$ г, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 90 мин. Затем охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр (раствор А). 1,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивали и нагревали в течение 15 минут на кипящей водяной бане с обратным холодильником (раствор Б).

После охлаждения измеряли оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны 520 ± 1 нм.

Раствор сравнения готовили следующим образом: в мерную колбу на 50 мл отмеривали 1 мл спирта этилового 70 % и доводили до метки щелочно-аммиачным раствором. Затем раствор нагревали в течение 15 минут на кипящей водяной бане с обратным холодильником.

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на эмодин вычисляли с использованием удельного показателя поглощения эмодинна с щелочно – аммиачным раствором [59, 151].

2.2.3.4. Определение кумаринов

Кумарины в щавеля кислого траве исследовали в хлороформном извлечении, которое готовили в соотношении 1:10. Экстракцию проводили при нагревании на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 15 минут [16].

Полученное извлечение просматривали в УФ-свете при длинах волн 254 нм и 365 нм. Отмечали характер флюоресценции.

Проводили следующие качественные реакции на кумарины: лактонная проба, реакция сублимации, реакция образование азокрасителя [16].

Количественное определение кумаринов в щавеля кислого траве осуществляли методом СФМ.

Методика: около 2,0 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл хлороформа и экстрагировали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 2 часов при постоянном перемешивании. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр. К 20 мл фильтрата прибавляли 1 г натрия хлорида. Смесь встряхивали в течение 5 минут, затем фильтровали. Фильтрат упаривали в фарфоровой чашке на кипящей водяной бане досуха. Сухой остаток растворяли в 10 мл спирта этилового 96%, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл. Объем доводили до метки спиртом этиловым 96%. 5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем до метки спиртом этиловым 96% (исследуемый раствор).

Оптическую плотность исследуемого раствора измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны 272 ± 1 нм, используя в качестве раствора сравнения спирт этиловый 96%.

Количественное содержание суммы кумаринов производили в пересчёте на кумарин и на абсолютно сухое сырьё. Для расчётов использовали удельный показатель кумарина в спирте этиловом 96% [16].

2.2.3.5. Разделение и идентификация комплекса фенольных соединений методом ВЭЖХ

Исследование фенольных соединений методом ВЭЖХ проводили на хроматографе «МилиХром А-02» с УФ-детектором («ЭкоНова», Новосибирск, Россия).

Условия хроматографирования: колонка ProntoSIL 120-5C18AQ, $2,0\times 75$ мм. Подвижная фаза: элюент А – раствор трифторуксусной кислоты (ТФУК) водный 0,01%; элюент Б – 100% ацетонитрил. Скорость подачи элюента 100 мкл/мин, объем пробы – 2 мкл, температура колонки 35°C ; градиент 5 – 55% элюента Б за 30 мин. Детектирование веществ проводили при длинах волн 220, 254, 268, 300, 324, 360 нм. Обработку хроматограмм проводили с помощью ПО «МультиХром для Windows» [109].

Соединения идентифицировали по временам удерживания (τ , мин) и спектральным характеристикам (λ_{max}) путём сравнения с аналогичными показателями СО и литературными данными [53, 75, 164, 184].

Получали спиртовые извлечения, используя в качестве экстрагента спирт этиловый 70% в соотношении 1:10, продолжительность экстракции – 30 мин при нагревании на водяной бане с обратным холодильником. Спиртовые извлечения выпаривали досуха, к сухому остатку добавляли 5 мл горячей воды очищенной и после охлаждения дважды экстрагировали 5 мл гексана для очистки от липофильных веществ.

Для определения природы гликозидной связи проводили гидролиз по следующей методике: 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в

колбу с притертой крышкой объемом 100 мл, добавляли 25 мл спирта этилового 70% и экстрагировали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 45 минут. Извлечение охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 25 мл, доводили объем до метки спиртом этиловым 70%. Гидролиз проводили следующим образом: помещали 5 мл в коническую колбу на 50 мл, добавляли 5 мл смеси спирт этиловый 95% - вода очищенная - хлористоводородная кислота концентрированная (25:20:5) и нагреванием на водяной бане в течении 60 минут. Гидролизат фильтровали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили спиртом этиловым 70% до метки. 10 мл полученного гидролизата разводили водой очищенной в соотношении 1:2 и реэкстрагировали 10 мл эфира диэтилового. Реэкстракцию повторяли 5 раз. Объединенный реэкстракт промывали водой очищенной до слабокислого значения pH водных смывов и упаривали на водяной бане до суха. Сухой остаток растворяли в 3 мл спирта этилового 95% (реэкстракт). Реэкстракт гидролизата анализировали методом ВЭЖХ [82].

2.2.3.6. Определение аминокислот

Обнаружение аминокислот проводили водном извлечении из щавеля кислого травы, которое готовили в соотношении 1:10 при нагревании на водяной бане в течение 10 мин. Проводили реакцию с нингидрина раствором ацетоновым 0,25% [16].

Разделение и дальнейшую идентификацию аминокислот осуществляли методом ТСХ. Для этого водное извлечение упаривали на водяной бане до сухого остатка, растворяли в 1 мл спирта этилового 70%. На линию старта хроматографической пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-В» наносили извлечение и растворы РСО аминокислот.

В качестве стандартов использовали 1% растворы следующих аминокислот: DL-лизин солянокислый, L-аргинин солянокислый, DL-метионин, L-глутамин, DL-аспарагиновая кислота, DL-серин, DL-лейцин,

L-глутаминовая кислота, DL- α -аланин, L-аспарагин, DL-валин, L-цистеин, DL- β -аланин.

В ходе работы использовали несколько систем растворителей (таблица 5) [130, 138].

Полученные хроматограммы обрабатывали раствором нингидрина ацетоновым 0,25% с последующим нагреванием в сушильном шкафу при температуре 100 – 105°C в течении 2-3 минут

Таблица 5 - Системы для исследования аминокислот методом ТСХ

№	Система растворителей	Соотношение растворителей
1.	спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода	4:1:2
2.	спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода	12:3:5
3.	спирт этиловый – аммиака раствор 25%	16:4,5

Количественное определение аминокислот осуществляли методом СФМ по реакции взаимодействия аминокислот с раствором нингидрина.

Методика: около 1,0 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл воды очищенной и нагревали с обратным холодильником в течение 30 минут, после чего содержимое колбы охлаждали и фильтровали в мерную колбу на 50 мл. Раствор доводили водой очищенной до метки (раствор А). 1 мл раствора А помещали в мерную колбу на 50 мл и добавляли равное количество свежеприготовленного нингидрина раствора спиртового 1%. Смесь нагревали на водяной бане при температуре 60°C в течение 30 мин. После охлаждения доводили водой очищенной до метки (раствор Б).

Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны 568 $\pm$ 1 нм. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца глутамина, приготовленного аналогично исследуемым растворам.

Количественное содержание аминокислот рассчитывали в пересчете на глутамин [8].

2.2.3.7. Определение органических кислот

Для исследования органических кислот щавеля кислого травы получали водное извлечение в соотношении 1:10 при нагревании на водяной бане в течение 15 мин [16].

На органические кислоты в траве щавеля кислого проводили следующие качественные реакции: на щавелевую кислоту - реакция с сульфата кальция насыщенным раствором, на янтарную кислоту - реакция с резорцином кристаллическим, кислотой серной концентрированной и аммиака раствором 10%, на яблочную кислоту - реакция с α -нафтолом кристаллическим и кислотой серной концентрированной, на муравьиную кислоту - реакция «серебряного зеркала», на молочную кислоту - реакция с калия перманганата раствором, реакция с фенола раствором 2% и железа хлорида раствором 1%, на винную кислоту – с аммония молибдата раствором 20% и водорода перекиси раствором 0,2% [16].

Разделение и дальнейшую идентификацию органических кислот проводили методом ТСХ.

Водные извлечения из щавеля кислого травы и 0,1% растворы СО (ЗАО «Вектон») щавелевой, яблочной, янтарной, винной и молочной и лимонной кислоты наносили на пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-В». Хроматографирование проводили восходящим способом в нескольких системах растворителей (таблица 6) [101, 108].

Таблица 6 - Системы для исследования органических кислот методом ТСХ

№	Система растворителей	Соотношение растворителей
1.	спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода	4:1:2
2.	спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода	12:3:5
3.	спирт этиловый – аммиака раствор 25%	16:4,5

После хроматографирования пластинки высушивали на воздухе. Детектирование органических кислот проводили с помощью метилового красного спиртового раствора 0,2%.

Разделение и идентификацию органических кислот осуществляли на микроколоночном жидкостном хроматографе «МилиХром А-02» с УФ-детектором. Условия хроматографирования: колонка ProntoSIL 120-5C18AQ, 2,0×75мм. Подвижная фаза: элюент А - фосфорной кислоты раствор 0,05М; элюент Б – ацетонитрил : фосфорной кислоты раствор 0,1М (1:1). Скорость подачи элюента 100 мкл/мин, объем пробы – 2 мкл, температура колонки 35°C; градиент 2 – 30% элюента Б за 10 мин. Детектирование веществ проводили при длинах волн 200, 210, 220, 260 нм. Обработку хроматограмм проводили с помощью ПО «МультиХром для Windows». Соединения идентифицировали по временам удерживания (τ , мин) [144]. В качестве СО использовали растворы органических кислот 0,2% (ЗАО «Вектон»): аскорбиновой, лимонной, щавелевой, яблочной, янтарной, галловой и малеиновой.

Количественное определение суммы органических кислот в сырье проводили титриметрическим методом.

Методика: около 5,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 2 мм помещали в колбу вместимостью 100 мл, заливали 40 мл воды очищенной и экстрагировали в течение 2 часов на кипящей водяной бане. Затем извлечение охлаждали, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем извлечения водой очищенной до метки. 2 мл извлечения, помещали в колбу на 100 мл, добавляли 13 мл свежепрокипяченной воды очищенной, 1 мл метиленового синего раствора 0,1%, 1 мл фенолфталеина раствора спиртового 1% и титровали раствором натрия гидроксида 0,1М до появления в пене лилово-красной окраски.

Расчет количественного содержания органических кислот проводили в пересчете на щавелевую кислоту [86].

2.2.3.8. Определение аскорбиновой кислоты

Для обнаружения аскорбиновой кислоты в траве щавеля кислого проводили реакцию с натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолята раствором 0,04%, реакцию серебряного зеркала [16].

Дальнейшую идентификацию аскорбиновой кислоты осуществляли методом ТСХ в система этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20) [31].

После хроматографирования пластинку обрабатывали 2,6 – дихлорфенолиндофенолята натрия раствором 0,04%.

Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты проводили титриметрическими методом ФС.2.5.0106.18 [31].

2.2.3.9. Определение комплекса липофильных соединений

Для анализа комплекса липофильных соединений готовили гексановое извлечение в соотношении 1:10, время экстракции - 3 часа [16].

Для обнаружения липофильных БАС в траве щавеля кислого проводились следующие качественные реакции: хлорофилл определяли по способности флюоресцировать в УФ свете, витамин Е идентифицировали по реакции с кислотой азотной концентрированной, витамин А и каротиноиды - по реакции Карра – Прайса, витамина К₁ - по реакции с 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия раствором водным в щелочной среде калия гидроксида [16, 100].

Затем проводили разделение и идентификацию методом ТСХ. На линию старта пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-В» наносили н-гексановое извлечение из сырья и СО липофильных соединений. В качестве СО использовали 0,1% гексановые растворы РСО β - каротина и α – токоферола.

Для хроматографирования использовали несколько систем растворителей (таблица 7) [106, 130].

Таблица 7 - Системы для исследования липофильных соединений методом ТСХ

№	Система растворителей	Соотношение растворителей
1.	бензол – петролейный эфир	1:1
2.	гексан – диэтиловый эфир	80:20
3.	гексан - хлороформ	3:1

Идентификацию веществ на хроматограммах осуществляли по характерной окраске зон и величинам R_f в видимом свете и после проявления фосфорномолибденовой кислоты раствором 5% спиртовым.

Для идентификации витамина K_1 использовали систему бензол – петролейный эфир 1:1 [126]. В качестве СО использовали 0,1% гексановый раствор РСО витамина K_1 .

Витамин K_1 на хроматограмме детектировали по характерной окраске пятна в УФ-свете при длине волны 360 нм (желто-зеленая флюоресценция) и по совпадению R_f с пятном СО.

Количественное определение суммы липофильных соединений осуществляли методом гравиметрии.

Методика: около 5,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 5 мм, помещали в коническую колбу емкостью 100 мл с притертой пробкой, добавляли 25 мл н–гексана и взвешивали. Экстракцию липофильных соединений проводили при периодическом перемешивании в течение 24 часов. Колбу взвешивали и доводили н–гексаном до первоначального веса. Гексановое извлечение отделяли, фильтровали через бумажный фильтр. Далее 10 мл фильтрата помещали в выпарительную чашку, упаривали извлечение на водяной бане. Остаток доводили до постоянной массы в сушильном шкафу при 100–105°C. Чашку охлаждали в эксикаторе в течение 30 мин над кальция хлоридом безводным, после чего взвешивали [20].

Количественное содержание хлорофиллов и каротиноидов определяли методом СФМ, который позволяет определять каротиноиды и хлорофиллы при их совместном присутствии [68].

Методика: около 0,3 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром 5 мм, помещали в коническую колбу объемом 100 мл, заливали 15 мл ацетона, закрывали пробкой и выдерживали при комнатной температуре при периодическом встряхивании в течение 48 часов. Ацетоновое извлечение фильтровали в мерные колбы объемом 25 мл (растворы А). 2 мл раствора А помещали в пикнометры на 10 мл и доводили до метки. Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240. Каротиноиды определяли при длине волны 450 ± 1 нм, хлорофиллы - 660 ± 1 нм. В качестве раствора сравнения использовали чистый растворитель.

Расчет производили по закону Бугера – Ламберта – Бера с использованием удельных показателей поглощения пигментов в определенных растворителях [68].

Количественное содержание витамина K_1 определяли хроматоспектрофотометрическим методом по Кавтарадзе Н. Ш [47].

Методика: около 1,0 г сырья (точная навеска) помещали в колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, приливали 10 мл гексана и экстрагировали, встряхивая в течение 1 часа. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр. Экстракцию сырья повторяли еще трижды. Объединенные извлечения сгущали до 2 мл. Остаток количественно переносили в мерную колбу объемом 10 мл и доводили растворителем до метки.

На пластинку «Sorbfil ПТСХ-П-В» наносили 0,15 мл полученного извлечения в виде полосы шириной 15 мм. Хроматографию проводили восходящим способом в системе бензол - петролейный эфир (1:1). После прохождения фронтом растворителя примерно 13 см, пластинку вынимали, сушили на воздухе до удаления запаха растворителя и разрезали на 2 части.

Одну полосу проявляли в УФ свете при длине волны 365 нм, отмечали положение витамина K₁. Затем, используя проявленную полосу, на непроявленной отмечали зону, соответствующую витамину K₁. С отмеченных участков пластинок соскабливали сорбент в колбы, элюировали гексаном дважды (по 2 и 3 мл гексана), встряхивая по 5 мин. Объединенные элюаты фильтровали через бумажный фильтр. Оптическую плотность объединенных элюатов измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 при длине волны 250±1 нм. В качестве раствора сравнения использовали гексан [47].

2.2.3.10. Определение сапонинов

Готовили водное извлечение в соотношении 1:10, нагревая измельчённое сырьё на водяной бане в течение 10 мин [16].

Извлечение после охлаждения фильтровали, проводили обнаружение сапонинов с помощью реакции пенообразования, реакции Лафона, реакций со свинца ацетата раствором, натрия нитрата раствором, холестерина раствором спиртовым [16].

2.2.3.11. Определение углеводов

Готовили водные извлечения из травы щавеля кислого, соотношение 1:10. Для подтверждения наличия сахаров в извлечениях проводили реакцию с реактивом Фелинга, реакцию серебряного зеркала, реакцию Молиша. Наличие полисахаридов подтверждали путём их осаждения спиртом этиловым 96%. Крахмал идентифицировали по реакции с раствором Люголя; слизи – по реакции с раствором щёлочи [16].

Состав моносахаридов изучали методом ТСХ. Исследовали водное извлечение и гидролизат водного извлечения. Гидролиз проводили хлористоводородной кислоты раствором 3,5% [82]

На линии старта хроматографических пластинок «Sorbfil ПТСХ-II-B» наносили исследуемые растворы и 0,1% растворы РСО моносахаридов

(ЗАО «Вектрон»): D(+)-мальтозы, D(+)-глюкозы, D(+)-галактозы, L(+)-арабинозы и D(+)-ксилозы.

Использовали несколько систем растворителей, подбирали систему с лучшей разделяющей способностью (таблица 8) [14, 36, 38].

Таблица 8 - Системы для исследования моносахаридов методом ТСХ

№	Система растворителей	Соотношение растворителей
1.	этилацетат – уксусная кислота концентрированная – муравьиная кислота - вода	18:3:1:4
2.	спирт н-бутиловый – пиридин - вода	6:4:3
3.	спирт н-бутиловый – ацетон - вода	4:5:1
4.	спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная - вода	4:1:5

Хроматограммы высушивали на воздухе, обрабатывали натрия карбоната раствором 20% и пикриновой кислоты раствором 1%, нагревали в сушильном шкафу при 100-105°C [110].

Количественное определение суммы водорастворимых полисахаридов в щавеля кислого траве проводили методом гравиметрии согласно ГФ XIV издания ФС.2.5.0032.15 [31].

2.2.4. Валидация методик количественного определения

Валидацию методик количественного определения флавоноидов и дубильных веществ проводили согласно ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ XIV издания и общепринятым методикам по следующим показателям: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность [29, 37, 72, 135].

Специфичность (селективность) методики определяли путем анализа спектров поглощения раствора стандартного образца, извлечения из травы щавеля кислого и раствора «плацебо». Критерием приемлемости специфичности методики считается совпадение максимумов поглощения

раствора СО и извлечения из травы щавеля кислого и отсутствием максимумов в спектре поглощения раствора «плацебо».

Линейность методики устанавливали путем анализа растворов нескольких уровней концентрации (50, 75, 100, 125, 150%) от номинального содержания флавоноидов или дубильных веществ в щавеля кислого траве.

Экспериментальные данные обрабатывали методом наименьших квадратов, составляли уравнение регрессии. Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции (r), который должен быть не менее 0,99. При условии, что его значение близко к единице, то совокупность анализируемых данных можно описать прямой линией.

Аналитическую область методики определяли по интервалу экспериментальных данных полученных и удовлетворяющих линейную модель. Критерием приемлемости является диапазон применения аналитической методики, который должен составлять 80 - 120% от номинального содержания флавоноидов или дубильных веществ в сырье.

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания флавоноидов или дубильных веществ в извлечениях, полученных путем добавления необходимого количества раствора СО соединения, на которое ведется пересчет. Критерием приемлемости правильности методики является открываемость (R , %), скорректированная на 100%, средняя величина которой должна быть в пределах $100 \pm 5\%$, относительное стандартное отклонение (RSD , %).

Повторяемость (сходимость) методики проверяли путем анализа в соответствии с валидируемой методикой извлечений из 6 навесок травы щавеля кислого в пределах короткого промежутка времени, с применением одинакового набора реактивов и с участием одного и того же исследователя. Внутрिलाбораторную (промежуточную) прецизионность определяли, как описано выше в условиях той же лаборатории, но в разные дни и с участием разных исследователей. Критерий приемлемости выражается величиной

относительного стандартного отклонения (RSD, %), которое не должно превышать 2% и 5% соответственно.

2.2.5. Определение показателей доброкачественности сырья

Определение влажности, содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, содержание сырья, изменившего свою окраску, содержание органической и минеральной примеси, содержание экстрактивных веществ проводили согласно методикам ГФ XIV издания, количественное определение флавоноидов и дубильных веществ – согласно разработанными и валидированным методикам [29, 30].

2.2.6. Определение сроков годности сырья

Срок годности щавеля кислого травы устанавливали по результатам анализа пяти серий сырья, заложенного на хранение в 2016 году. Сырьё упаковывали в картонные коробки. Хранили в защищенном от света месте при комнатной температуре и относительной влажности $60 \pm 5\%$.

Анализ проводили через каждые 6 месяцев по показателям, предлагаемым для стандартизации сырья: влажность, зола общая, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, внешний вид сырья, в т.ч. содержание сырья, изменившего свою окраску, количественное содержание флавоноидов и дубильных веществ.

2.2.7. Методы фармакологических исследований

Исследования выполняли в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (г. Страсбург, 1986 г.), Приказом Минздрава России от 01.04.2016 №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» и согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012) [88].

Изучение **острой токсичности** проводили на здоровых белых мышах обоего пола массой около 30 г. Животным опытной группы вводили настой травы щавеля кислого. Введение проводили внутривентрикулярно с помощью зонда в дозах 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг, 2500 мг/кг. Состояние животных опытной группы фиксировали через 4 часа, 24 часов и 48 часов после введения извлечения, сравнивая с состоянием животных в контрольной группе [88].

Для оценки **противовоспалительной активности** настоя определяли его влияние на различные стадии воспаления.

Противовоспалительную активность при остром воспалении исследовали на модели острого воспаления после двухнедельного введения настоя из щавеля кислого травы в дозе 100 мг/кг. Объем настоя, необходимый для введения лабораторным животным на один прием, рассчитывали в миллилитрах на массу тела животного с учетом содержания экстрактивных веществ настоя травы щавеля кислого, выраженных в миллиграммах на миллилитр настоя (мг/мл).

Исследования проводили на 30 крысах линии Wistar обоего пола массой тела 200-250 г, которые были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой. Животные опытной группы получали на протяжении 14 дней настой травы щавеля кислого в дозе 100 мг/кг, группы сравнения – ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг/кг, контрольной группы – эквивалентное настою количество воды очищенной. Последнее введение настоя осуществлялось за 1 час до инъектирования флогистика. Последнее введение настоя осуществлялось за 1 час до инъектирования флогистика [88].

Острое экссудативное воспаление индуцировали субплантарным введением 0,1 мл раствора каррагенина 1% [3].

Измерение объема правой задней конечности проводили на цифровом плетизмометре LE 7500 («Panlab S.L.», Италия) после курса применения

настоя до инъекции флогистика, а также через 60, 120 и 240 мин после инъекции. Параллельно измеряли объём конечностей животных контрольной группы [88].

На основании данных среднего прироста объема конечности животных рассчитывали степень противовоспалительной активности (X, %) по формуле

$$X = \frac{V_k - V_o}{V_k} * 100\%, \text{ где} \quad (1)$$

V_k – средний прирост объема конечности в контроле, см³;

V_o – средний прирост объема конечности в опыте, см³.

Активность настоя при **хроническом пролиферативном воспалении** изучали на модели воспалительной «хлопчатобумажной гранулемы».

Исследования проводили на 30 крысах линии Wistar обоего пола массой тела 200-250 г, которые были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой. Наркотизированным крысам в области спины тщательно выстригали шерсть и в асептических условиях делали продольные разрезы кожи и подкожной клетчатки длиной 1-2 см. Формировали в подкожной клетчатке полости и помещали в них стерильные хлопчатобумажные шарики массой 10 мг. Рану послойно зашивали и обрабатывали спиртовым раствором йода. Ежедневно, со дня операции в течение двух недель прооперированным животным вводили внутривентрально настой травы щавеля кислого в дозе 100 мг/кг. Объем настоя, необходимый для введения лабораторным животным за один прием, рассчитывали в миллилитрах с учетом содержания экстрактивных веществ в сырье. Контрольной группе животных вводили эквивалентные количества воды очищенной в аналогичном режиме. Группе сравнения вводили ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг/кг. Затем производили эвтаназию животных, тампоны с образовавшейся вокруг них грануляционной

тканью извлекали и определяли массу влажной и высушенной при температуре 60°C до постоянной массы гранулемы. Массу грануляционно – фиброзной ткани определяли по разнице между массами гранулемы и марлевого имплантата. Величина прироста массы шариков служила показателем степени развития гранулематозной ткани [88].

Антиоксидантную активность определяли скрининговым методом *in vitro* по способности БАС настоя из ЛРС ингибировать аутоокисление адреналина и, следовательно, предотвращать образование активных форм кислорода [89].

Мерой оценки интенсивности аутоокисления адреналина служит количество продукта окисления адреналина, поглощающего при длине волны 347 нм [89].

Для сравнения использовали настой травы горца птичьего – растения семейства гречишные, содержащего аналогичный щавеля кислого траве комплекс БАС, включающий флавоноиды, аскорбиновую кислоту, дубильные вещества. Настой травы горца птичьего обладает антиоксидантной активностью.

К 8 мл натрий-карбонатного буфера 0,2 М (рН = 10,65) добавляли 0,4 мл адреналина гидрохлорида раствора 0,1%, перемешивали, помещали в кювету толщиной 10 мм, измеряли оптическую плотность на спектрофотометре через каждые 30 секунд в течении 10 минут. Далее к 8 мл буфера (рН=10,65) добавляли 0,12 мл настоя и 0,4 мл адреналина гидрохлорида раствора 0,1%, перемешивали и измеряли оптическую плотность, как описано выше. Для исключения влияния собственной окраски настоя в качестве контрольной пробы использовали аликвоту настоя с добавлением буфера. Исследование проводили при длине волны 347 нм на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 [89].

Антиоксидантную активность (АОА) настоя рассчитывали в процентах по формуле:

$$АОА = \frac{(A_1 - A_2)}{A_1} * 100\%, \text{ где} \quad (2)$$

A_1 – оптическая плотность раствора адреналина с добавлением буфера (рН=10,65);

A_2 – оптическая плотность раствора адреналина с добавлением буфера (рН=10,65) и настоя из ЛРС [89].

2.2.8. Статистическая обработка результатов исследований

Статистическую обработку результатов эксперимента осуществляли согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» и ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами» ГФ XIV изд. с использованием ПО «Microsoft Excel», статистического пакета «Statistica 7.0» [29].

ГЛАВА III ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЩАВЕЛЯ КИСЛОГО ТРАВЫ

Настоящая глава посвящена результатам фитохимического изучения щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края.

Данные о составе комплекса БАС щавеля кислого травы позволяют судить о целесообразности и перспективах использования в качестве ЛРС в медицинской практике.

Для установления присутствия в щавеля кислого траве различных групп БАС водные, водно-спиртовые и гексановые извлечения из сырья анализировали химическими и физико-химическими методами анализа (ТСХ, ВЭЖХ, СФМ) по общепринятым методикам на наличие фенольных соединений, аминокислот, органических кислот, аскорбиновой кислоты, углеводов, сапонинов, липофильных соединений.

Количественное определение БАС в сырье проводили титриметрическими и физико-химическими методами (СФМ).

3.1. Фенольные соединения

3.1.1. Флавоноиды и фенолокислоты

Для получения предварительной информации о составе флавоноидов щавеля кислого травы проводили качественные реакции. Для этого из сырья получали спиртовые извлечения с использованием спирта этилового 70% в соотношении 1:10. Время экстракции – 30 мин при нагревании на водяной бане с обратным холодильником [16].

В результате проведенных реакций: цианидиновая проба, проба Брианта, борно-лимонная, с аммиака раствором 10%, со свинца (II) ацетата основного раствором 1% сделали предположение о наличии в щавеля кислого траве флавоноидов групп флавонола, флавона, флаванона в виде гликозидов и агликонов (таблица 9) [116].

Таблица 9 - Результаты качественных реакций на группы БАС в щавеля кислого траве

Реактив (реакция)	Группа БАС	Результат реакции
<i>Флавоноиды</i>		
Цианидиновая проба	Флавонолы, флавоны, флаваноны (от розового до малинового окрашивание)	Розовое окрашивание
Проба Брианта	Агликоны флавоноидов (окраска органического слоя в розовый цвет) Гликозиды флавоноидов (окраска водной фазы в розовый цвет)	Окрашивание органического слоя и водного слоя в розовый цвет
Борно-лимонная реакция (реакция Вильсона)	5-оксифлавоны, 5-оксифлавонолы (жёлто-зелёная флюоресценция)	Жёлто-зелёная флюоресценция
Аммиака раствор 10%	Халконы, ауруны (красное окрашивание); флавонолы, флавоны, флаваноны, флаванолы (жёлтое окрашивание, переходящее при нагревании в оранжевое); антоцианы (синее окрашивание)	Жёлтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое
Свинца (II) ацетата основного раствор 1%	Флавоны, халконы, ауруны (жёлтый осадок); антоцианы (красный или синий осадок)	Образование жёлтого осадка
Ванилина раствор в концентрированной хлористоводородной кислоте 1% (реакция Запрометова)	Флороглюцин и его фрагменты в структуре флавоноидов (красно – фиолетовое окрашивание); пирокатехин и его фрагменты в структуре флавоноидов (бледно – розовое после нагревания); димеры флавоноидов (малиновый); флаван-3,4-диолы (красный или оранжевый после нагревания при 105°C); флавоны, флавонолы (ярко - желтый); эфиры катехинов (розовый); галлокатехины (ярко - красный)	Ярко - красный
<i>Дубильные вещества</i>		
Желатина раствор 1%	Гидролизуемые, конденсированные (опалесценция, исчезающая при добавлении избытка реактива)	Опалесценция, исчезающая при добавлении избытка реактива
Хинина хлорида раствор 1%	Гидролизуемые, конденсированные (белый осадок)	Белый осадок
Железоаммонийных квасцов раствор 1%	Гидролизуемые (темно – синее окрашивание), конденсированные (темно – зеленое окрашивание)	Темно – коричневое окрашивание
Формальдегида раствор 40%, кислота хлористоводородная разведенная (реакция Стиасни)	Конденсированные (осадок кирпично – красного цвета)	Осадок кирпично – красного цвета
Железоаммонийных квасцов раствор 1%, свинца ацетата крист. 0,2 г + фильтрат формальдегидного осадка	Гидролизуемые (темно – синее окрашивание)	-

Продолжение таблицы 9

Свинца ацетата среднего раствор 10%, кислоты уксусной раствор 10%	Гидролизующиеся (белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте) Конденсированные (белый осадок, растворимый в уксусной кислоте)	Белый осадок
Железоаммонийных квасцов раствор 1%, свинца ацетата крист. 0,1 г + фильтрат	Конденсированные (темно – зеленое окрашивание)	Темно – зеленое окрашивание
Натрия нитрат кристаллический, кислоты хлористоводородной раствор 0,1 н	Гидролизующиеся (коричневое окрашивание)	-
Ванилина раствор в концентрированной хлористоводородной кислоте 1% (реакция Запрометова)	Флороглюцин и его фрагменты в конденсированных дубильных веществ (красно – фиолетовое окрашивание); пирокатехин и его фрагменты в структуре конденсированных дубильных веществ (бледно – розовое после нагревания); эфиры катехинов (розовый); галлокатехины (ярко - красный)	Коричневое окрашивание
<i>Антраценпроизводные</i>		
Реакция сублимации	Желтые капли на стенке пробирки, окрашивающиеся в красный или фиолетовый цвет при добавлении гидроксида натрия раствора 10%	Жёлтые капли на стенке пробирки, окрашивающиеся в красный цвет после добавления раствора натрия гидроксида 10%
Реакция Борнтрёгера	1,8 – диоксиантрахиноны (вишнево – красное окрашивание аммиачного слоя); 1,4 – диоксиантрахиноны (пурпурное окрашивание аммиачного слоя); 1,2 – диоксиантрохиноны (фиолетовое окрашивание аммиачного слоя)	Вишнево – красное окрашивание аммиачного слоя
<i>Кумарины</i>		
Реакция сублимации	Жёлтые капли или игольчатые кристаллы на стенке пробирки, флуоресцирующие в УФ свете после добавления гидроксида натрия 10 % раствора (все кумарины)	Жёлтые капли на стенке пробирки, после добавления натрия гидроксида раствора 10 % покраснение сублимата, голубая флуоресценция в УФ свете
Лактонная проба	Выпадение осадка или появление опалесценции, после добавления кислоты хлористоводородной раствора 10% (все кумарины)	Жёлтое окрашивание, опалесценция после добавления кислоты хлористоводородной раствора 10%
Реакция образования азокрасителя (с реактивом Паули по Кутачеку)	Окрашивание от красно – оранжевого до вишнево – красного (окси-, метоксикумарины)	Вишнево – красное окрашивание
<i>Аминокислоты</i>		
Нингидрина раствор 0,25% спиртовой	Темно – фиолетовое окрашивание	Темно – фиолетовое окрашивание

<i>Органические кислоты и аскорбиновая кислота</i>		
Кальция сульфата раствор насыщенный	Щавелевая кислота (осадок белого цвета)	Осадок белого цвета
α – нафтол крист. + кислота серная конц.	Яблочная кислота (желто – зеленая флюоресценция)	Желто – зеленая флюоресценция
Резорцин крист. + кислота серная конц. + аммиака раствор 10%	Янтарная кислота (желто – зеленая флюоресценция)	Желто – зеленая флюоресценция
Аммония молибдата раствор 20% + водорода перекиси раствор 0,2%	Винная кислота (синее окрашивание)	Оранжевое окрашивание
Калия перманганата раствор 3%	Молочная кислота (обесцвечивание раствора)	Обесцвечивание раствора
Фенола раствор 2% + хлорида железа раствор 1%	Молочная кислота (желто – зеленое окрашивание)	Черно – коричневое окрашивание
2,6 – ДХФИФ натрия раствор 0,04%	Аскорбиновая кислота (обесцвечивание синей окраски)	Обесцвечивание синей окраски
Серебра нитрата аммиачный раствор 5%	Аскорбиновая кислота (серебряный налет на стенке пробирки или черный осадок)	Черный осадок
<i>Углеводы</i>		
Реакция «серебряного зеркала» (серебра нитрата аммиачный раствор 2,5%)	Черный или черно-коричневый осадок (восстанавливающие сахара)	Черно – коричневый осадок
Реактив Фелинга	Кирпично-красный осадок (восстанавливающие сахара)	Кирпично-красный осадок
Реакция Молиша (α -нафтола раствор спиртовой 20% + серная кислота конц.)	Фиолетово-розовое окрашивание (крахмал, инулин) Коричневое окрашивание (дисахариды)	Коричневое окрашивание
Реакция осаждения полисахаридов спиртом этиловым 96%	Выпадение хлопьевидного осадка сразу (полисахариды) Выпадение хлопьевидного осадка при стоянии (слизи)	Выпадение хлопьевидного осадка сразу
Натрия гидроксида раствор 30%	Лимонно – желтое окрашивание (слизи)	Красно – коричневое окрашивание
Люголя раствор	Сине – фиолетовое окрашивание (крахмал)	Коричневое окрашивание
<i>Сапонины</i>		
Реакция пенообразования	Равная по объему и стойкости пена в пробирках с подкисленным и подщелоченным извлечением (тритерпеновые сапонины) Пена по объему и стойкости в несколько раз больше в подщелоченном извлечении (стероидные сапонины)	Равная по объему и стойкости пена в пробирках с подкисленным и подщелоченным извлечением
Ацетата свинца раствор 1%	Белый осадок	Белый осадок
Холестерина раствор 1% спиртового	Белый осадок	Белый осадок
Реакция Лафона	Сине – зеленое окрашивание	Темно – зеленое окрашивание
Нитрата натрия раствор 10%, конц. серная кислота	Кроваво – красное окрашивание	Темно – красное окрашивание

Окончание таблицы 9

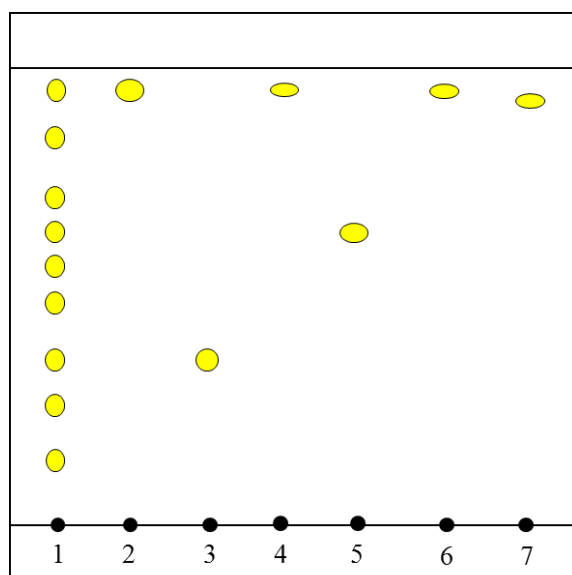
<i>Липофильные соединения</i>		
Детектирование в УФ-свете при $\lambda = 365$ нм	Хлорофиллы (флюоресценция рубинового цвета)	Флюоресценция рубинового цвета
Реакция Карра - Прайса	Каротиноиды и витамин А (сине – зеленое окрашивание)	Сине – зеленое окрашивание
Азотная кислота концентрированная	Витамин Е (красное окрашивание)	Красное окрашивание
2,6 – ДХФИФН + калия гидроксида раствор спиртовой 1%	Витамин К ₁ (изумрудно – зеленое окрашивание)	Изумрудно – зеленое окрашивание

Далее проводили разделение и идентификацию флавоноидов методом ТСХ. В ходе исследования использовали восемь систем растворителей (см. главу II, стр. 30). Подбирали систему с лучшей разделяющей способностью [120].

В результате установлено, что лучшей разделяющей способностью обладает система этилацетат – уксусная кислота концентрированная – вода очищенная (7:1:2). Для детектирования веществ хроматографическую пластинку обрабатывали различными реагентами: алюминия (III) хлорида раствором спиртовым 2% (флавоноиды проявлялись в виде пятен, флюоресцирующих в УФ-свете), парами аммиака (флавоноиды проявлялись в виде ярко - жёлтых пятен) и рассматривали при видимом и УФ-свете ($\lambda = 365$ нм) [120].

После обработки реактивами на хроматограмме обнаружили девять пятен. Рассчитывали значения R_f пятен исследуемого извлечения и СО (кверцетина, рутина, изорамнетина, гиперозида, апигенина, ориентина).

По совпадению с пятнами СО идентифицировано три флавоноида: $R_f = 0,35 \pm 0,01$ - рутин, $R_f = 0,64 \pm 0,01$ - гиперозид и $R_f = 0,95 \pm 0,01$ - кверцетин (рисунок 11, таблица 10) [120].



- 1 – спиртовое извлечение из травы щавеля кислого,
 2 – СО кверцетина,
 3 – СО рутина,
 4 – СО изорамнетина,
 5 – СО гиперозида,
 6 – СО апигенина,
 7 – СО ориентина

Рисунок 11 - Хроматограмма спиртового извлечения из щавеля кислого травы в системе этилацетат – кислота уксусная концентрированная – вода очищенная (7:1:2) после проявления

Таблица 10 - Результаты определения флавоноидов в щавеля кислого траве методом ТСХ в системе этилацетат – кислота уксусная концентрированная – вода очищенная (7:1:2)

Rf	Окраска пятен в УФ-свете до обработки реактивами	Окраска пятна после обработки	
		AlCl ₃ р-ром 1%, УФ - свет	Парами аммиака
Спиртовое извлечение из травы щавеля кислого			
0,16±0,01	Слабо - коричневая	Желтая	Ярко - желтая
0,26±0,01	Слабо - коричневая	Желтая	Ярко - желтая
0,35±0,01	Оранжевый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
0,49±0,01	Коричневая	Желто - зеленая	Ярко - желтая
0,56±0,01	Оранжево - желтый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
0,64±0,01	Красно - оранжевый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
0,71±0,01	Коричневая	Желто - зеленая	Ярко - желтая
0,85±0,01	Оранжево - желтый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
0,95±0,01	Оранжево - желтый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
СО флавоноидов			
СО рутина			
0,36±0,01	Оранжевый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
СО гиперозида			
0,64±0,01	Красно - оранжевый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
СО ориентина			
0,92±0,01	Слабо - коричневая	Желтая	Ярко - желтая
СО кверцетина			
0,95±0,01	Оранжево - желтый	Желто - зеленая	Ярко - желтая
СО изорамнетина			
0,95±0,01	Желто - коричневая	Желто - зеленая	Ярко - желтая
СО апигенина			
0,95±0,01	Желто - коричневая	Желто - зеленая	Ярко - желтая

Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов

Для количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве использовали метод дифференциальной спектрофотометрии. Целесообразность использования данного метода объясняется характером дифференциального спектра комплексов флавоноидов с селективными максимумами поглощения при 390 - 410 нм. Другие группы фенольных соединений не дают характерных максимумов в данной области. При использовании в качестве раствора сравнения раствора извлечения без добавления реактивов исключается влияние сопутствующих фенольных соединений. Для предотвращения возможности ионизации флавоноидов к исследуемым пробам добавляли кислоты уксусной 3% раствор [97].

Методом ТСХ установлено, что комплекс флавоноидов травы щавеля кислого включает рутин, поэтому в качестве стандарта для расчетов суммы флавоноидов использовали стандартный образец (СО) рутина («Sigma-Aldrich», каталожный номер R5143). Готовили спиртовое извлечение щавеля кислого травы и раствор стандартного образца рутина. Проводили реакцию комплексообразования с раствором алюминия хлорида 5% спиртовым. Полученные растворы исследовали методом дифференциальной спектрофотометрии. Оптическую плотность исследуемых растворов, растворов стандартного образца рутина измеряли на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» при длине волны 410 нм, что соответствует максимуму поглощения комплексного соединения рутина с алюминия хлоридом. Сравнивали спектральные характеристики исследуемого и стандартного образцов. Полученные спектры совпадали и максимум поглощения находился при длине волны 409 нм. В растворе «плацебо» максимумы отсутствовали (рисунок 12) [66].

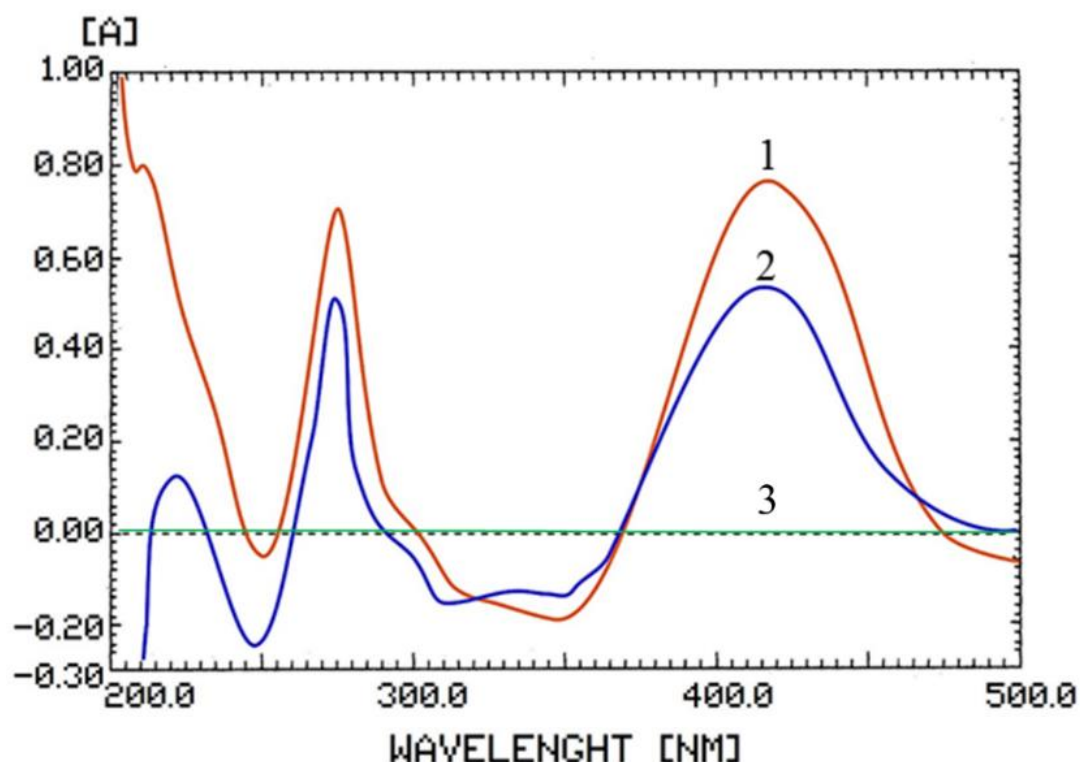


Рисунок 12 - Дифференциальный спектр комплекса СО рутина (1) с алюминия хлоридом и флавоноидов спиртового извлечения из травы щавеля кислого с алюминия хлоридом (2); Спектр раствора «плацебо» (3).

Далее изучали влияние условий экстракции на выход флавоноидов из травы щавеля кислого: экстрагент, размер частиц сырья, соотношение «сырье - экстрагент», температура, кратность и продолжительность экстракции.

Подбирали экстрагент для извлечения суммы флавоноидов из щавеля кислого травы. Траву, измельченную до размера частиц 1-2 мм, экстрагировали водой очищенной и этиловым спиртом различной концентрации (20%, 40%, 70%, 90%) в соотношении 1:30. Экстракцию проводили с обратным холодильником трижды в течении 30 минут при температуре 100°C.

Изучали влияние размера частиц сырья на экстракцию флавоноидов. Щавеля кислого траву измельчали до размера частиц 0,1 - 0,5; 1 - 2; 2,5 - 3; 3,5 - 5 мм. Готовили извлечения с использованием спирта этилового 70% в соотношении 1:30, кратность и продолжительность экстракции - 3 раза в

течении 30 минут на водяной бане с обратным холодильником при температуре 100°C.

Подбирали соотношение «сырье - экстрагент». Готовили извлечения с использованием спирта этилового 70% в соотношении 1:20, 1:30, 1:50, 1:70, 1:90, при размере частиц сырья 1-2 мм, кратность и продолжительность экстракции – 3 раза в течении 30 минут на водяной бане с обратным холодильником при температуре 100°C.

При изучении влияния температуры на полноту экстракции щавеля кислого траву, измельченную до размера частиц 1-2 мм экстрагировали с обратным холодильником спиртом этиловым 70% в соотношении 1:30 на водяной бане нагретой до 20, 40, 60, 80 и 100°C, кратность и продолжительность экстракции – 3 раза в течении 30 минут.

Немаловажным фактором является кратность экстракции. Навеску щавеля кислого травы, измельченную до размера частиц 1-2 мм, одно-, двух-, трех- и четырёхкратно экстрагировали с обратным холодильником спиртом этиловым 70% в соотношении 1:30 на кипящей водяной бане в течении 30 минут.

Определяли как продолжительность экстракции влияет на полноту извлечения флавоноидов из щавеля кислого травы. Щавеля кислого траву, измельченную до размера частиц 1-2 мм, экстрагировали спиртом этиловым 70% в соотношении 1:30. Экстракцию проводили трижды на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течении 20, 30, 40, 50, 60 минут.

Полученные извлечения исследовали методом дифференциальной спектрофотометрии [66].

Установлено, что наиболее полное извлечение флавоноидов из щавеля кислого травы достигается при трехкратной экстракции спиртом этиловым 70% на водяной бане ($t^{\circ}\text{C} = 80-100^{\circ}\text{C}$) при соотношении «сырье - экстрагент» - 1:30 в течение 30 минут со степенью измельчения сырья не более 2,0 мм (таблица 11) [66].

Таблица 11 – Влияние различных факторов на полноту извлечения флавоноидов из щавеля кислого травы

Экстрагент	Размер частиц сырья, мм	Соотношение «сырье-экстрагент»	Продолжительность экстракции, мин	Кратность экстракции	Температура, °С	Сумма флавоноидов (в пересчете на рутин), %		
						$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	ε, %
Экстрагент								
Вода очищенная	1 – 2	1:30	30	3	100	0,45±0,01	0,010	2,67
Спирт этиловый 20%						0,49±0,01	0,012	1,63
Спирт этиловый 40%						0,59±0,01	0,042	0,85
Спирт этиловый 70%						0,63±0,004	0,046	0,63
Спирт этиловый 90%						0,56±0,01	0,053	1,25
Размер частиц сырья								
Спирт этиловый 70%	0,1 - 0,5	1:30	30	3	100	0,45±0,004	0,051	0,89
	1 - 2					0,63±0,01	0,053	0,79
	2,5 - 3					0,59±0,004	0,047	0,67
	3,5 - 5					0,54±0,01	0,058	1,47
Соотношение «сырье - экстрагент»								
Спирт этиловый 70%	1 – 2	1:20	30	3	100	0,57±0,01	0,054	1,40
		1:30				0,63±0,004	0,054	0,63
		1:50				0,60±0,01	0,075	1,66
		1:70				0,56±0,01	0,068	1,61
		1:90				0,54±0,01	0,048	1,29
Температура								
Спирт этиловый 70%	1 – 2	1:30	30	3	20	0,29±0,003	0,044	1,03
					40	0,31±0,01	0,065	2,23
					60	0,44±0,01	0,032	1,60
					80	0,63±0,01	0,076	0,76
					100	0,63±0,01	0,065	0,95
Кратность экстракции								
Спирт этиловый 70%	1 – 2	1:30	30	1	100	0,53±0,01	0,075	1,69
				2		0,54±0,01	0,074	1,48
				3		0,63±0,01	0,043	0,95
				4		0,63±0,01	0,042	0,96
Продолжительность экстракции								
Спирт этиловый 70%	1 – 2	1:30	20	3	100	0,56±0,01	0,064	1,07
			30			0,63±0,01	0,046	1,58
			40			0,63±0,01	0,056	1,37
			50			0,63±0,01	0,048	1,11
			60			0,63±0,01	0,054	0,95

Затем подбирали оптимальные условия для проведения реакции комплексообразования (концентрация алюминия хлорида раствора спиртового, время реакции комплексообразования, соотношение «аликвота – алюминия хлорида раствор спиртовой») [66].

Таблица 12 – Влияние различных факторов на полноту образования комплекса флавоноидов щавеля кислого травы с алюминия хлоридом

Условие проведения реакции		Сумма флавоноидов (в пересчете на рутин), %		
		$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	$S\bar{x}$	$\varepsilon, \%$
Концентрация алюминия хлорида раствора спиртового, %	2	0,54±0,02	0,056	2,76
	3	0,55±0,01	0,061	1,27
	4	0,58±0,02	0,075	2,58
	5	0,63±0,004	0,054	0,63
Соотношение «аликвота : алюминия хлорида раствор спиртовой»	1:0,5	0,41±0,01	0,051	2,43
	1:1	0,45±0,02	0,042	3,33
	1:1,5	0,51±0,01	0,038	1,56
	1:2	0,59±0,01	0,053	1,19
	1:2,5	0,63±0,01	0,037	0,79
Продолжительность комплексобразования, мин	20	0,52±0,01	0,098	1,91
	30	0,60±0,004	0,086	0,67
	40	0,63±0,004	0,075	0,63
	50	0,63±0,01	0,100	1,59
	60	0,63±0,01	0,064	1,27

Оптимальные условия комплексобразования: соотношение «аликвота извлечения:алюминия хлорида раствор спиртовой» - 1:2,5 при использовании в качестве комплексобразователя раствора алюминия хлорида спиртового 5%, появление устойчивой окраски раствора через 40 минут (таблица 12) [66].

На основании проведенных исследований разработана методика количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве.

Методика: около 1,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито размером 2 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта этилового 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут, периодически перемешивая. Охлажденное извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. В колбу для экстрагирования прибавляют 30 мл спирта этилового 70%. Экстракцию повторяют еще дважды, фильтруют извлечение в ту же

мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор А). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл раствора А, 5 мл алюминия хлорида раствора спиртового 5%, доводят объем раствора спиртом этиловым 70 % до метки и перемешивают (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряют через 40 минут на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора и 1 мл кислоты уксусной раствора 3%, доведенный спиртом этиловым 70 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО рутина [66].

Содержание суммы флавоноидов вычисляют в пересчете на рутин [66].

Разработка методики количественного определения предусматривает проведение валидации. Валидацию методики проводили согласно ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ XIV издания и общепринятым методикам (см. главу II, стр.46-47) [29, 37, 72, 135]. Оценивали следующие показатели: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность [66].

В процессе определения специфичности снимали дифференциальные спектры продуктов реакции флавоноидов исследуемого извлечения, СО рутина с алюминия хлоридом и спектры поглощения раствора «плацебо» (спирт этиловый 70%) [66].

Специфичность методики подтверждалась совпадением максимумов поглощения раствора СО и извлечения из травы щавеля кислого (имеют максимумы поглощения при длине волны 410 нм), а также отсутствием максимумов в спектре поглощения раствора «плацебо» (рисунок 11) [66].

Линейность оценивали на нескольких уровнях концентрации от теоретического содержания суммы флавоноидов (в пересчете на рутин, %) в сырье. Отбирали аликвоты извлечения объёмом 1; 1,5; 2; 2,5; 3 мл.

Определяли количественное содержание суммы флавоноидов в полученных растворах в соответствии с валидируемой методикой [66].

Строили график зависимости оптической плотности растворов от количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин (рисунок 13). Уравнение регрессии графика имеет следующий вид: $y = 0,1829x - 0,0007$. Значение коэффициента корреляции стремится к единице ($r=0,9997$), что свидетельствует о наличии линейной зависимости оптической плотности от концентрации флавоноидов в исследуемых растворах в пределах аналитической области методики [66].

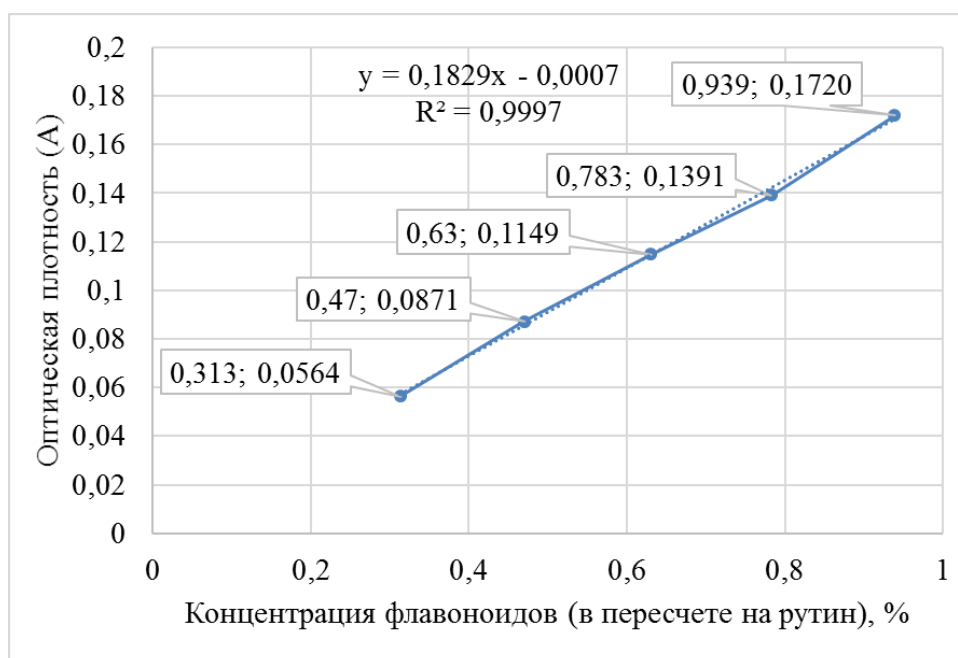


Рисунок 13 - График зависимости оптической плотности от содержания суммы флавоноидов в извлечении из травы щавеля кислого

Аналитическая область методики находится в пределах линейной зависимости и составляет 50 – 150% от номинального содержания флавоноидов в сырье, что удовлетворяет рефератным значениям (80 – 120%) [66].

Для оценки правильности методики определяли количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в растворах, полученных с помощью добавления 0,25 мл, 0,50 мл, 0,75 мл раствора СО рутин 0,05% к исследуемому извлечению. На каждом уровне концентраций определяли количественное содержание суммы флавоноидов в трёх пробах в соответствии с валидируемой методикой. Границы открываемости методики находятся в пределах 98,83 - 100,20%, средняя величина открываемости составила 99,39%. Относительное стандартное отклонение составляет 0,35%, что свидетельствует о высокой степени соответствия между значением расчётного и полученного содержания суммы флавоноидов в исследуемых образцах (таблица 13) [66].

Таблица 13 – Результат оценки правильности методики количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве методом дифференциальной спектрофотометрии

№ п/п	Исходное содержание рутин, мг	Добавлено СО рутин, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Открываемость, %	Метрологические характеристики
1	0,630	0,120	0,756	0,747	98,88	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 99,39 \pm 0,35$; $S_{\bar{x}} = 0,16\%$; $RSD = 0,35\%$
2				0,755	99,84	
3				0,754	99,68	
4	0,630	0,252	0,882	0,872	98,83	
5				0,876	99,36	
6				0,877	99,47	
7	0,630	0,378	1,008	1,010	100,20	
8				0,997	98,91	
9				1,002	99,40	

Прецизионность валидируемой методики оценивали в двух вариантах. Повторяемость (сходимость) методики проверяли путем анализа в соответствии с валидируемой методикой извлечений из 6 навесок травы щавеля кислого, в пределах короткого промежутка времени, с применением

одинакового набора реактивов и с участием одного и того же исследователя. Внутрिलाбораторную (промежуточную) прецизионность определяли, как описано выше в условиях той же лаборатории, но в разные дни и с участием разных исследователей [66].

Таблица 14 – Результат оценки прецизионности спектрофотометрического определения флавоноидов в щавеля кислого траве

№ п/п	Масса навески	Исследователь	Содержание флавоноидов (в пересчете на рутин), %	Метрологические характеристики
Повторяемость (сходимость)				
1	1,221	№1	0,62	P = 95%, n=6, f=5, t(P,f) = 2,57, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 0,62 \pm 0,01$, $S\bar{x} = 0,007$, ε=1,12%, RSD = 1,1%
2	1,095	№1	0,62	
3	1,324	№1	0,63	
4	1,215	№1	0,64	
5	1,078	№1	0,62	
6	1,134	№1	0,62	
Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность				
7	0,998	№1	0,63	P = 95%, n=6, f=5, t(P,f) = 2,57, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 0,63 \pm 0,005$, $S\bar{x} = 0,004$, ε=0,73%, RSD = 0,71%
8	1,102	№1	0,63	
9	1,351	№1	0,63	
10	1,062	№2	0,63	
11	1,265	№2	0,63	
12	0,984	№2	0,62	

Из данных таблицы 14 следует, что величина относительного стандартного отклонения результатов при оценке повторяемости составляет 1,1% (не превышает 2%), при оценке промежуточной прецизионности – 0,71% (не превышает 5%), что свидетельствует о прецизионности методики [66].

В ходе исследования установлено, что методика количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве специфична, зависимость аналитического сигнала (оптической плотности) от концентрации флавоноидов линейна, величины показателей прецизионности и правильности не превышают рекомендуемых значений валидности методики (таблица 15) [66].

Таблица 15 – Валидационная оценка методики количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве методом дифференциальной СФМ

Критерий валидности методики	Полученное значение	Рекомендуемое значение
Специфичность		
Совпадение максимумов поглощения УФ-спектров исследуемого образца и СО	409 нм	410 ± 1 нм
Линейность		
Коэффициент корреляции (r)	0,9997	$R \geq 0,990$
Уравнение регрессии	$y = 0,1829x - 0,0007$	$y = ax+b$
Аналитическая область методики		
% от содержания в сырье	50 - 150	80 - 120
Прецизионность		
<i>Повторяемость (сходимость)</i>		
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	1,1	$RSD \leq 2\%$
<i>Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность</i>		
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	0,71	$RSD \leq 5\%$
Правильность		
Открываемость (R), %	98,83 - 100,20	95 - 105%

Апробацию разработанной методики проводили на сырье, заготовленном на территории Алтайского края в 2016-2018 гг. Установлено, что содержание флавоноидов в щавеля кислого траве колеблется от 0,59 до 0,63% (таблица 33) [66]. Акт апробации методики от 28.02.2019 г. (приложение 13)

Определение количественного содержания фенолокислот в щавеля кислого траве

Количественное определение суммы фенолокислот щавеля кислого травы проводили методом спектрофотометрии при длине волны 320 нм (см. главу II, стр. 31). Расчёты производили, основываясь на принципе аддитивности оптических плотностей, использовали найденное ранее значение суммы флавоноидов.

Установили, что щавеля кислого трава, заготовленная в 2016-2018 гг. содержит 0,40 – 0,61% фенолокислот в пересчёте на феруловую кислоту (таблица 33) [63].

3.1.2. Дубильные вещества

Обнаружение дубильных веществ проводили в водных и спиртовых извлечениях, которые готовили в соотношении «сырье - экстрагент» 1:100 на водяной бане в течении 30 минут [16].

Проводили качественных реакций по общепринятым методикам со следующими реактивами: желатина раствор 1%, хинина хлорида раствор 1%, железоаммонийных квасцов раствор 1%, формальдегида раствор 40% + кислота хлористоводородная разведенная, железоаммонийных квасцов раствор 1% + фильтрат формальдегидного осадка, свинца ацетата средней соли раствор 10% + кислоты уксусной раствор 10%, железоаммонийных квасцов раствор 1% + натрия ацетата 0,1 г + фильтрат, натрия нитрат кристаллический + кислоты хлористоводородной раствор 0,1 н, ванилина раствор 1% в конц. кислоте хлористоводородной (см. главу II, стр. 31).

По результатам реакций, приведенных в таблице 9, предположили, что в исследуемых извлечениях присутствуют гидролизуемые и конденсированные дубильные вещества [116].

Дальнейшее разделение и идентификацию дубильных веществ осуществляли методом ТСХ. Подбирали систему с оптимальной разделяющей способностью. Использовали пять систем растворителей (см. главу II, стр.32). В результате проведенных исследований установлено, что оптимальной разделяющей способностью обладает система спирт н-бутиловый - уксусная кислота концентрированная - вода очищенная (10:3:7). Для обнаружения веществ на хроматограммах использовали железоаммонийных квасцов раствор 1%: гидролизуемые дубильные вещества проявлялись в виде темно – синих пятен, конденсированные - темно-зеленых пятен на желтоватом фоне и ванилина раствором в соляной кислоте концентрированной 1% - катехины проявлялись в виде оранжево –

красных пятен. Идентификацию проводили по окраске пятен и значениям R_f [119].

После обработки ЖАК раствором 1% на хроматограмме водного извлечения проявилось шесть пятен, спиртового извлечения – три пятна (рисунок 14) [119].

Два пятна водного извлечения имели синее окрашивание, что указывает на гидролизуемые дубильные вещества: $R_f - 0,86 \pm 0,02$ - галловая кислота и $R_f - 0,71 \pm 0,01$ - эллаговая кислота, четыре других пятна с $R_f - 0,65 \pm 0,01$; $0,59 \pm 0,01$; $0,54 \pm 0,01$; $0,46 \pm 0,01$ имели темно – зеленую окраску.

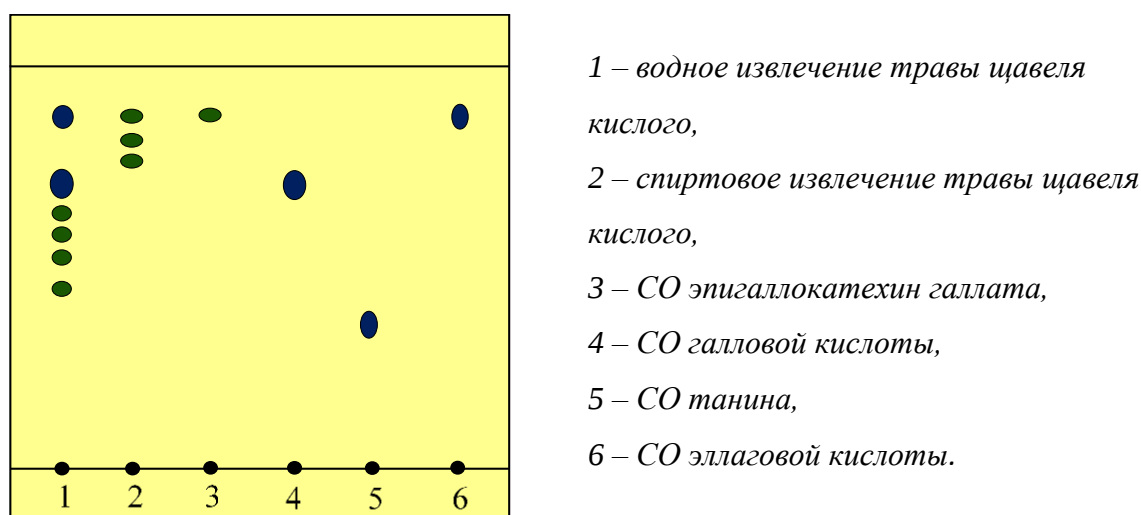


Рисунок 14 - Хроматограмма извлечений из щавеля кислого травы в системе БУВ (10:3:7) после проявления ЖАК раствором 1%

После обработки аналогичной хроматограммы ванилина раствором в соляной кислоте концентрированной 1% четыре ранее не идентифицированные пятна водного извлечения и все три пятна спиртового извлечения приобретали оранжево – красное окрашивание, что указывает на принадлежность к группе конденсированных дубильных веществ производных катехина.

Таблица 16 - Результаты определения дубильных веществ в щавеля кислого траве методом ТСХ в системе БУВ (10:3:7)

Rf	Окраска пятна после обработки	
	ЖАК р-ром 1%	Ванилина р-ром 1% в конц. HCl
Водное извлечение из травы щавеля кислого		
0,86±0,02	Темно - синяя	Серая
0,71±0,01	Темно - синяя	Серая
0,65±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
0,59±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
0,54±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
0,46±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
Спиртовое извлечение из травы щавеля кислого		
0,87±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
0,83±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
0,75±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
СО дубильных веществ		
СО эпигаллокатехин галлата		
0,88±0,01	Темно - зеленая	Оранжево - красная
СО эллаговой кислоты		
0,87±0,02	Темно - синяя	Серая
СО галловой кислоты		
0,70±0,02	Темно - синяя	Серая
СО танина		
0,38±0,03	Темно - синяя	Серая

При анализе хроматограммы одно из пятен спиртового извлечения с Rf - 0,87±0,01 по совпадению с Rf и окраской пятна СО идентифицировали как эпигаллокатехин галлат. Два других пятна с Rf - 0,75±0,01; 0,83±0,01 не идентифицированы (таблица 16) [119].

Определение количественного содержания дубильных веществ проводили титриметрическим методом перманганатометрии по Левенталю – Курсанову, перманганатометрии после осаждения дубильных веществ желатином (желатиновый метод) и методом спектрофотометрии продуктов реакции комплексообразования дубильных веществ с железо-тарtratным реактивом (ЖТР) в среде фосфатного буфера (см. главу II, стр. 32-33).

Из данных таблицы 17 следует, что количество дубильных веществ, установленное по фармакопейной методике перманганатометрического титрования составляет 12,32%; желатиновым методом – 6,08%; методом СФМ – 5,61%.

Таблица 17 - Результаты количественного определения дубильных веществ в щавеля кислого траве

Метод количественного определения	Метрологические характеристики (n = 5; P = 95% ;tp = 2,78)		
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	$S\bar{x}$	$\varepsilon, \%$
Перманганатометрия по Левенталю – Курсанову (в пересчете на танин, %)	12,32±0,09	0,9461	1,98
Желатиновый метод (в пересчете на танин, %)	6,08±0,08	0,7530	2,05
Спектрофотометрия (в пересчете на галловую кислоту, %)	5,61±0,08	0,5422	1,25

Перманганатометрическое титрование по методике, рекомендованной ГФ XIV издания, ведёт к завышенным результатам, поскольку многие соединения фенольного комплекса в условиях данной методики подвергаются окислению калия перманганата раствором [105]. Количественное содержание дубильных веществ, установленное желатиновым методом и методом СФМ имеют сопоставимые результаты. Метод СФМ окрашенных продуктов реакции комплексообразования дубильных веществ с ЖТР в среде фосфатного буфера (pH = 8) считается более специфичным для дубильных веществ, поэтому для дальнейших исследований использовали метод СФМ.

Проводили исследования по модификации и валидации методики количественного определения дубильных веществ щавеля кислого траве [48].

Модификация и валидация методики количественного определения дубильных веществ

С целью модификации методики количественного определения дубильных веществ в щавеля кислого травы подбирали оптимальные условия экстракции дубильных веществ из сырья и параметры факторов, влияющих на комплексообразование дубильных веществ с железо-тарtratным реактивом.

Изучали влияние условий экстракции на выход дубильных веществ из щавеля кислого травы: экстрагент, размер частиц сырья, соотношение «сырье - экстрагент», температура, кратность и продолжительность экстракции. Полученные в ходе опытов извлечения анализировали согласно модифицируемой методике (см. главу II, стр. 32-33).

В качестве экстрагентов использовали воду очищенную и спирт этиловый различной концентрации (20%, 40%, 70%, 90%). Экстракцию щавеля кислого травы, измельченной до размер частиц 1-2 мм, проводили на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течении 15 минут, соотношение «сырье - экстрагент» - 1:100.

В ходе подбора оптимальной измельченности щавеля кислого траву измельчали до размера частиц 0,1 - 0,5; 1 - 2; 2 - 3; 3 - 5 мм. Сырье экстрагировали в течении 15 минут на кипящей водяной бане с обратным холодильником, соотношение «сырье - экстрагент» - 1:100.

Подбирали оптимальное соотношение «сырье - экстрагент». Готовили извлечения из щавеля кислого травы, измельчённой до размера частиц 1-2 мм, с использованием воды очищенной при соотношении 1:10, 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100. Экстракцию проводили однократно при нагревании с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течении 15 минут.

При изучении влияния температуры на полноту экстракции дубильных веществ щавеля кислого траву, измельченную до размера частиц 1-2 мм, однократно экстрагировали водой очищенной в соотношении 1:100 в течении 15 минут на водяной бане с обратным холодильником нагретой до 20, 40, 60, 80 и 100°C.

Устанавливали оптимальную кратность экстракции. Готовили извлечения с использованием воды очищенной из щавеля кислого травы, измельченной до размера частиц 1-2 мм. Экстракцию проводили с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Сырье экстрагировали одно-, двух-,

трех- и четырехкратно при соотношении 1:100. Продолжительность каждой ступени экстракции – 15 минут.

Определяли как продолжительность экстракции влияет на полноту извлечения флавоноидов из щавеля кислого травы. Щавеля кислого траву, измельченную до размера частиц 1-2 мм, экстрагировали водой очищенной в соотношении 1:100. Экстракцию проводили однократно на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течении 20, 30, 40, 50, 60 минут.

В качестве СО для расчета количественного содержания дубильных веществ в сырье использовали РСО галловой кислоты. Данный выбор объясняется тем, что она входит в состав дубильных веществ щавеля кислого травы.

Проводили реакцию комплексообразования с ЖТР в среде фосфатного буфера в извлечении из травы щавеля кислого и раствора РСО кислоты галловой. Снимали спектры поглощения полученных растворов «Schimadzu UV-mini 1240». Сравнивали полученные спектры. При этом отмечено, что спектры поглощения продуктов реакции дубильных веществ и раствора кислоты галловой с железом-тартратным реактивом в присутствии фосфатного буфера имеют максимумы поглощения при длине волны 545 нм. Максимумы в спектре раствора «плацебо» отсутствуют (рисунок 15).

Анализ данных, представленных в таблице 18 свидетельствует о том, что наиболее полное извлечение дубильных веществ из щавеля кислого травы достигается при экстракции на кипящей водяной бане водой очищенной при соотношении «сырье - экстрагент» - 1:100 в течении 30 минут со степенью измельчения сырья не более 2,0 мм. Кратность экстракции практически не влияет на содержание дубильных веществ в полученных извлечениях, результат находится в пределах ошибки опыта.

Таблица 18 – Влияние различных факторов на полноту извлечения дубильных веществ из щавеля кислого травы

Экстрагент	Размер частиц сырья, мм	Соотношение «сырье-экстрагент»	Продолжительность экстракции, мин	Кратность экстракции	Температура, °C	Сумма дубильных веществ (в пересчете на галловую кислоту), %			
						$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	$S \bar{x}$	ε , %	
Экстрагент									
Вода очищенная	1-2	1:100	15	1	100	5,61±0,08	0,054	1,25	
Спирт этиловый 20%						4,68±0,10	0,060	2,14	
Спирт этиловый 40%						5,24±0,09	0,0450	1,72	
Спирт этиловый 70%						3,15±0,07	0,051	2,22	
Спирт этиловый 90%						0,35±0,01	0,059	1,97	
Размер частиц сырья									
Вода очищенная	0,1 - 0,5	1:100	15	1	100	5,57±0,12	0,057	2,15	
	1 - 2					5,69±0,14	0,050	2,46	
	2 - 3					4,95±0,11	0,053	2,23	
	3 - 5					4,52±0,09	0,053	1,99	
Соотношение «сырье - экстрагент»									
Вода очищенная	1-2	1:10	15	1	100	3,54±0,11	0,050	3,11	
		1:20				3,68±0,09	0,051	2,45	
		1:40				3,93±0,09	0,053	2,29	
		1:60				4,57±0,14	0,049	3,06	
		1:80				5,26±0,13	0,051	2,47	
		1:100				5,78±0,12	0,052	2,07	
Температура									
Вода очищенная	1-2	1:100	15	1	20	0,42±0,01	0,055	2,38	
					40	1,16±0,03	0,061	2,58	
					60	2,15±0,05	0,056	2,32	
					80	5,67±0,12	0,050	2,11	
					100	5,75±0,13	0,051	2,26	
Кратность экстракции									
Вода очищенная	1-2	1:100	1:100	15	1	100	5,69±0,14	0,050	2,46
			1:50		2		5,71±0,11	0,054	1,92
			1:33		3		5,72±0,10	0,048	1,74
			1:25		4		5,74±0,12	0,056	2,09
Продолжительность экстракции									
Вода очищенная	1-2	1:100	10	1	100	2,57±0,07	0,051	2,72	
			15			3,85±0,08	0,612	2,07	
			20			4,19±0,09	0,050	2,14	
			25			4,89±0,10	0,045	2,05	
			30			6,12±0,13	0,049	2,12	
			40			6,09±0,12	0,051	1,97	

Подбирали оптимальные условия для проведения реакции комплексообразования (соотношение «аликвота : железо – тартратный реактив», продолжительность реакции комплексообразования).

Таблица 19 – Влияние различных факторов на полноту образования комплекса дубильных веществ щавеля кислого травы с железо – тартратным реактивом

Условие проведения реакции		Сумма дубильных веществ (в пересчете на галловую кислоту), %		
		$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	$S \bar{x}$	ϵ , %
Соотношение «аликвота : железо – тартратный реактив»	1:0,5	4,13±0,10	0,3456	2,42
	1:1	4,98±0,12	0,4109	2,41
	1:1,5	5,45±0,15	0,4943	2,75
	1:2	5,98±0,14	0,3353	2,34
	1:2,5	6,01±0,15	0,3743	2,50
	1:3	5,95±0,12	0,4302	2,01
Продолжительность реакции комплексообразования, мин	5	2,16±0,06	0,3101	2,78
	10	3,48±0,09	0,3954	2,59
	15	4,85±0,11	0,2973	2,28
	20	5,76±0,11	0,3417	1,91
	25	5,79±0,10	0,5104	1,73
	30	5,76±0,10	0,4934	1,74

Оптимальные условия комплексообразования: соотношение «аликвота : железо – тартратный реактив» - 1:2, появление устойчивой окраски раствора через 20 минут (таблица 19).

На основании проведенных исследований модифицирована методика количественного спектрофотометрического определения дубильных веществ: Около 1,0 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, добавляют 100 мл воды очищенной и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение процеживают без охлаждения через двойной слой марли в мерную колбу вместимостью 200 мл. Сырье на

марле дважды промывают 20 мл воды очищенной. После охлаждения доводят объем раствора водой очищенной до метки (раствор А).

В мерную колбу на 25 мл отмеривают 5 мл раствора А, прибавляют 5 мл фосфатного буферного раствора, 10 мл железо - тартратного реактива, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют через 10 минут на спектрофотометре в кювете толщиной 1 см при длине волны (λ) 545 ± 1 нм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 5 мл фосфатного буферного раствора, 10 мл железо - тартратного реактива, доведенных до метки водой очищенной в мерной колбе на 25 мл. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО галловой кислоты, приготовленный аналогично исследуемому раствору.

Модифицированную методику валидировали по показателям: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность согласно ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» Государственной Фармакопеи XIV издания и общеизвестным методам [29, 37, 135].

В процессе определения специфичности снимали спектры поглощения продуктов реакции дубильных веществ исследуемого извлечения, СО галловой кислоты с ЖТР в среде фосфатного буферного раствора (рН 8).

Специфичность методики подтверждалась совпадением максимумов поглощения раствора СО и извлечения из травы щавеля кислого (рисунок 15) [115].

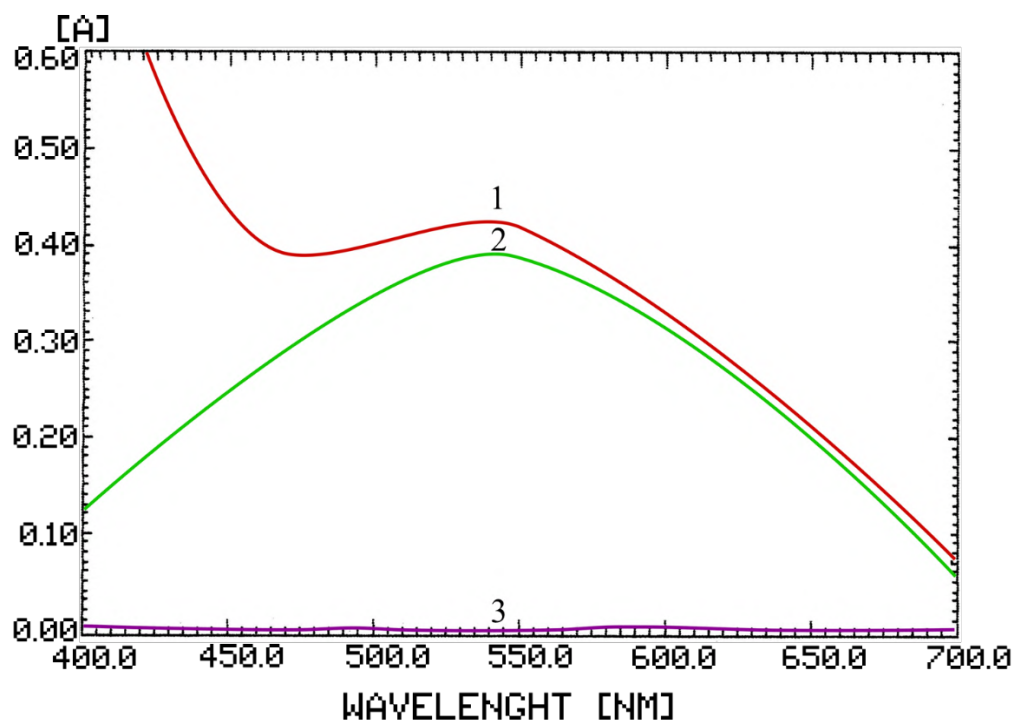


Рисунок 15 - Спектр комплекса водного извлечения из травы щавеля кислого (1) и СО галловой кислоты (2) с ЖТП; спектр раствора «плацебо» (3).

Линейность оценивали на пяти уровнях концентраций (50, 75, 100, 125, 150%) от теоретического содержания суммы дубильных веществ в сырье. Отбирали аликвоты извлечения объемом 5; 7,5; 10; 12,5; 15 мл. Определяли количественное содержание дубильных веществ в полученных растворах в соответствии с валидируемой методикой. Строили график зависимости оптической плотности растворов от количественного содержания дубильных веществ [115].

При анализе графика зависимости оптической плотности от содержания суммы дубильных веществ в извлечении из травы щавеля кислого видно, что значения экспериментальных данных лежат на практически прямой линии. Уравнение регрессии имеет вид $y = 0,0694x + 0,0036$, значение коэффициента корреляции равняется $r = 0,9982$, что указывает на линейную зависимость оптической плотности от концентрации дубильных веществ в исследуемых растворах в пределах аналитической области методики (рисунок 16) [115].

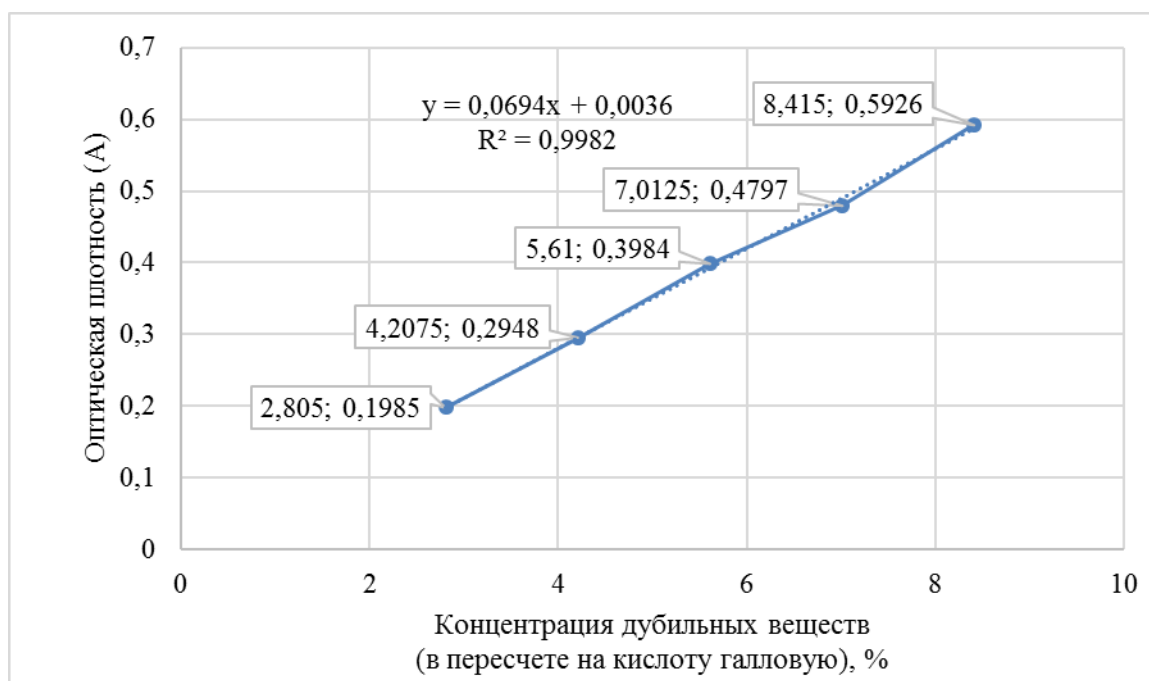


Рисунок 16 - График зависимости оптической плотности от содержания суммы дубильных веществ (в пересчете на кислоту галловую, %) в извлечении из травы щавеля кислого

Согласно требованиям ГФ XIV издания аналитическая область определяемых концентрация для методики количественного определения должна находится в пределах 80 – 120% от номинального содержания БАС в сырье. Валидируемая методика удовлетворяет данному требованию и является линейной в пределах 50 – 150% от номинального содержания дубильных веществ в щавеля кислого траве [115].

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания суммы дубильных веществ (в пересчете на галловую кислоту) в растворах, полученных путем добавления необходимого количества раствора 0,05% СО кислоты галловой к исследуемому раствору.

Исследование проводили на каждом уровне концентрации в трех параллелях [115].

Таблица 20 – Результат оценки правильности методики количественного определения дубильных веществ в щавеля кислого траве методом спектрофотометрии

№ п/п	Исходное содержание галловой кислоты, мг	Добавлено СО кислоты галловой, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Открываемость, %	Метрологические характеристики
1	5,61	1,12	6,73	6,50	96,60	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 98,55 \pm 0,78$; $S_{\bar{x}} = 0,3393$; RSD = 1,03%
2				6,59	97,96	
3				6,46	95,93	
4	5,61	2,25	7,86	7,55	95,94	
5				7,95	101,04	
6				7,56	96,06	
7	5,61	3,37	8,98	8,99	100,20	
8				8,80	97,97	
9				8,89	98,97	

Показано, что открываемость методики находятся в пределах от 95,93 до 101,04%, средняя величина открываемости - 98,55%. Относительное стандартное отклонение составляет 1,03%, что свидетельствует о правильности методики (таблица 20) [115].

Прецизионность валидируемой методики оценивали в двух вариантах. Для подтверждения повторяемости (сходимости) методики готовили водные извлечения из 6 навесок щавеля травы кислого и анализировали в соответствии с валидируемой методикой. Внутрिलाбораторную (промежуточную) прецизионность оценивали, как описано выше в условиях той же лаборатории, но в разные дни и с участием разных исследователей [115].

Из данных таблицы 21 следует, что величина относительного стандартного отклонения результатов при оценке повторяемости равняется 1,29% (не превышает 2%), при оценке внутрिलाбораторной прецизионности – 2,37% (не превышает 5%), что свидетельствует о прецизионности методики [115].

Таблица 21 – Результат оценки прецизионности спектрофотометрического определения дубильных веществ в щавеля кислого траве

№ п/п	Масса навески	Исследователь	Содержание дубильных веществ (в пересчете на кислоту галловую), %	Метрологические характеристики
Повторяемость (сходимость)				
1	0,998	№1	5,74	P = 95%, n=6, f=5, t(P,f) = 2,57, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 5,83 \pm 0,078$, $S\bar{x} = 0,075$, ε=1,33%, RSD = 1,29%
2	1,012	№1	5,85	
3	1,120	№1	5,81	
4	1,000	№1	5,89	
5	1,004	№1	5,77	
6	1,091	№1	5,94	
Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность				
7	1,018	№1	5,61	P = 95%, n=6, f=5, t(P,f) = 2,57, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 5,66 \pm 0,14$, $S\bar{x} = 0,135$, ε=2,47%, RSD = 2,37%
8	0,978	№1	5,74	
9	1,001	№1	5,54	
10	1,012	№2	5,78	
11	1,100	№2	5,49	
12	0,991	№2	5,82	

В ходе исследования установлено, что методика количественного определения дубильных веществ в щавеля кислого траве специфична, зависимость оптической плотности от концентрации дубильных веществ линейна, величины показателей прецизионности и правильности не превышают рекомендуемых значений валидности методики (таблица 22) [115].

Таблица 22 - Валидационная оценка методики количественного определения дубильных веществ в щавеля кислого траве методом СФМ

Критерий валидности методики	Полученное значение	Рекомендуемое значение
<i>Специфичность</i>		
Совпадение максимумов поглощения УФ-спектров исследуемого образца и СО	546 нм	545 ± 1 нм
<i>Линейность</i>		
Коэффициент корреляции (r)	0,9982	$R \geq 0,990$
Уравнение регрессии	$y = 0,0694x + 0,0036$	$y = ax + b$
<i>Аналитическая область методики</i>		
% от содержания в сырье	50 - 150	80 - 120
<i>Прецизионность</i>		
<i>Повторяемость (сходимость)</i>		
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	1,29	$RSD \leq 2\%$
<i>Промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность</i>		
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	2,37	$RSD \leq 5\%$
<i>Правильность</i>		
Открываемость (R), %	95,83 - 101,04	95 - 105%

Апробацию методики проводили на сырье, заготовленном на территории Алтайского края в 2016-2018 гг.

Установили, что щавеля кислого трава содержит 3,84 – 5,61% дубильных веществ в пересчёте на галловую кислоту (таблица 33) [115]. Акт апробации методики от 28.02.2019 г. (приложение 13).

Определение количественного содержания катехинов в щавеля кислого траве

Количественное содержание катехинов устанавливали методом СФМ окрашенных продуктов реакции катехинов с ванилиновым реактивом. Метод основан на образовании продуктов конденсации катехина и его производных с ванилином в присутствии кислоты хлористоводородной концентрированной, имеющих максимумы поглощения при длине волны 505 нм (см. главу II, стр. 33-34).

Количественное содержание катехинов в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края в 2016-2018 гг. составляет от 1,02 до 2,12% в пересчете на эпигаллокатехин галлат (таблица 33) [64].

3.1.3. Антраценпроизводные

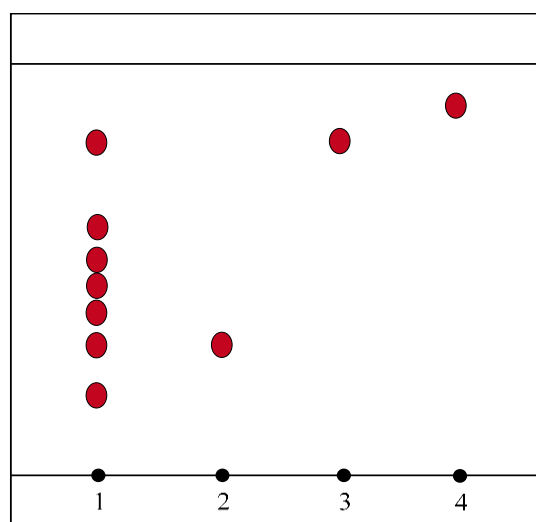
Для обнаружения антраценпроизводных готовили спиртовое извлечение из щавеля кислого травы с использованием спирта этилового 70% в соотношении «сырьё – экстрагент» 1:10 [16].

Проводили качественные реакции (реакция сублимации, реакция Борнтрегера), положительные результаты которых позволили судить о наличии в исследуемом виде сырья антраценпроизводных группы 1,8 – диоксиантрахинона [112].

Идентификацию антраценпроизводных осуществляли методом ТСХ. В ходе подбора системы для хроматографирования использовали четыре системы растворителей (см. главу II, стр. 35). Установлено, что лучшей разделяющей способностью обладает система бензол - ацетон - вода

очищенная (4:1:2). После хроматографирования пластинки высушивали на воздухе и обрабатывали калия гидроксида раствором спиртовым 5%.

Наблюдали появление на хроматограмме пятен антраценпроизводных красно – вишневого цвета, что позволяет предположить, что антраценпроизводные щавеля кислого травы представлены производными 1,8 – диоксиантрахинона. Рассчитывали R_f исследуемых и стандартных образцов (фисциона, реина и хризофаноловой кислоты).



- 1 – спиртовое извлечение из травы щавеля
кислого
2 – СО фисциона
3 – СО реина
4 – СО хризофаноловой кислоты

Рисунок 17 - Хроматограмма извлечений из щавеля кислого травы в системе бензол - ацетон - вода очищенная (4:1:2) после проявления гидроксида калия раствором спиртовым 5%

Таблица 23 - Результаты определения антраценпроизводных в щавеля кислого траве методом ТСХ в системе бензол - ацетон - вода очищенная (4:1:2)

СО антраценпроизводных		Rf пятен извлечения щавеля кислого травы
Наименование	Rf	
-	-	0,19±0,01
СО фисциона	0,33±0,01	0,33±0,01
-	-	0,40±0,01
-	-	0,46±0,01
-	-	0,53±0,01
-	-	0,61±0,01
СО реина	0,83±0,01	0,82±0,01
СО хризофаноловой кислоты	0,91±0,01	-

На хроматограмме спиртового извлечения проявилось семь пятен с R_f - $0,19 \pm 0,01$; $0,33 \pm 0,01$; $0,40 \pm 0,01$; $0,46 \pm 0,01$; $0,53 \pm 0,01$; $0,61 \pm 0,01$; $0,82 \pm 0,01$. По сравнению с R_f СО идентифицированы пятна с R_f - $0,33 \pm 0,01$ (фисцион) и R_f - $0,82 \pm 0,01$ (реин). Остальные пять пятен не идентифицированы (R_f = $0,19 \pm 0,01$; $0,40 \pm 0,01$; $0,46 \pm 0,01$; $0,53 \pm 0,01$; $0,61 \pm 0,01$) (рисунок 17, таблица 23).

Количественное содержание антраценпроизводных в щавеля кислого траве устанавливали методом СФМ продуктов реакции антраценпроизводных с щелочно-аммиачным раствором (см. главу II, стр. 35-36).

Содержание суммы антраценпроизводных в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края в 2016-2018 гг составило $0,31 - 0,49\%$ в пересчете на эмодин (таблица 33).

3.1.4. Кумарины

Для обнаружения кумаринов готовили хлороформное извлечение в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10 при нагревании с обратным холодильником в течение 30 минут [16].

При рассмотрении хлороформного извлечения в УФ-свете при длине волны 254 нм, 365 нм наблюдали характерную для кумаринов ярко-голубую флюоресценцию.

Далее проводили качественные реакции на кумарины: реакцию сублимации, лактонную пробу (жёлтое окрашивание, помутнение раствора), реакцию образования азокрасителя. Отмечали положительные результаты реакций (таблица 9).

Определение количественного содержания кумаринов в сырье проводили методом спектрофотометрии при длине волны 272 нм (см. главу II, стр. 36-37).

Содержание суммы кумаринов в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края в 2016-2018 гг составило 0,37 – 0,48% в пересчете на кумарин (таблица 33).

3.1.5. Изучение фенольных соединений методом ВЭЖХ

Изучение фенольных соединений щавеля кислого травы методом ВЭЖХ осуществляли на микроколоночном хроматографе «Милихром А-02». Условия хроматографирования описаны в главе II, стр.37.

Исследовали спиртовое извлечение из сырья (экстрагент – спирт этиловый 70%, соотношение «сырье-экстрагент» 1:10) [112].

В ходе исследования на хроматограмме зарегистрировано 8 пиков: пик 1 (τ - 9,3 мин; $\lambda_{\max}$ = 220, 288, 330 нм) - фисцион, пик 2 (τ - 10,2 мин; $\lambda_{\max}$ = 222, 290, 325) - эмодин, пик 3 (τ - 11,2 мин; $\lambda_{\max}$ = 225, 310) – реин, пик 4 (τ - 13,6 мин; $\lambda_{\max}$ = 205, 255, 355) - кемпферол-7-О-рамнозид, пик 5 (τ - 14,7 мин; $\lambda_{\max}$ = 202, 255, 340) - гиперозид, пик 6 (τ - 15,3 мин; $\lambda_{\max}$ - 204, 255, 355) - рутин, пик 7 (τ - 15,6 мин; $\lambda_{\max}$ = 200, 252, 355) - кемпферол-3-О-рамнозид, пик 8 (τ - 16,4 мин; $\lambda_{\max}$ = 208, 259, 355) - кверцетрин (рисунок 18, приложение 1) [112].

Пики обнаруженных соединений совпадают по времени удерживания (τ , мин) и максимумам поглощения ($\lambda_{\max}$, нм) с литературными данными и пиками СО (таблица 24).

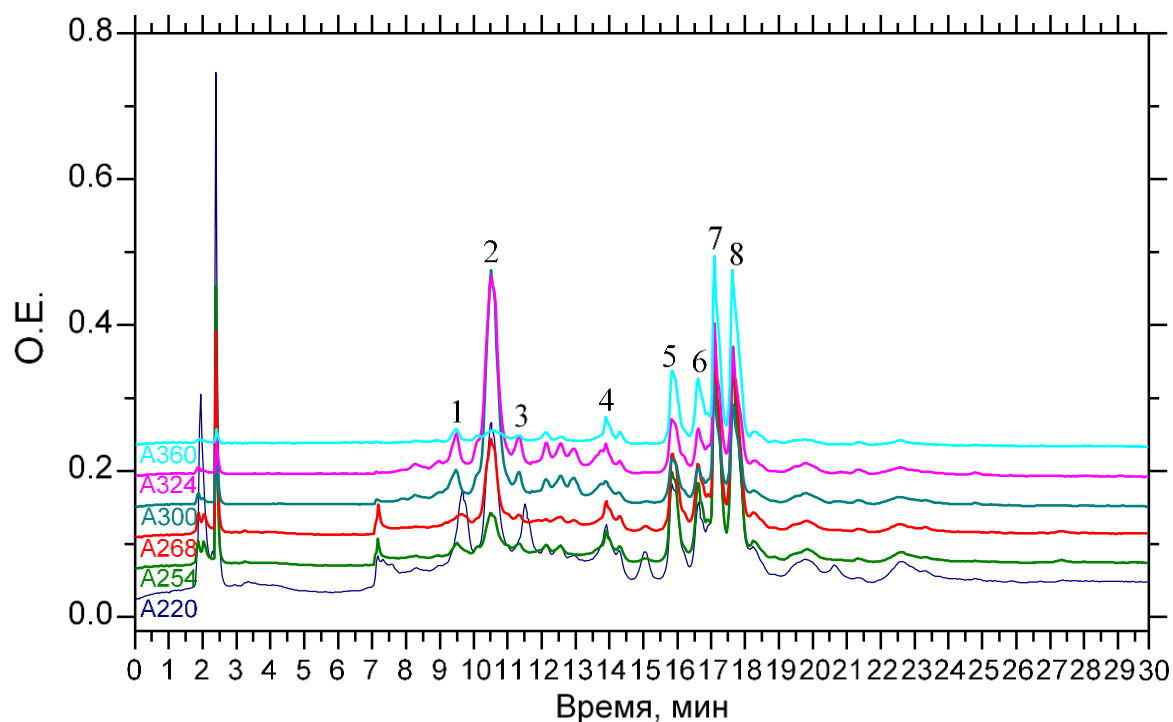


Рисунок 18 – Хроматограмма спиртового извлечения травы щавеля кислого

Таблица 24 - Результаты исследований состава фенольных соединений в спиртовом извлечении травы щавеля кислого методом ВЭЖХ

№ пика, п/п	Время удерживания, мин	Спектральные характеристики (λ_{max} , нм)	Идентифицированное соединение
<i>Спиртовое извлечение из щавеля кислого травы</i>			
1	9,3	220, 288, 330	Фисцион
2	10,2	222, 290, 325	Эмодин
3	11,2	225, 310	Реин
4	13,6	205, 263, 355	Кемпферол-7-О-рамнозид
5	14,7	202, 255, 340	Гиперозид
6	15,3	204, 255, 355	Рутин
7	15,6	200, 265, 355	Кемпферол-3-О-рамнозид
8	16,4	208, 259, 355	Кверцитрин
<i>Стандартные образцы</i>			
-	9,4	220, 289, 329	Фисцион
-	10,3	224, 290, 325	Эмодин
-	11,1	226, 310	Реин
-	13,5	205, 263, 355	Кемпферол-7-О-рамнозид
-	14,6	202, 255, 340	Гиперозид
-	15,2	203, 255, 355	Рутин
-	15,5	200, 265, 355	Кемпферол-3-О-рамнозид
-	16,5	208, 259, 355	Кверцитрин

Для более детального изучения комплекса фенольных соединений проводили фракционирование спиртового извлечения.

Для этого готовили извлечение с использованием спирта этилового 70% (соотношение «сырье-экстрагент» – 1:10), которое затем упаривали до густого остатка. Остаток растворяли в 2 мл горячей воды и обрабатывали гексаном для удаления липофильных веществ. Далее проводили последовательную обработку спиртового извлечения эфиром диэтиловым, этилацетатом, спиртом н-бутиловым. Схема разделения представлена на рисунке 19.



Рисунок 19 – Схема разделения фенольных соединений щавеля кислого травы на фракции

Полученные фракции исследовали методом ВЭЖХ (глава II). Соединения идентифицировали по временам удерживания (τ , мин) и спектральным характеристикам ($\lambda_{\max}$) в сравнении с аналогичными показателями СО (ООО «Сигма-Алдрич Рус») и приведенными в литературных данных [53, 75, 164, 184].

В ходе исследования на хроматограмме эфирной фракций зарегистрировано 7 пиков, этилацетатной – 10 пиков, бутанольной – 11 пиков (рисунок 20, 21, 22).

Соединения эфирной фракции: пик 1 (τ - 10,6 мин; $\lambda_{\max}$ = 260 нм) – производное катехина, пик 2 (τ - 11,8 мин; $\lambda_{\max}$ = 215, 290, 320 нм) – кофейная кислота, пик 3 (τ - 13,0 мин; $\lambda_{\max}$ = 260 нм) – производное катехина, пик 4 (τ - 14,5 мин; $\lambda_{\max}$ = 230, 310 нм) – производное п-кумаровой кислоты, пик 5 (τ - 15,0 мин; $\lambda_{\max}$ = 280 нм) – пирокатехин, пик 6 (τ - 21,9 мин; $\lambda_{\max}$ = 220, 280 нм) – производное катехина, пик 7 (τ - 23 мин; $\lambda_{\max}$ = 220, 310 нм) – эллаготанин (рисунок 20, таблица 25, приложение 2) [114].

Соединения этилацетатной фракции: пик 1 (τ - 8,6 мин; $\lambda_{\max}$ = 271 нм) – производное кумарина, пик 2 (τ - 9,4 мин; $\lambda_{\max}$ = 220пл, 280, 320 нм) – феруловая кислота, пик 3 (τ - 10,8 мин; $\lambda_{\max}$ = 279 нм) – производное катехина, пик 4 (τ - 11,5 мин; $\lambda_{\max}$ = 278 нм) – эпигаллокатехин галлат, пик 5 (τ - 13,4 мин; $\lambda_{\max}$ = 202, 255, 355 нм) – производное кверцетина, пик 6 (τ - 14,4 мин; $\lambda_{\max}$ = 204, 260, 360 нм) – гиперозид, пик 7 (τ - 15,1 мин; $\lambda_{\max}$ = 200, 268, 345 нм) – производное кемпферола, пик 8 (τ - 15,8 мин; $\lambda_{\max}$ = 200, 255, 355 нм) – производное кверцетина, пик 9 (τ - 16,1 мин; $\lambda_{\max}$ = 202, 268, 350 нм) – кверцитрин, пик 10 (τ - 16,1 мин; $\lambda_{\max}$ = 206, 322 нм) – производное 7-метоксикумарина (рисунок 21, таблица 26, приложение 3).

Соединения бутанольной фракции: пик 1, 2 (τ - 8,1 мин; $\lambda_{\max}$ = 215, 275 нм; τ - 8,5 мин; $\lambda_{\max}$ = 220, 279 нм) – производное хризацина, пик 3 (τ - 9,3 мин; $\lambda_{\max}$ = 219, 320 нм) – ресвератрол, пик 4 (τ - 10,1 мин; $\lambda_{\max}$ = 210, 229, 310 нм) – производное п-кумаровой кислоты, пик 5 (τ - 10,9 мин; $\lambda_{\max}$ = 220, 285, 319 нм) – производное хризацина, пик 6, 7 (τ - 11,5 мин; $\lambda_{\max}$ = 310 нм; τ - 13,6 мин; $\lambda_{\max}$ = 229, 310 нм) – производные п-кумаровой кислоты, пик 8, 9 (τ - 14,5 мин; $\lambda_{\max}$ = 268, 349 нм; τ - 15,1 мин; $\lambda_{\max}$ = 268, 349 нм) – производные кемпферола, пик 10 (τ - 15,4 мин; $\lambda_{\max}$ = 204, 255, 355 нм) – рутин, пик 11 (τ - 15,8 мин; $\lambda_{\max}$ = 205, 256, 353 нм) – производное кверцетина (рисунок 22, таблица 27, приложение 4).

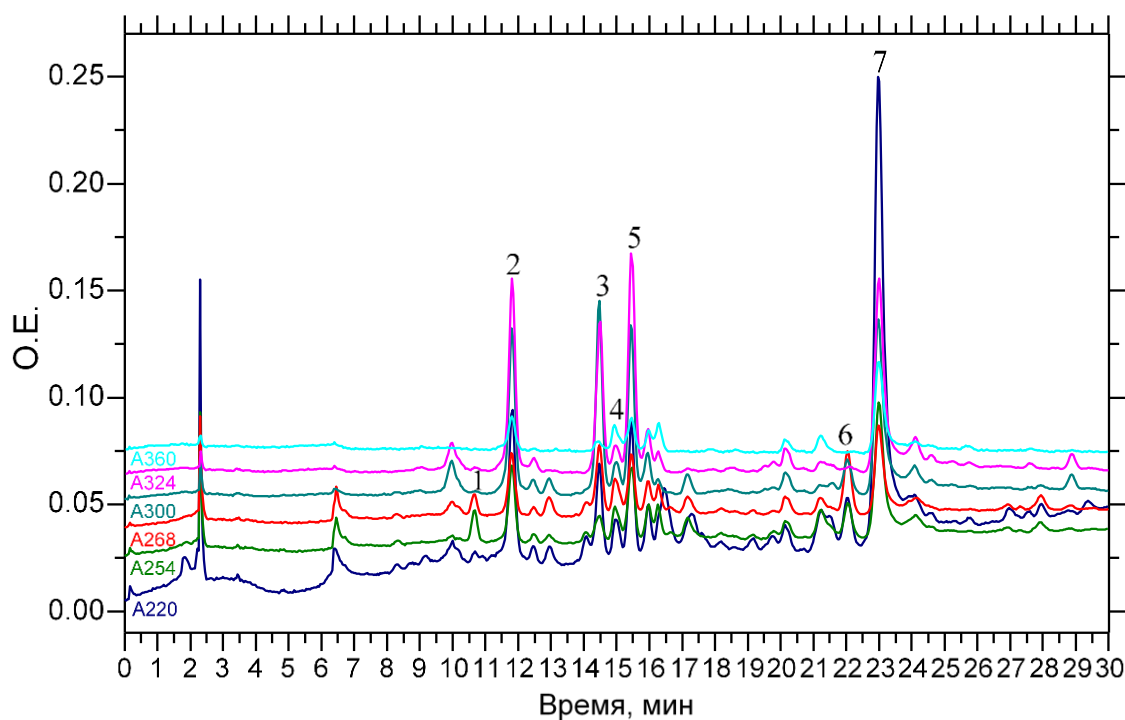


Рисунок 20 – Хроматограмма эфирной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы

Таблица 25 - Результаты исследования состава фенольных соединений эфирной фракции спиртового извлечения травы щавеля кислого

№ пика, п/п	Время удерживания, мин	Спектральные характеристики (λ_{max} , нм)	Идентифицированное соединение
<i>Эфирная фракция спиртового извлечения</i>			
1	10,6	260	Производное катехина
2	11,8	215, 290, 320	Кофейная кислота
3	13,0	260	Производное катехина
4	14,5	230, 310	Производное п-кумаровой кислоты
5	15,0	280	Пирокатехин
6	21,9	220, 280	Производное катехина
7	23,1	220, 310	Эллаготанин
<i>Стандартные образцы</i>			
-	11,9	212, 290, 320	Кофейная кислота
-	15,0	279	Пирокатехин
-	12,5	200, 220, 310	п – кумаровая кислота

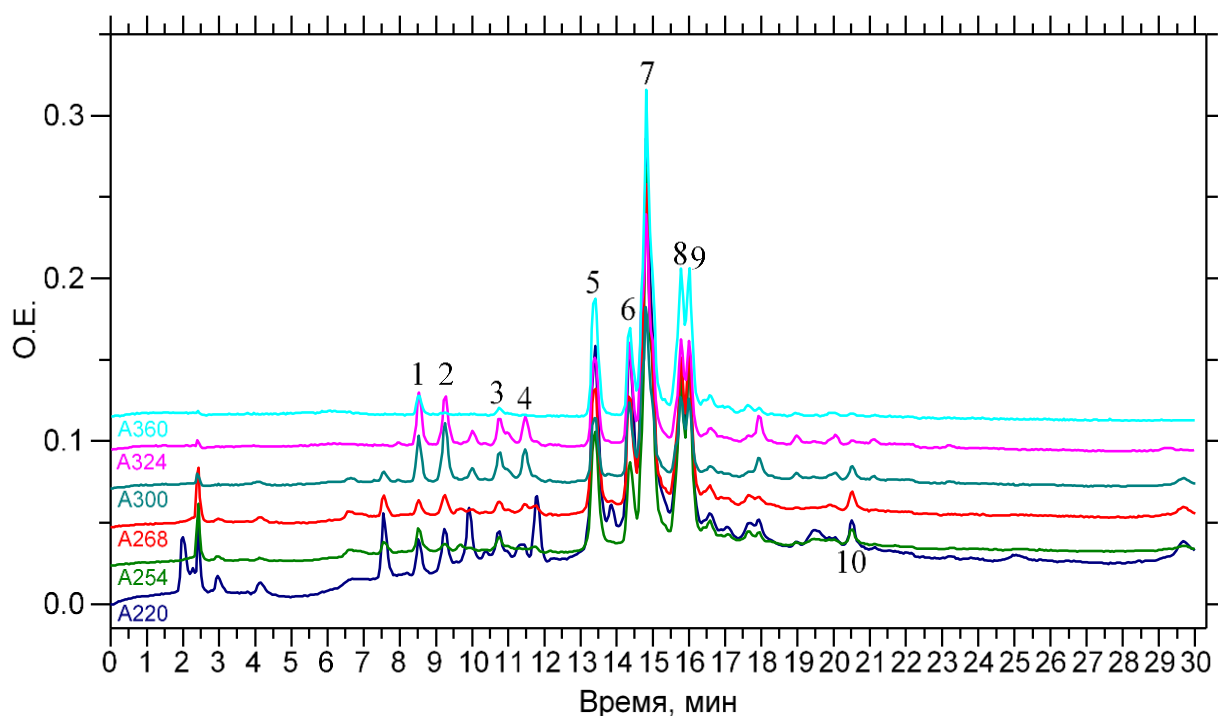


Рисунок 21 – Хроматограмма этилацетатной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы

Таблица 26 - Результаты исследования состава фенольных соединений этилацетатной фракции спиртового извлечения травы щавеля кислого

№ пика, п/п	Время удерживания, мин	Спектральные характеристики (λ_{max} , нм)	Идентифицированное соединение
<i>Этилацетатная фракция спиртового извлечения</i>			
1	8,6	271	Производное кумарина
2	9,4	220пл, 280, 320	Феруловая кислота
3	10,8	279	Производное катехина
4	11,5	278	Эпигаллокатехин галлат
5	13,4	202, 255, 355	Производное кверцетина
6	14,4	204, 260, 360	Гиперозид
7	15,1	200, 268, 345	Производное кемпферола
8	15,8	200, 255, 355	Производное кверцетина
9	16,1	202, 268, 350	Кверцитрин
10	20,6	206, 322	Производное 7-метоксикумарина
<i>Стандартные образцы</i>			
-	9,5	220пл, 279, 320	Феруловая кислота
-	11,6	279	Эпигаллокатехин галлат
-	14,5	205, 259, 360	Гиперозид
-	16,0	200, 267, 350	Кверцитрин

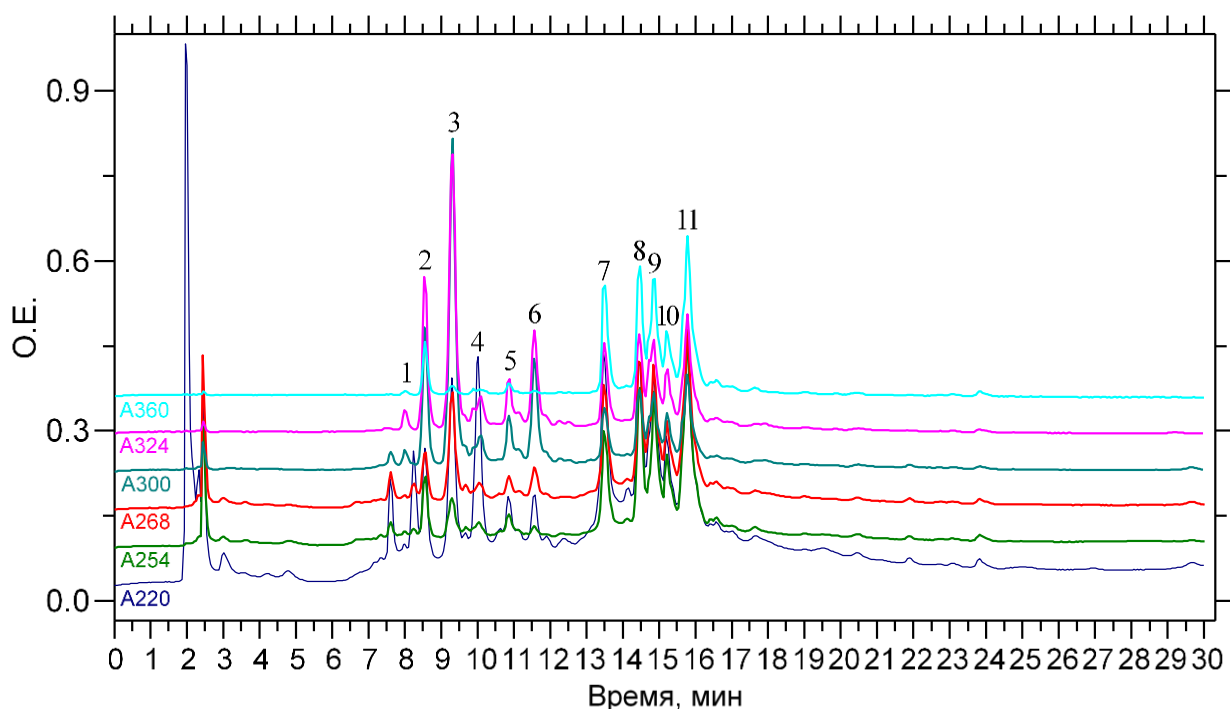


Рисунок 22 – Хроматограмма бутанольной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы

Таблица 27 - Результаты исследования состава фенольных соединений бутанольной фракции спиртового извлечения травы щавеля кислого

№ пика, п/п	Время удерживания, мин	Спектральные характеристики (λ_{max} , нм)	Идентифицированное соединение
<i>Бутанольная фракция спиртового извлечения</i>			
1	8,1	215, 275	Производное хризацина
2	8,5	220, 279	Производное катехина
3	9,3	219, 320	Ресвератрол
4	10,1	210, 229, 310	Производное п-кумаровой кислоты
5	10,9	220, 285, 319	Производное хризацина
6	11,5	310	Производное п-кумаровой кислоты
7	13,6	229, 310	Производное п-кумаровой кислоты
8	14,5	268, 349	Производное кемпферола
9	15,1	268, 349	Производное кемпферола
10	15,4	204, 255, 355	Рутин
11	15,8	205, 256, 353	Производное кверцетина
<i>Стандартные образцы</i>			
-	9,4	219, 320	Ресвератрол
-	15,5	204, 255, 355	Рутин

Поскольку фенольные соединения содержатся в растениях в виде гликозидов, проводили кислотный гидролиз смесью спирт этиловый 95% - вода очищенная - хлористоводородная кислота концентрированная (25:20:5) [82].

Затем осуществляли жидкость – жидкостную экстракцию продуктов гидролиза эфиром диэтиловым. Эфирную фракцию отделяли и упаривали, сухой остаток растворяли в спирте этиловом 70% (реэкстракт) [62]. Реэкстракт гидролизата исследовали методом ВЭЖХ (см. главу II, стр. 37-38). На хроматограмме зарегистрировали 6 пиков (рисунок 23)

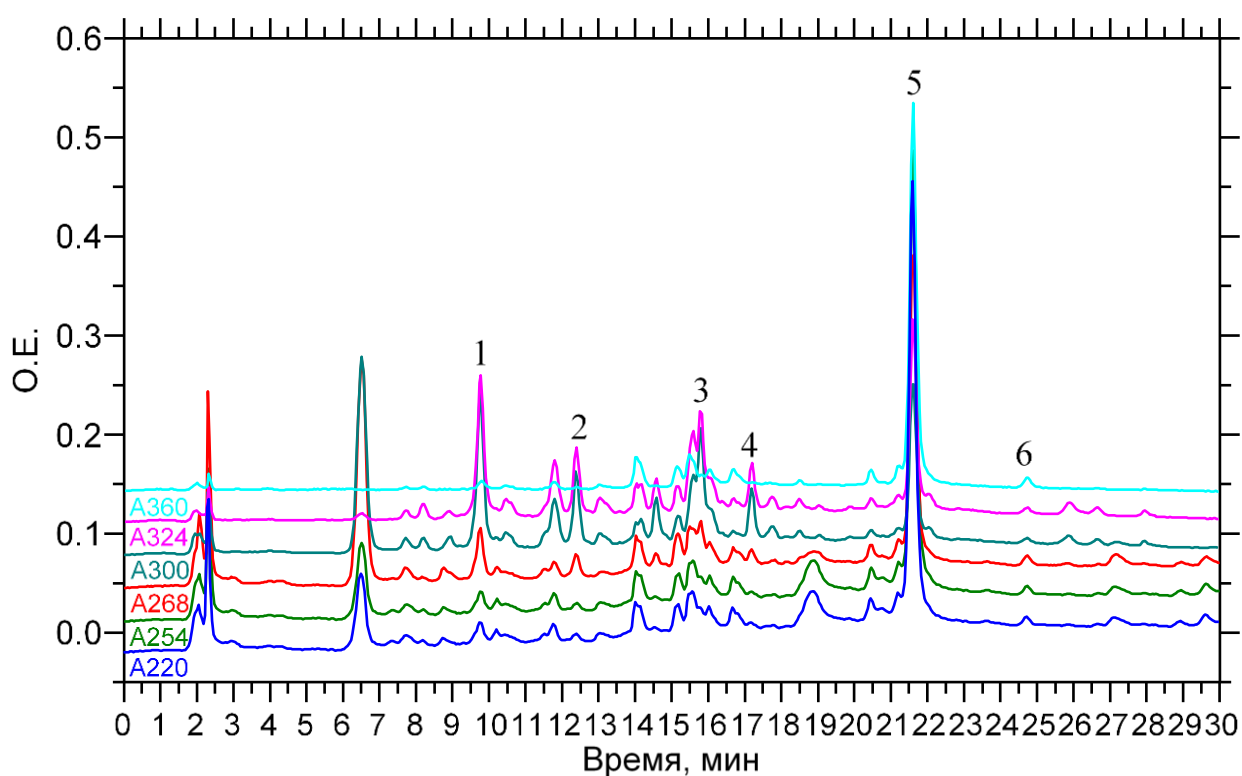


Рисунок 23 – Хроматограмма гидролизата спиртового извлечения щавеля кислого травы

В ходе кислотного гидролиза выделены: пик 1 (τ - 9,8 мин; $\lambda_{\max}$ = 210, 230, 310 нм) – производное п-кумаровой кислоты, пик 2 (τ - 12,4 мин; $\lambda_{\max}$ = 200, 220нм, 310 нм) – п-кумаровая кислота, пик 3 (τ - 15,7 мин; $\lambda_{\max}$ = 200, 225нм, 310 нм) – производное п-кумаровой кислоты, пик 4 (τ - 17,0 мин; $\lambda_{\max}$ = 215, 270 нм) – галловая кислота, пик 5 (τ - 21,6 мин;

$\lambda_{\max} = 202, 255 \text{ нм}$) – кверцетин, пик 6 ($\tau - 24,7 \text{ мин}$; $\lambda_{\max} = 204, 266 \text{ нм}$) – кемпферол (рисунок 23, таблица 28, приложение 5) [62].

Таблица 28 – Результаты исследований состава продуктов кислотного гидролиза спиртового извлечения щавеля кислого травы

№ пика, п/п	Время удерживания, мин	Спектральные характеристики ($\lambda_{\max}$, нм)	Идентифицированное соединение
<i>Гидролизат спиртового извлечения из щавеля кислого травы</i>			
1	9,8	210, 230, 310	Производное п - кумаровой кислоты
2	12,4	200, 220 _{пл} , 310	п – кумаровая кислота
3	15,7	200, 225 _{пл} , 310	Производное п - кумаровой кислоты
4	17,0	215, 270	Галловая кислота
5	21,6	202, 255	Кверцетин
6	24,7	204, 266	Кемпферол
<i>Стандартные образцы</i>			
-	12,5	200, 220, 310	п – кумаровая кислота
-	17,0	215, 270	Галловая кислота
-	21,5	200, 255	Кверцетин
-	24,6	205, 265	Кемпферол

Таким образом в результате исследования методом ВЭЖХ установлен состав фенольных соединений надземной части щавеля кислого, который включает простые фенолы – пирокатехин; стильбены – ресвератрол; флавоноиды - кверцетин и его гликозиды рутин и гиперозид, кверцетрин; кемпферол и его гликозиды кемпферол-7-О-рамнозид, кемпферол-3-О-рамнозид; фенолокислоты – кофейная кислота, п-кумаровая кислота и ее производные; гидролизуемые дубильные вещества (галловая кислота и ее соединения, эллаговая кислота и ее соединения, эллаготанин); конденсированные дубильные вещества – производные катехина (эпигаллокатехин галлат); антраценпроизводные – производные хризацина (фисцион, реин, эмодин); кумарины – производные кумарина, 7-метоксикумарина.

3.2. Аминокислоты

Для установления наличия аминокислот использовали качественную реакцию со спиртовым раствором нингидрина 0,25%, которую проводили с водным извлечением (соотношение сырье - экстрагент 1:10), реакция давала положительный результат: темно-фиолетовое окрашивание [116].

Для разделения и идентификации проводили исследование методом ТСХ (см. главу II, стр. 38-39).

Подбирали систему с оптимальной разделяющей способностью. Использовали три системы растворителей. В результате проведенных исследований установлено, что оптимальной разделяющей способностью обладает система н-бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (12:3:5) [116].

Аминокислоты детектировали по появлению розово-пурпурных пятен после обработки хроматографической пластинки нингидрина раствором ацетоновым 0,25% с последующим нагреванием в сушильном шкафу при температуре 100 – 105°C в течение 2-3 минут.

Результаты хроматографического анализа в системе БУВ (12:3:5) приведены на рисунке 24 и в таблице 29 [116].

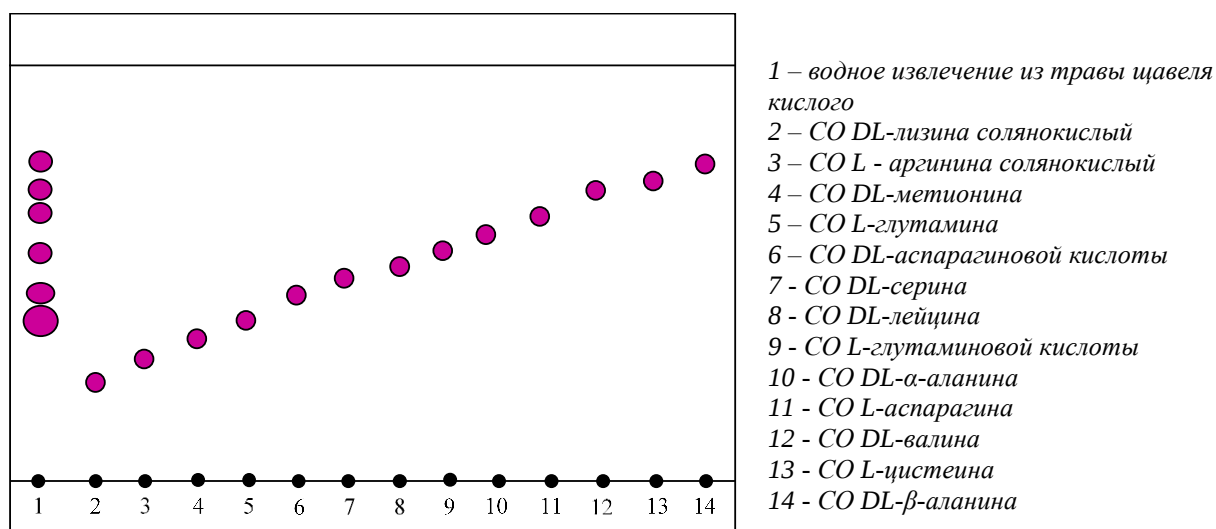


Рисунок 24 - Хроматограмма водного извлечения из щавеля кислого травы в системе БУВ (12:3:5) после проявления нингидрина раствором ацетоновым 0,25%

Таблица 29 - Результаты хроматографического определения свободных аминокислот в щавеля кислого траве в системе н-бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (12:3:5)

СО аминокислот		Rf пятен извлечения щавеля кислого травы
Наименование	Rf	
CO DL - лизина	0,24±0,01	-
CO L - аргинина	0,30±0,02	-
CO DL - метионина	0,34±0,01	-
CO L - глутамина	0,39±0,02	0,40±0,02
CO DL - аспарагиновой кислоты	0,45±0,02	0,46±0,03
CO DL - серина	0,48±0,02	-
CO DL - лейцина	0,51±0,01	-
CO L - глутаминовой кислота	0,55±0,02	-
CO DL - α - аланина	0,59±0,01	0,60±0,02
CO L - аспарагина	0,64±0,02	0,65±0,02
CO DL - валина	0,70±0,02	0,69±0,01
CO L - цистеина	0,72±0,01	-
CO DL - β - аланина	0,75±0,01	0,76±0,01

Согласно данным таблицы 28, в щавеля кислого траве по совпадению окраски пятен и значений Rf исследуемого извлечения и СО аминокислот идентифицировано шесть аминокислот: глутамин (Rf - 0,40±0,02), аспарагиновая кислота (Rf - 0,46±0,03), α-аланин (Rf - 0,60±0,02), аспарагин (Rf - 0,65±0,02), валин (Rf - 0,69±0,01), β -аланин (Rf - 0,76±0,01) [116].

Количественное содержание свободных аминокислот в щавеля кислого траве определяли спектрофотометрическим методом продуктов реакции аминокислот с раствором нингидрина. Оптическую плотность комплекса аминокислот с нингидрином в извлечении из щавеля кислого травы измеряли при длине волны 568 нм. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО глутамина (см. главу II, стр. 39-40).

Содержание свободных аминокислот в щавеля кислого траве составило 7,56 - 8,16% в пересчете на глутамин (таблица 33) [116].

3.3. Органические кислоты и аскорбиновая кислота

Для установления состава органических кислот готовили извлечение с использованием воды очищенной в соотношении 1:10 [16].

В результате проведенных качественных реакций обнаружено что в щавеля кислого траве присутствуют щавелевая, яблочная, янтарная, винная и аскорбиновая кислоты (таблица 9) [117].

Для дальнейшего разделения и идентификации применяли метод ТСХ. В ходе исследований использовали три системы растворителей (см. главу II, стр. 40). Системой с лучшей разделяющей способностью оказалась система спирт этиловый 95% - аммиака раствор 25% (16:4,5) [117].

После хроматографирования пластинки обрабатывали метиленового красного раствором спиртовым 0,2%. Наблюдали проявление на хроматограмме пятен органических кислот малинового цвета (рисунок 25). Рассчитывали значения R_f .

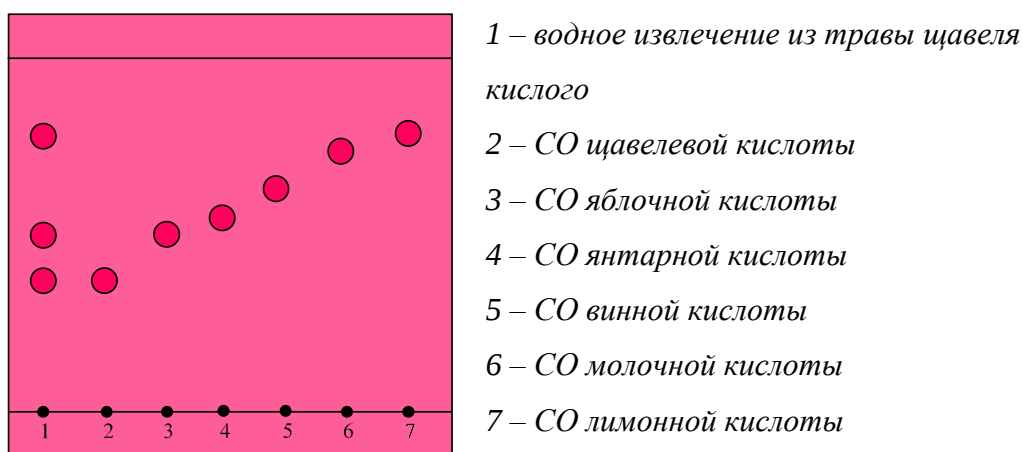


Рисунок 25 - Хроматограмма водного извлечений из травы щавеля кислого в системе спирт этиловый 95% - раствор аммиака 25% (16:4,5) после проявления метиленового красного раствором спиртовым 0,2%

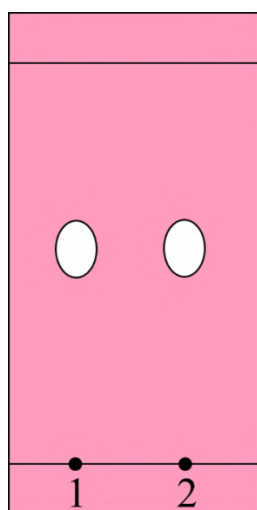
По совпадению значений R_f пятен водного извлечения из исследуемого сырья с аналогичным показателем пятен СО установлено наличие щавелевой ($R_f - 0,38 \pm 0,02$), яблочной ($R_f - 0,64 \pm 0,03$) и лимонной ($R_f - 0,79 \pm 0,02$) кислот (таблица 30) [117].

Таблица 30 - Результаты определения органических кислот в щавеля кислого траве методом ТСХ в системе спирт этиловый 95% - аммиака раствор 25% (16:4,5)

СО органических кислот		Rf пятен извлечения травы щавеля кислого
Наименование	Rf	
СО щавелевой кислоты	0,37±0,02	0,38±0,02
СО яблочной кислоты	0,65±0,01	0,64±0,03
СО янтарной кислоты	0,68±0,02	-
СО винной кислоты	0,72±0,02	-
СО молочной кислоты	0,76±0,01	-
СО лимонной кислоты	0,80±0,02	0,79±0,02

Идентификацию аскорбиновой кислоты методом ТСХ осуществляли в система этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20). После хроматографирования пластинку обрабатывали 2,6 – дихлорфенолиндофенолята натрия раствором 0,04% (см. главу II, стр. 42).

На хроматограмме проявились пятна белого цвета на розовом фоне. По совпадению значений Rf пятна водного извлечения травы щавеля кислого с Rf пятна СО аскорбиновой кислоты (рисунок 26) [117].



1 – водное извлечение из травы щавеля кислого
2 – СО аскорбиновой кислоты

Рисунок 26 - Хроматограмма водного извлечений из травы щавеля кислого в системе спирт этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20) после проявления дихлорфенолиндофенолята натрия раствором 0,04%

Для подтверждения результатов водное извлечение щавеля кислого травы исследовали методом ВЭЖХ. Условия хроматографирования описаны в главе II, стр. 41. Идентификацию органических кислот проводили по временам удерживания (τ , мин) по сравнению с временами удерживания СО органических кислот [122].

В ходе исследования на хроматограмме появилось 5 пиков: пик 1 – щавелевая кислота (τ - 2,2 мин), пик 2 – винная кислота (τ - 2,6 мин), пик 3 – аскорбиновая кислота (τ - 3,2 мин), пик 4 – лимонная кислота (τ - 3,8 мин), пик 5 – янтарная кислота (τ - 5,7 мин) (рисунок 27) [122].

Пики обнаруженных соединений совпадают по времени удерживания (τ , мин) с пиками СО.

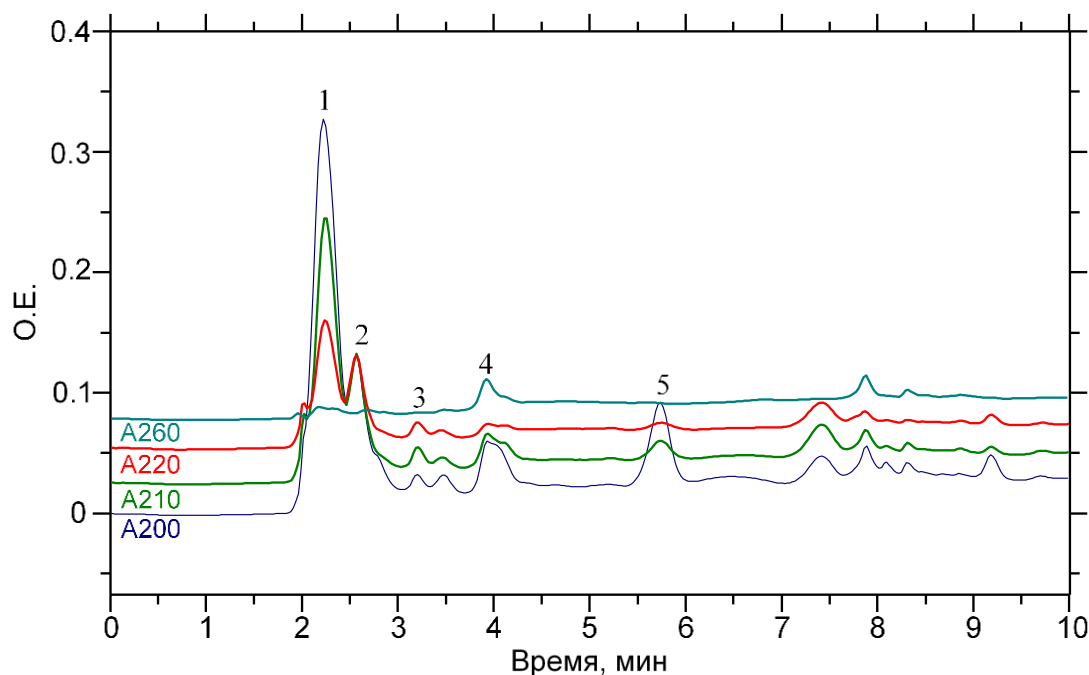


Рисунок 27 - Хроматограмма водного извлечения из щавеля кислого травы: 1 – щавелевая кислота, 2 – винная кислота, 3 – аскорбиновая кислота, 4 – лимонная кислота, 5 – янтарная кислота.

Определение количественного содержания суммы органических кислот в исследуемом виде сырья проводили титрованием водного извлечения из щавеля кислого травы натрия гидроксида раствором 0,1М по смешанному индикатору фенолфталеин с метиленовым синим до появления в пене

лилово-красной окраски, аскорбиновой кислоты - титрованием водного извлечения 2,6 – дихлорфенолиндофенолята натрия раствором 0,001М до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30 – 60 секунд (см. главу II, стр. 41-42) [117].

Содержание органических кислот в щавеля кислого траве составило 0,93 – 2,13%; аскорбиновой кислоты – 3,91 – 4,70% (таблица 33) [117].

3.4. Углеводы

Для установления наличия углеводов в щавеля кислого траве готовили водное извлечение (соотношение «сырье - экстрагент» - 1:10).

Проводили качественные реакции: с реактивом Фелинга, серебряного зеркала, Молиша, осаждение полисахаридов спиртом этиловым 96%, с раствором Люголя, с раствором щёлочи [16].

Положительные результаты качественных реакций позволяют судить о наличии в исследуемом сырье моно-, ди- и полисахаридов. Слизи и крахмал не обнаружены (таблица 9).

Далее проводили идентификацию углеводов методом ТСХ. Хроматографировали водное извлечение для установления состава свободных сахаров. Для изучения связанных сахаров исследовали гидролизат водного извлечения.

В ходе исследований подбирали систему с лучшей разделяющей способностью; использовали четыре системы растворителей (см. главу II, стр. 46). После хроматографирования пластинки высушивали на воздухе; обрабатывали натрия карбоната раствором 20% и пикриновой кислоты раствором 1%; нагревали в сушильном шкафу при $t^{\circ}\text{C} = 100 - 105$. Лучшей разделяющей способностью обладает система спирт н-бутиловый – ацетон – вода очищенная (4:5:1).

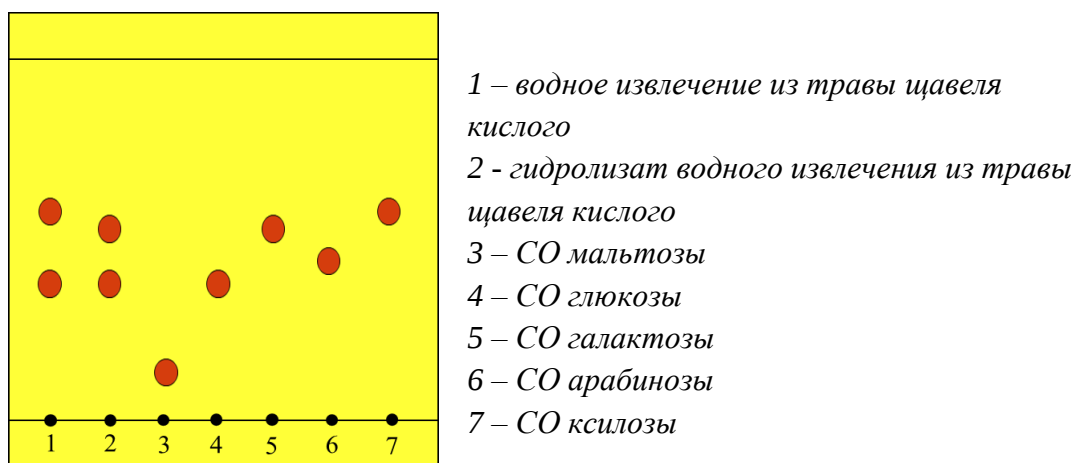


Рисунок 28 - Хроматограмма водного извлечений и гидролизата водного извлечения из травы щавеля кислого в системе спирт н-бутиловый – ацетон – вода очищенная (4:5:1) после проявления натрия карбоната раствором 20% и пикриновой кислоты раствором 1%

Таблица 31 - Результаты определения моносахаридов в щавеля кислого траве методом ТСХ в системе спирт н-бутиловый – ацетон – вода очищенная (4:5:1)

СО углеводов		Rf пятен исследуемых образцов	
Наименование	Rf	Водное извлечение травы щавеля кислого	Гидролизат водного извлечения травы щавеля кислого
СО D(+) – мальтозы	0,13±0,02	-	-
СО D(+) - глюкозы	0,38±0,02	0,39±0,02	0,38±0,02
СО D(+) - галактозы	0,53±0,02	-	0,54±0,02
СО L(+) - арабинозы	0,44±0,02	-	-
СО D(+) - ксилозы	0,58±0,02	0,57±0,02	-

На хроматограмме проявлялись пятна красно – оранжевого цвета (рисунок 28). Рассчитывали Rf исследуемых и стандартных образцов. По совпадению Rf пятен исследуемых образцов с СО следует, что сахара щавеля кислого травы представлены глюкозой (Rf - 0,39±0,02), ксилозой (Rf - 0,57±0,02) и галактозой (Rf - 0,54±0,02) (таблица 31).

Далее проводили количественное определение суммы водорастворимых полисахаридов в траве щавеля кислого методом гравиметрии по методике ГФ XIV издания ФС.2.5.0032.15 [31].

В результате гравиметрического определения установлено, что содержание полисахаридов в щавеля кислого траве составило 1,27 - 1,34% (таблица 33).

3.5. Сапонины

Для обнаружения сапонинов готовили водное извлечение щавеля кислого травы (соотношение «сырье - экстрагент» - 1:10).

По результатам проведенных реакций: пенообразования, Лафона, со свинца ацетата раствором, натрия нитрата раствором, холестерина раствором спиртовым сделали вывод о присутствии в сырье тритерпеновых сапонинов (таблица 9) [16].

3.6. Липофильные соединения

Предварительное обнаружение липофильных веществ осуществляли химическими реакциями по общеизвестным методикам (см. главу II, стр. 42). Хлорофилл определяли по способности флюоресцировать в УФ свете, витамин Е идентифицировали по реакции с кислотой азотной концентрированной, витамин А и каротиноиды - по реакции Карра – Прайса, витамин К₁ по реакции с 2,6 - ДХФИФН в щелочной среде калия гидроксида [61, 118].

По результатам проведенных реакций следует, что в составе комплекса липофильных веществ сырья присутствуют хлорофиллы, каротиноиды, витамины А, Е и К₁ (таблица 9) [61, 118].

Дальнейшее изучение липофильных соединений осуществляли методом ТСХ. Для хроматографирования использовали несколько систем растворителей (см. главу II, стр. 43). В результате хроматографирования установлено, что оптимальной системой для разделения липофильных

веществ щавеля кислого травы является система гексан - хлороформ (3:1) [118].

После хроматографирования пластинку высушивали на воздухе и обрабатывали фосфорномолибденовой кислоты раствором спиртовым 5%. Липофильные соединения проявлялись в виде синих пятен на желто – зеленом фоне. Рассчитывали R_f исследуемых и стандартных образцов.

Как видно из данных рисунка 29 и таблицы 32 в щавеля кислого траве идентифицированы соединения с $R_f - 0,94 \pm 0,02$ (β – каротин) и $R_f - 0,76 \pm 0,01$ (α – токоферол) [118].



Рисунок 29 - Хроматограмма гексанового извлечения из травы щавеля кислого в системе гексан – хлороформ (3:1) после проявления фосфорномолибденовой кислоты раствором спиртовым 5%

Таблица 32 - Результаты хроматографического определения некоторых липофильных соединений в щавеля кислого траве в системе гексан - хлороформ (3:1)

СО липофильных соединений				Гексановое извлечение из травы щавеля кислого		
Наименование	R_f	Окраска в видимом свете	После обработки ФМК р-ром 5%	R_f	Окраска в видимом свете	После обработки ФМК р-ром 5%
β - каротин	$0,95 \pm 0,01$	оранжевая	синий	$0,94 \pm 0,02$	оранжевая	синий
α - токоферол	$0,75 \pm 0,02$	-	синий	$0,76 \pm 0,01$	-	синий

Для идентификации витамина K_1 методом ТСХ использовали систему растворителей бензол – петролейный эфир 1:1 [61].

При рассмотрении хроматографической пластинки в УФ-свете ($\lambda=360$ нм) в гексановом извлечении из травы щавеля кислого обнаружено пятно с $R_f - 0,61 \pm 0,02$, флюоресцирующее желто – зелёными цветом, которое совпало по показателю R_f и цвету флюоресценции с пятном стандартного образца витамина K_1 (рисунок 30) [61].

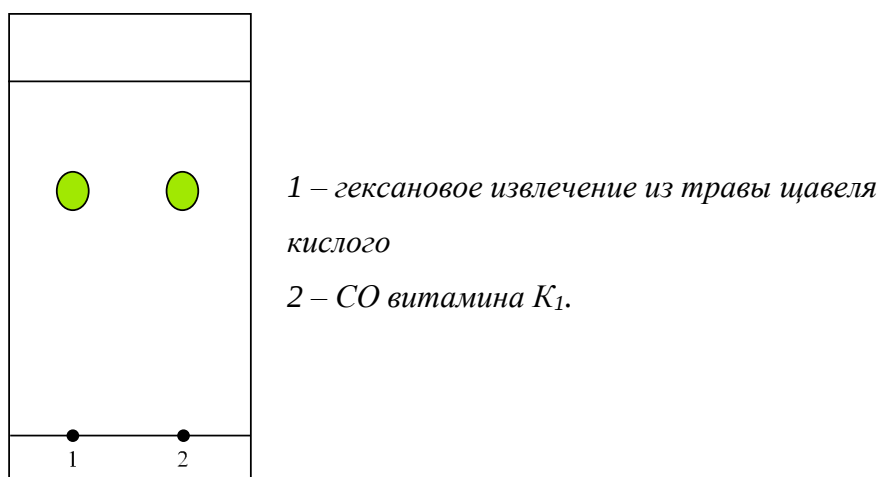


Рисунок 30 - Хроматограмма гексанового извлечения из травы щавеля кислого в системе бензол – петролейный эфир (1:1) в УФ-свете

Количественное определение суммы липофильных веществ осуществляли методом гравиметрии (см. главу II, стр. 43-44) [20].

Содержание хлорофиллов и каротиноидов устанавливали методом СФМ, позволяющим определять каротиноиды и хлорофиллы при их совместном присутствии (см. главу II, стр. 44) [68].

Количественное содержание витамина K_1 устанавливали хроматоспектрофотометрическим методом по Кавтарадзе (см. главу II, стр. 44-45) [47]. Результаты представлены в таблице 33.

Установлено, что сумма липофильных соединений щавеля кислого травы составляет от 4,43 до 5,25%; содержание хлорофиллов – от 5,94 до 8,98 мг% и каротиноидов – от 3,18 до 6,38 мг%, витамина K_1 - от 26,67 до 30,25 мг% [61, 118].

Таблица 33 – Количественное содержание различных групп БАС в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края в 2016 – 2018 гг. (n = 5; P = 95%; t_p = 2,78)

Группа БАС	Метрологические характеристики	Год заготовки		
		2016	2017	2018
Флавоноиды (в пересчете на рутин), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,63±0,02	0,63±0,01	0,59±0,02
	S $\bar{x}$	0,0650	0,0700	0,0840
	ε, %	1,35	1,54	1,78
Фенолокислоты (в пересчете на феруловую кислоту), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,45±0,01	0,40±0,01	0,61±0,01
	S $\bar{x}$	0,0747	0,0614	0,0542
	ε, %	2,44	3,50	1,64
Дубильные вещества (в пересчете на галловую кислоту), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	3,84±0,10	5,61±0,09	4,78±0,09
	S $\bar{x}$	0,0743	0,0610	0,0545
	ε, %	2,60	1,62	1,78
Катехины (в пересчете на эпигаллокатехин галлат), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	1,02±0,03	2,12±0,07	1,56±0,04
	S $\bar{x}$	0,0321	0,0417	0,0398
	ε, %	2,94	3,30	2,56
Антраценпроизводные (в пересчете на эмодин), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,31±0,004	0,45±0,01	0,49±0,01
	S $\bar{x}$	0,052	0,064	0,071
	ε, %	1,28	1,78	1,23
Кумарины (в пересчете на кумарин), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,48±0,01	0,37±0,01	0,46±0,01
	S $\bar{x}$	0,0114	0,0102	0,0064
	ε, %	2,95	3,26	1,75
Аминокислоты (в пересчете на глутамин), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	7,56±0,01	8,16±0,01	7,83±0,01
	S $\bar{x}$	0,0600	0,1100	0,0750
	ε, %	0,98	1,12	1,04
Органические кислоты (в пересчете на щавелевую кислоту), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	1,06±0,01	2,13±0,02	0,93±0,02
	S $\bar{x}$	0,0339	0,0289	0,0336
	ε, %	1,13	1,67	1,84
Аскорбиновая кислота, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	4,70±0,11	3,91±0,01	4,15±0,01
	S $\bar{x}$	0,0491	0,0512	0,0424
	ε, %	2,34	2,43	2,24
Полисахариды, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	1,34±0,02	1,41±0,02	1,27±0,02
	S $\bar{x}$	0,0964	0,1015	0,0764
	ε, %	1,49	1,48	1,89
Сумма липофильных веществ, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	4,68±0,26	5,25±0,34	4,43±0,52
	S $\bar{x}$	0,112	0,203	0,097
	ε, %	5,62	5,32	4,43
Хлорофиллы, мг%	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	6,79±0,02	8,98±0,03	5,94±0,02
	S $\bar{x}$	0,015	0,056	0,024
	ε, %	0,27	0,67	0,55
Каротиноиды (в пересчете на β-каротин), мг%	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	3,18±0,02	6,38±0,03	4,46±0,02
	S $\bar{x}$	0,012	0,022	0,018
	ε, %	0,47	0,65	0,54
Витамин К ₁ , мг%	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	27,45±0,16	30,25±0,21	26,67±0,12
	S $\bar{x}$	0,5781	0,6524	0,5410
	ε, %	0,98	1,37	1,23

Выводы по главе

1. Проведено исследование состава комплекса биологически активных соединений щавеля кислого травы:
 - Установлено содержание флавоноидов, конденсированных и гидролизуемых дубильных веществ, антраценпроизводных, кумаринов, аминокислот, органических кислот, аскорбиновой кислоты, углеводов, тритерпеновых сапонинов, липофильных соединений;
 - Фенольные соединения представлены: простыми фенолами – пирокатехин; стильбенами – ресвератрол; флавоноидами – кверцетин и его гликозиды рутин и гиперозид, кверцетрин; кемпферол и его гликозиды кемпферол-7-О-рамнозид, кемпферол-3-О-рамнозид; фенолокислотами – кофейная кислота, п-кумаровая кислота и ее производные, феруловая кислота; дубильными веществами гидролизуемой группы – галловая и эллаговая кислоты и их производные, эллаготанин; конденсированной группы – производные катехина (эпигаллокатехин галлат); антраценпроизводными – группы 1,8 – диоксиантрахинона (фисцион, реин, эмодин); кумаринами – производные кумарина, 7-метоксикумарина;
 - Установлен аминокислотный состав и идентифицированы глутамин, аспарагиновая кислота, α - аланин, аспарагин, валин и β - аланин.
 - Комплекс органических кислот содержит щавелевую, яблочную, лимонную, винную и янтарную кислоты;
 - Моносахариды представлены глюкозой, ксилозой и галактозой;
 - Комплекс липофильных соединений составляют хлорофиллы, каротиноиды (β – каротин), α – токоферол и витамин К₁.
2. В результате количественного определения БАС химическими и физико-химическими методами установлено содержание флавоноидов

(в пересчете на рутин) 0,59 - 0,63%; фенолокислот (в пересчете на феруловую кислоту) 0,40 - 0,61%; дубильных веществ (в пересчете на галловую кислоту) 3,84 - 5,61%; катехинов (в пересчете на эпигаллокатехин галлат) 1,02 - 2,12%; антраценпроизводных (в пересчете на эмодин) 0,31 - 0,49%; кумаринов (в пересчете на кумарин) 0,37 - 0,48%; аминокислот (в пересчете на глутамин) 7,56 - 8,16%; органических кислот (в пересчете на щавелевую кислоту) 0,93 - 2,13%; аскорбиновой кислоты 3,91 - 4,70%; суммы липофильных соединений 4,43 - 5,25%; хлорофиллов 5,94 - 8,98 мг%; каротиноидов 3,18 - 6,38 мг%, витамина К₁ 26,67 - 30,25 мг%.

ГЛАВА IV ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАСТОЯ ТРАВЫ ЩАВЕЛЯ КИСЛОГО

Настоящая глава посвящена установлению специфической активности и определению острой токсичности настоя щавеля кислого травы.

4.1. Изучение острой токсичности настоя травы щавеля кислого

Изучение острой токсичности щавеля кислого травы проводили на белых мышах обоего пола, массой около 20 г. Настой травы щавеля кислого вводили животным внутрижелудочно с помощью зонда в дозах 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг, 2500 мг/кг. Состояние животных фиксировали через 4 часа, 24 часа, 48 часов в сравнении с животными контрольной группы [88].

Таблица 34 – Результаты определения острой токсичности настоя травы щавеля кислого при внутрижелудочном введении белым мышам

Группа	Доза, мг/кг	Количество животных, шт			Гибель, %	LD ₅₀
		Взятых в опыт	Погибших	Выживших		
Контроль	-	10	-	10	-	-
Опыт	1000	10	-	10	-	-
	1500	10	-	10	-	-
	2000	10	-	10	-	-
	2500	10	-	10	-	-

Из данных таблицы 34 видно, что введение настоя травы щавеля кислого в указанных дозах не вызывало гибели экспериментальных животных. Отклонений в общем состоянии животных опытной группы по сравнению с животными контрольной группы не отмечено. Таким образом,

можно сделать вывод о практической безвредности настоя травы щавеля кислого.

4.2. Изучение специфической активности настоя травы щавеля кислого

Фитохимические исследования щавеля кислого травы показали, что в сырье содержится комплекс БАС, включающий фенольные соединения (фенолокислоты, флавоноиды, дубильные вещества), органические кислоты и аскорбиновую кислоту.

Противовоспалительное действие фенольных соединений объясняется способностью связывать ферменты воспалительного процесса – фосфолипазы A_2 , циклооксигеназы и липооксигеназы, нарушая образование эйкозаноидов и ослабляя развитие воспалительной реакции [1, 74, 140].

Наличие антиоксидантной активности связывают с присутствием в структуре фенольных соединений гидроксильных, метильных, метоксильных, ацетильных и других функциональных групп позволяет им инактивировать свободные радикалы с образованием малоактивных стабильных радикалов и вступать в реакции комплексообразования с ионами металлов (железом, медью, кобальтом, цинком и т.д), что предотвращает катализ окислительно – восстановительных реакций. Механизм антиоксидантной активности органических кислот, в частности янтарной кислоты, связан с их способностью восстанавливать антиоксидантные ферментативные системы организма и связывать свободные радикалы; аскорбиновой кислоты – с превращением в ходе одноэлектронного окисления при взаимодействии со свободным радикалом в монодегидроаскорбиновую кислоту – малоактивный свободный радикал, не способный вступать в окислительно – восстановительные реакции [15, 45, 42].

4.2.1. Исследование противовоспалительной активности

Противовоспалительную активность исследовали на моделях острого и хронического воспаления согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2012) [88].

Противовоспалительную активность при остром экссудативном воспалении исследовали на модели острого воспаления «каррагенинового отека» после двухнедельного введения настоя из щавеля кислого травы в дозе 100 мг/кг (см. главу II, стр. 49-50) [40].

Исследования проводили на 30 крысах линии Wistar обоего пола массой тела 200-250 г, которые были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой [40].

Животные опытной группы получали на протяжении 14 дней настой травы щавеля кислого в дозе 100 мг/кг. Объем настоя (0,6 - 0,76 мл) рассчитывали в миллилитрах на массу тела животного с учетом содержания экстрактивных веществ настоя травы щавеля кислого, содержание которых составило 33 мг/мл.

Животные группы сравнения на протяжении 14 дней получали ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг/кг, контрольной группы – эквивалентное настою количество воды очищенной. Последнее введение настоя осуществлялось за 1 час до инъектирования флогистика.

Острое экссудативное воспаление индуцировали субплантарным введением 0,1 мл раствора каррагенина 1% [88].

Противовоспалительную активность оценивали по наличию антиэкссудативного эффекта – способности снижать степень отека конечности, индуцированного флогистиком, выраженный в процентах по отношению к контролю. Эффективными считаются препараты со степенью антиэкссудативного эффекта, превышающего 30 % [40].

В условиях длительного курсового введения в дозе 100 мг/кг настой травы щавеля кислого ослаблял формирование отека. Максимальный

антиэкссудативный эффект наблюдался через час после инъекции каррагинина – у крыс, получавших настой, прирост объема конечности составил в среднем $0,33 \text{ см}^3$, что на 32,7% меньше соответствующего прироста в контроле. В конце второго часа наблюдалось ослабление эффекта угнетения острого воспаления, средний прирост объема конечности в среднем составил $0,55 \text{ см}^3$, что на 9,8% меньше соответствующего прироста в контроле. К концу наблюдений прирост объема лапы составил $0,71 \text{ см}^3$, что ниже исходного уровня на 9% (рисунок 31, таблица 35) [65].

Препарат сравнения – ацетилсалициловая кислота в дозе 100 мг/кг в первый час оказал противовоспалительный эффект равный 11,7% по отношению к контролю, что в 2,8 раза меньше по сравнению с противовоспалительным эффектом настоя травы щавеля кислого. В конце второго часа проявилось усиление противовоспалительного эффекта ацетилсалициловой кислоты – 16% по отношению к контролю, что в 1,6 раза больше эффекта настоя. В конце наблюдений активность ацетисалициловой кислоты составила 11,9%, показывая в 1,3 раза большую активность, чем настой (рисунок 31).

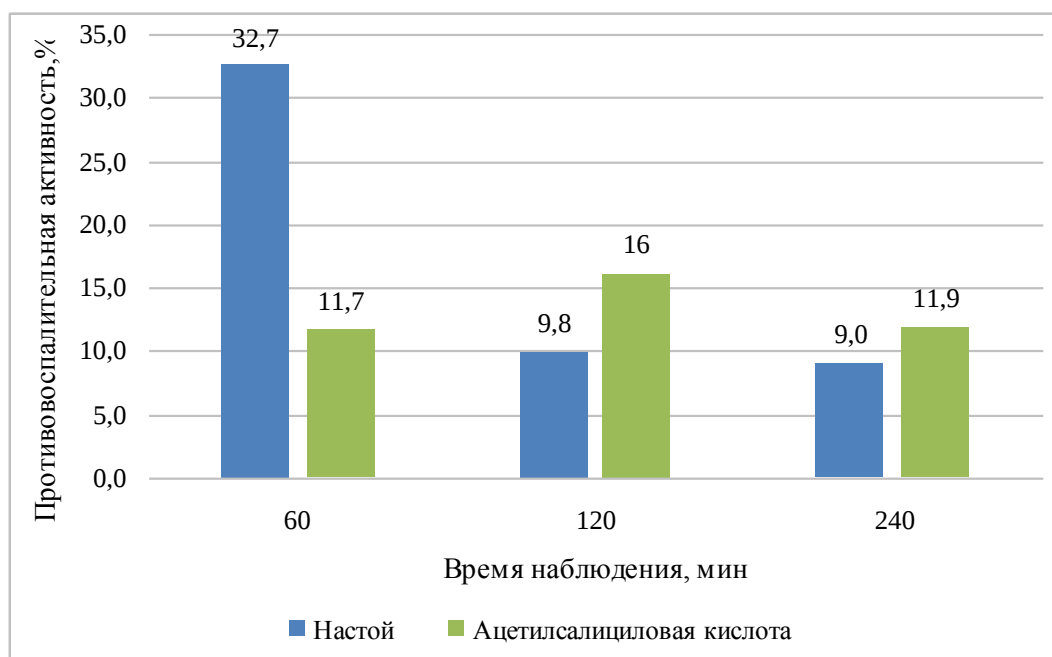


Рисунок 31 – Влияние настоя травы щавеля кислого и ацетилсалициловой кислоты на течение острого воспаления у крыс

Таблица 35 – Результаты определения противовоспалительной активности настоя травы щавеля кислого на модели острого воспаления

Группа исследования			Контроль	Настой
Количество животных			10	10
Доза, мг/кг			-	100
Время наблюдения	60 мин	Средний прирост объема конечности, см ³	0,49±0,08	0,33±0,07
		Противовоспалительная активность, %	-	32,7
	120 мин	Средний прирост объема конечности, см ³	0,61±0,07	0,55±0,09
		Противовоспалительная активность, %	-	9,8
	240 мин	Средний прирост объема конечности, см ³	0,78±0,09	0,71±0,09
		Противовоспалительная активность, %	-	9,0

Таким образом, при изучении противовоспалительной активности настоя травы щавеля кислого на модели острого воспаления установлено, что в дозе 100 мг/кг настой ослабляет развитие каррагенинового отёка у крыс. Это свидетельствует об эффективности применения настоя травы щавеля кислого при остром воспалительном процессе.

Активность настоя травы щавеля кислого при **хроническом пролиферативном воспалении** изучали на модели воспалительной «хлопчатобумажной гранулемы» (см. главу II, стр. 50-51) [88].

Исследования проводили на 30 крысах линии Wistar обоего пола массой тела 200-250 г, которые были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой.

Животным опытной группы вводили внутривентрикулярно настой травы щавеля кислого в дозе 100 мг/кг. Объем настоя (0,6 - 0,76 мл), необходимый для введения лабораторным животным за один прием, рассчитывали в миллилитрах массы тела животного с учетом содержания экстрактивных веществ в сырье (33 мг/мл). Группе сравнения вводили ацетилсалициловую

кислоту в дозе 100 мг/кг. Контрольной группе животных вводили эквивалентные количества воды очищенной в аналогичном режиме.

Таблица 36 – Результаты определения противовоспалительной активности настоя травы щавеля кислого на модели хронического воспаления

Группа исследования	Число животных	Доза, мг/кг	Масса воспалительной гранулемы в сухом виде, мг	Угнетение пролиферации, %
Контроль	10	-	51,8±0,035	-
Настой	10	100	39,4±0,021	56,7±0,045
Ацетилсалициловая кислота	10	100	29,2±0,010	78,0±0,061

В контрольной группе животных масса грануляционной ткани составила 51,8±0,015 мг. Эта величина принята за 100%.

Согласно данным таблицы 36 в результате введения настоя травы щавеля кислого величина гранулематозной ткани была меньше по сравнению с контрольной группой в 1,7 раза, что свидетельствует о противовоспалительной активности при хроническом воспалении – 56,7%.

Следует отметить, что в результате введения ацетилсалициловой кислоты в дозе 100 мг/кг величина гранулематозной ткани по сравнению с контрольной группой была меньше в 5,6 раза, что указывает на противовоспалительную активность равную 78%.

Следовательно, настой травы щавеля кислого в дозе 100 мг/кг оказывает в 1,4 раза меньшую противовоспалительную активность при хроническом воспалении, чем ацетилсалициловая кислота в аналогичной дозе.

Полученные результаты свидетельствует о том, что настой травы щавеля кислого в данных экспериментальных условиях оказывает влияния на течение хронического воспалительного процесса.

4.2.2. Исследование антиоксидантной активности

Антиоксидантную/прооксидантную активность настоя травы щавеля кислого оценивали скрининговым методом *in vitro* по способности БАС ингибировать супероксидрадикал в реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде. Измеряли оптическую плотность раствора адреналина с добавлением натрий – карбонатного буфера и раствора адреналина с добавлением натрий – карбонатного буфера и настоя из сырья. За конечный результат принимали среднее арифметическое значение из трех последовательных измерений [121].

Для оценки влияния настоя на процесс аутоокисления адреналина было выбрано время экспозиции равное 10 минут, поскольку интенсивность образования продукта окисления адреналина наиболее высока в этот промежуток времени.

Для сравнения использовали настой травы горца птичьего – растения семейства гречишные, содержащего аналогичный щавеля кислого траве комплекс БАС, включающий флавоноиды, аскорбиновую кислоту, дубильные вещества. Настой травы горца птичьего обладает антиоксидантной активностью.

Антиоксидантную активность (АОА) выражали в процентах ингибирования аутоокисления адреналина и вычисляли по формуле (см. главу II, стр.51-52). Величина АОА более 10% свидетельствует о наличии антиоксидантной активности [84].

Согласно данным рисунка 32 настой травы щавеля кислого проявляет максимальную антиоксидантную активность на 3,5 минуте – 28,3% и минимальную на 8,5 минуте – 2,38%. Антиоксидантная активность сменяется прооксидантной активностью на 9 мин [121].



Рисунок 32 – Результаты определения антиоксидантной активности настоя травы щавеля кислого методом *in vitro*

Настой травы горца птичьего проявляет максимальную антиоксидантную активность на 1 мин – 20,32% и минимальную на 5 мин – 1,70%. На 6 мин антиоксидантная активность сменяется прооксидантной (рисунок 33).



Рисунок 33 - Результаты определения антиоксидантной активности настоя травы горца птичьего методом *in vitro*.

При сравнении антиоксидантной активности настоя исследуемого вида сырья и настоя травы горца птичьего, установлено, что настой травы щавеля кислого обладает в 1,4 раза большей антиоксидантной активностью.

Выводы по главе

1. Доказана практическая безвредность настоя травы щавеля кислого. Внутривентрикулярное введение настоя в дозах от 1000 мг/кг до 2500 мг/кг не вызывало гибели ни одного опытного животного.
2. Установлено, что настой травы щавеля кислого в дозе 100 мг/кг оказывает угнетающее действие на течение воспалительного процесса. Противовоспалительная активность при остром воспалении составляет 32,7%, при хроническом – 56,7%.
3. Результаты скринингового исследования методом *in vitro* показали наличие антиоксидантной активности водного настоя из травы щавеля кислого.

ГЛАВА V СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЩАВЕЛЯ КИСЛОГО ТРАВЫ

Фитохимические и фармакологические исследования показали целесообразность и перспективы использования щавеля кислого травы в качестве лекарственного растительного сырья. В связи с этим необходимо разработать нормативный документ на лекарственное растительное сырье, что предусматривает определение показателей, регламентирующих качество сырья.

Проводили фармакогностический анализ щавеля кислого травы: устанавливали показатели подлинность и доброкачественность сырья.

Подлинность устанавливали путем макроскопического, микроскопического и фитохимического анализов.

Для установления показателей доброкачественности определяли числовые показатели: влажность, экстрактивные вещества, содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, органической и минеральной примеси, сырья, изменившего окраску, содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту.

5.1. Определение подлинности щавеля кислого травы

5.1.1. Изучение морфологических признаков щавеля кислого травы

Щавеля кислого трава представляет собой верхние части стеблей до 70 см с листьями и соцветиями. Стебли бороздчатые, неветвистые, толщиной от 0,2 до 0,5 см. Листья очередные, простые, черешковые или сидячие, размером от 7 до 20 см, листовые пластинки продолговато-яйцевидные, при основании стреловидные или копьевидные с острыми лопастями, направленными вниз, край листа цельный, жилкование перистое. На нижней стороне листа ярко выраженная центральная жилка. Черешок до 20 см длиной, бороздчатый. Находящиеся у основания черешковых листьев раструбы – пленчатые, красноватые, бахромчато – надрезанные. Соцветия

верхушечные - кисти, образующие метёлку. Цветки актиноморфные, мелкие, с простым чашечковидным околоцветником, который состоит из 6 лепестков, расположенных в два круга по 3. Цвет стеблей и листьев зеленый, иногда с розовым или бурым оттенком; цветки – розовые или желтые, реже зеленоватые. Запах слабый, своеобразный. Вкус водного извлечения кисловатый, вяжущий (рисунок 34).



Рисунок 34 - Внешний вид щавеля кислого травы цельной

5.1.2. Изучение анатомического строения щавеля кислого травы

Микроскопический анализ щавеля кислого травы проводили по общеизвестным методикам и в соответствии с ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и ОФС «Травы» ГФ XIV изд. Готовили поверхностные препараты и поперечные срезы, которые выполняли лезвием от руки (см. главу II, стр. 28) [111].

Стебель. Стебель щавеля кислого в поперечном сечении округлой формы с выступающими ребрами, пучкового типа строения (рисунок 35) [111].

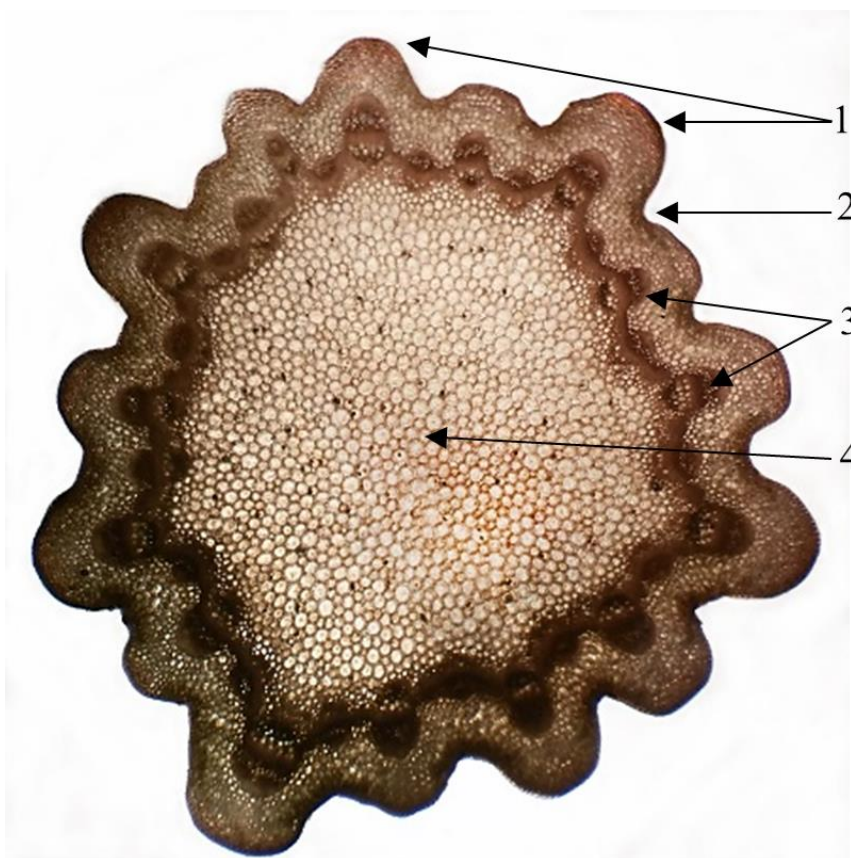


Рисунок 35 - Поперечный срез стебля щавеля кислого (увл. х24): 1 – ребра; 2 – межреберье; 3 – проводящие пучки; 4 – сердцевина;

Первичная кора стебля хорошо выражена, состоит из уголковой колленхимы, основной паренхимы и эндодермы. Колленхима наиболее

развита в ребрах, где образует мощные тяжи из 4–6 рядов клеток. В междуреберье колленхима расположена в 1–3 ряда (рисунок 36) [111].

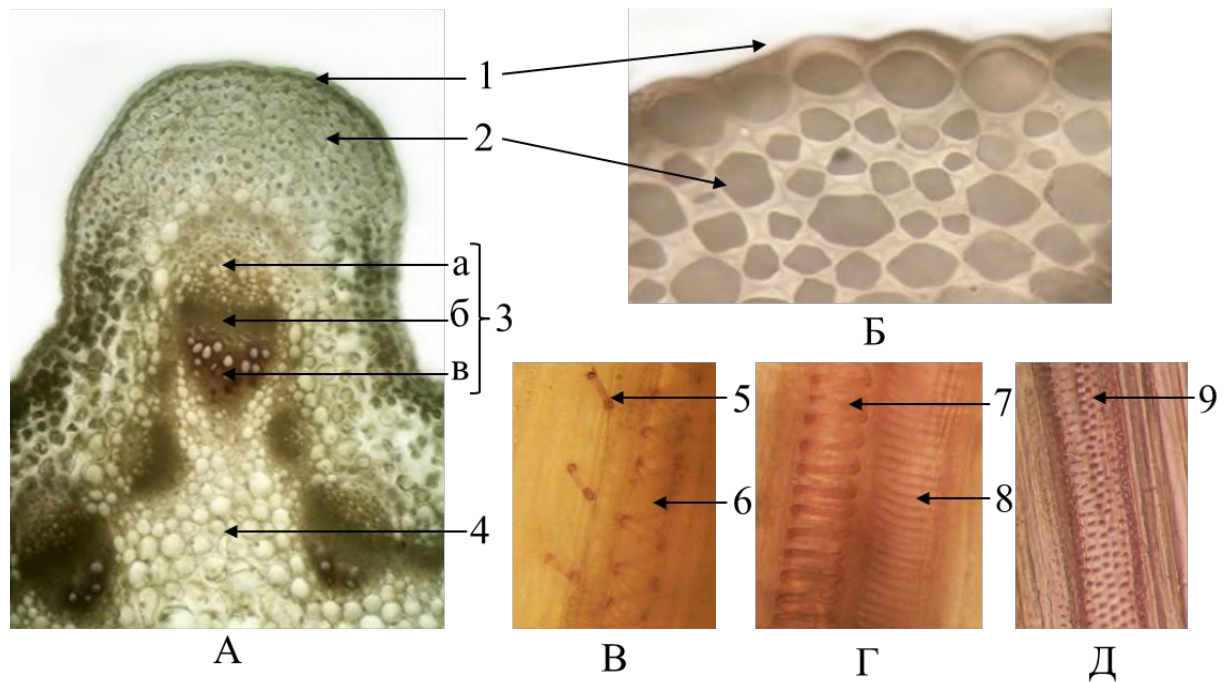


Рисунок 36 – Поперечный срез стебля щавеля кислого (А – увл. $\times 100$, Б – увл. $\times 400$): 1 – эпидерма; 2 – уголкового колленхима; 3 – коллатеральный сосу­дисто – волокнистый пучок: а – флоэма; б – камбий, в – ксилема, 4 – основная паренхима; (Е, Ж, З – увл. $\times 630$): 5 – кольчатое утолщение, 6,7,8 – спиральное утолщение, 9 – лестничное утолщение.

В центральном цилиндре в один ряд по кругу расположены открытые коллатеральные пучки, окруженные склеренхимой: в ребрах по одному крупному, а в междуреберье 1-3 мелких (рисунок 32, 33). Флоэма представлена ситовидными трубками с хорошо развитой мелкоклеточной паренхимой. Ксилема состоит из сосудов разного типа: кольчатые, спиральные и лестничные, расположенные радиальными рядами, по 3–5 в каждом (рисунок 36) [111].

Сердцевина занимает большой объем, образована рыхлой тонкостенной основной паренхимой в которой встречаются многочисленные друзы оксалата кальция (рисунок 35, 37) [111].

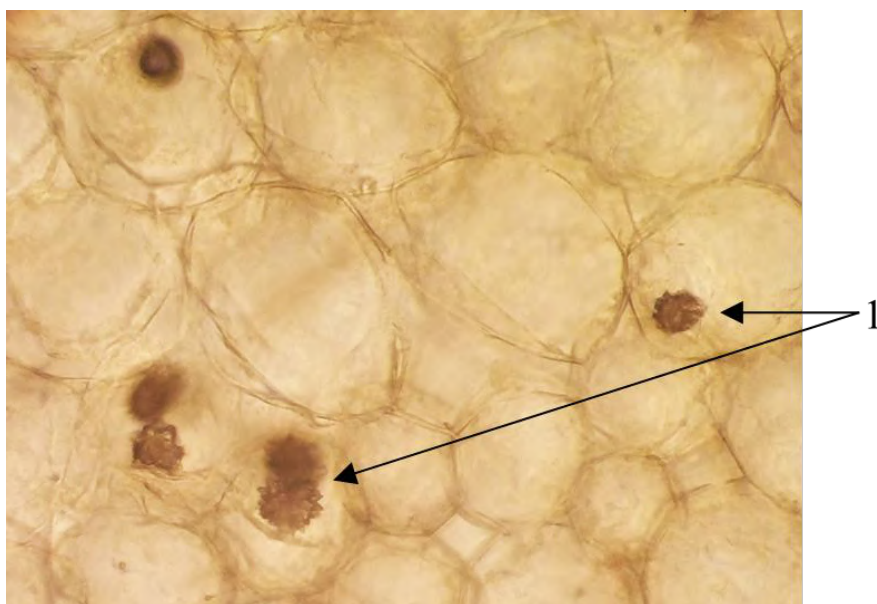


Рисунок 37 – Клетки сердцевины стебля щавеля кислого (увл. $\times 400$):
1 – друзы оксалата кальция

В клетках эндодермы заметны многочисленные мелкие крахмальные зерна, окрашивающиеся раствором Люголя в темно – синий цвет (рисунок 38) [111].

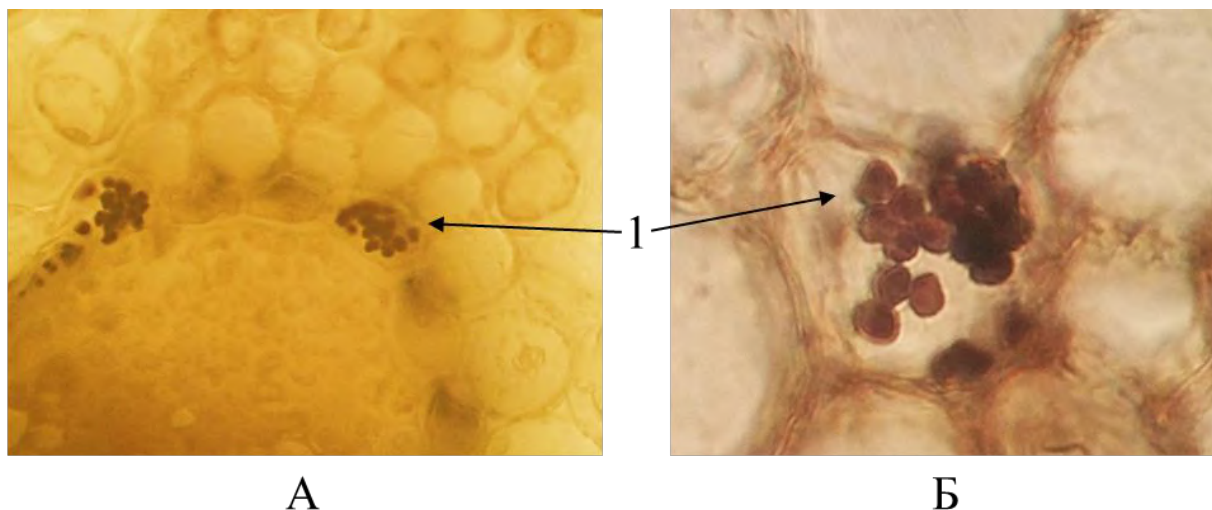


Рисунок 38 – Крахмальные зерна в эндодерме стебля щавеля кислого
(А - увл. $\times 400$, Б – увл. $\times 630$): 1 – крахмальные зерна

Клетки эпидермы стебля прямоугольные, на ребрах – продольно-вытянутые, прямостенные, устьица отсутствуют. В междуберье эпидермальные клетки больших размеров с часто встречающимися анизоцитными устьицами (рисунок 39) [111].

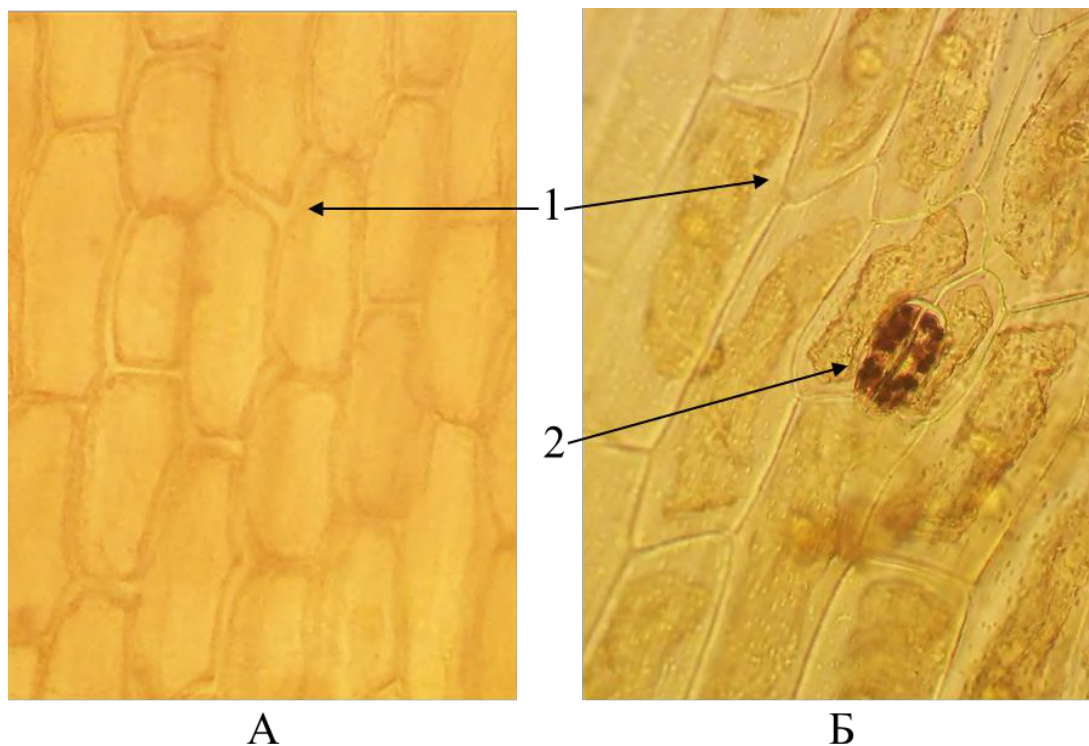


Рисунок 39 - Эпидерма стебля на ребрах (А) и в междуберье (Б) (увл. х400): 1 – клетки эпидермы, 2 – анизоцитный тип устьичного комплекса

Лист. При рассмотрении листа с поверхности видны клетки верхней и нижней эпидермы с извилистыми тонкими стенками. Устьичные комплексы расположены на верхней и нижней эпидерме. Околоустьичные клетки окружены тремя клетками: двумя мелкими и одной крупной (анизоцитный тип). На нижней и верхней эпидерме находятся сидячие железки с многоклеточной (от 4 до 8 клеток) головкой, с обеих сторон листа и вдоль главной жилки листа встречаются многочисленные друзы оксалата кальция (рисунок 40) [111].

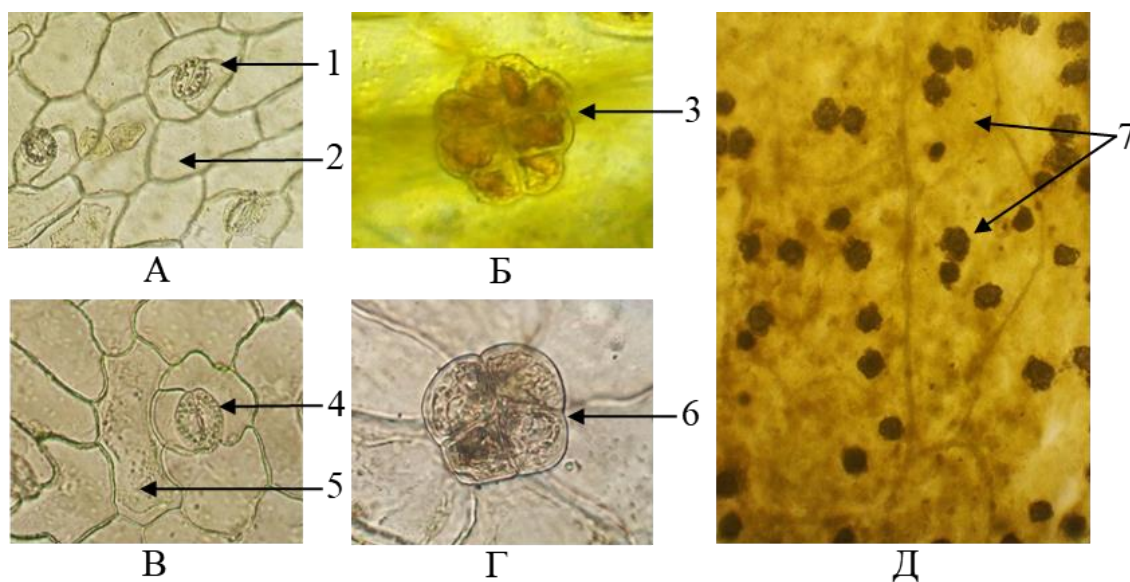


Рисунок 40 – Верхняя эпидерма (А, Б) и нижняя эпидерма (В, Г, Д) листовой пластинки (увл. х400): 1, 4 – анизоцитный тип устьичного комплекса, 2, 5 – клетки эпидермы, 3 – железка с 8-и клеточной головкой, 6 – железка с 4-х клеточной головкой, 7 – друзы оксалата кальция

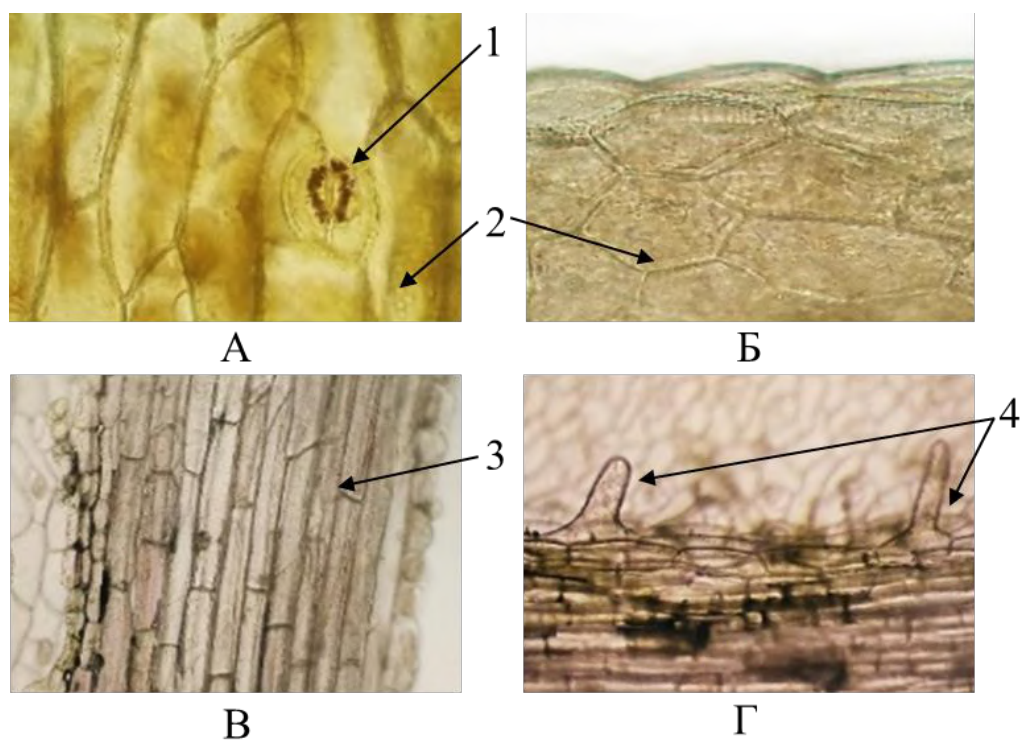


Рисунок 41 – Эпидерма в области главной жилки (А), в области края листовой пластинки (Б) и над главной жилкой (В, Г): 1 – анизоцитный тип устьичного комплекса, 2,3 – клетки эпидермы, 4 – простой одноклеточный волосок по жилке нижней стороны листа.

Над главной жилкой с обеих сторон листа клетки эпидермы вытянутые, стенки почти прямые. Встречаются простые одноклеточные сосочковидные волоски по жилке на нижней стороне листа (рисунок 41) [111].

Клетки эпидермы в области главной жилки и вблизи края листовой пластинки с верхней и нижней сторон листа имеют одинаковое строение: в области главной жилки - продольно-вытянутые, прямостенные, с часто встречающимися анизоцитными устьицами; вблизи края листовой пластинки - изодиаметральные или немного вытянутые, прямостенные, устьица отсутствуют (рисунок 41) [111].

При изучении поперечного среза листа установлено, что лист имеет дорсовентральный тип строения, мезофилл дифференцирован. Клетки палисадной паренхимы имеют вытянутую форму, расположены плотно в один или два ряда перпендикулярно поверхности листа, длина их превышает ширину. Клетки губчатой паренхимы – округлой формы и расположены рыхло, с небольшим количеством межклетников. Встречаются клетки – идиобласты с друзами оксалата кальция (рисунок 42).

Главная жилка на поперечном срезе имеет треугольную форму, ребристая, сильно выступает с нижней стороны и слабовыпуклая с верхней, в каждом ребре располагаются от 3 до 5 рядов угольной колленхимы. Включает один крупный закрытый коллатеральный проводящий пучок в центре и нескольких небольших боковых в ребрах. Ксилема всех проводящих пучков обращена к центру жилки. В боковых жилках обнаружены одиночные проводящие пучки (рисунок 43) [111].

Черешок бороздчатый, на поперечном сечении округло-треугольный. На эпидерме располагаются простые одноклеточные тонкостенные волоски. Колленхима угольная однорядная, по ребрам 4-5-тирядная, проводящие пучки закрытые коллатеральные со склеренхимной обкладкой из 5–7 рядов клеток (рисунок 44) [111].

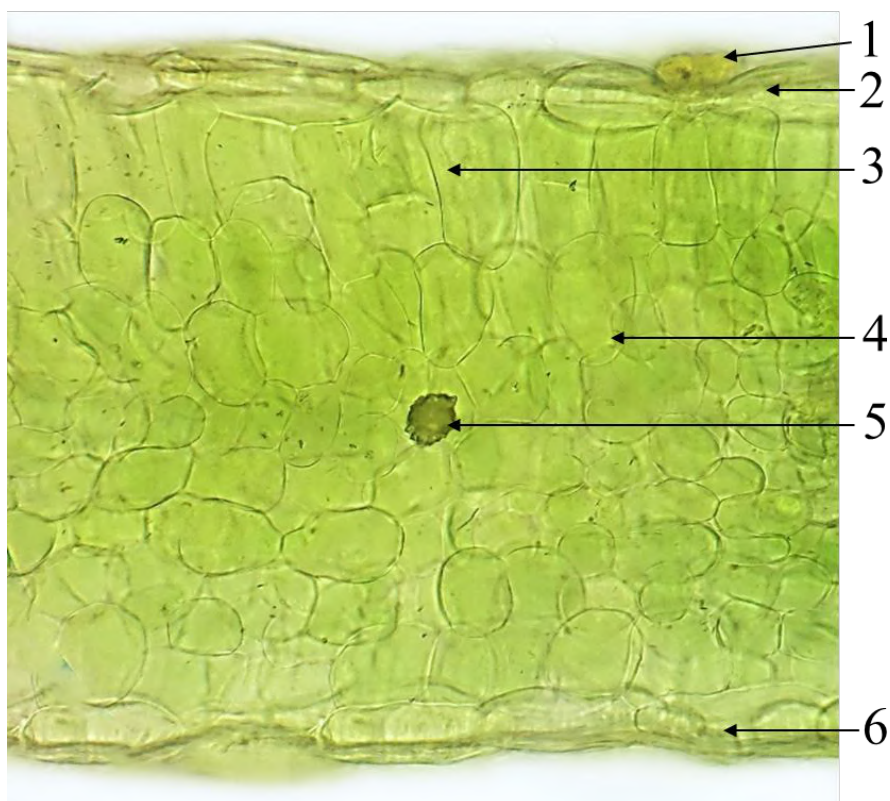


Рисунок 42 - Поперечный срез листовой пластинки (увл. 400х): 1 - железка с 4-х клеточной головкой, 2 – верхняя эпидерма, 3 – палисадная паренхима, 4 – губчатая паренхима, 5 – друза оксалата кальция, 6 – нижняя эпидерма.

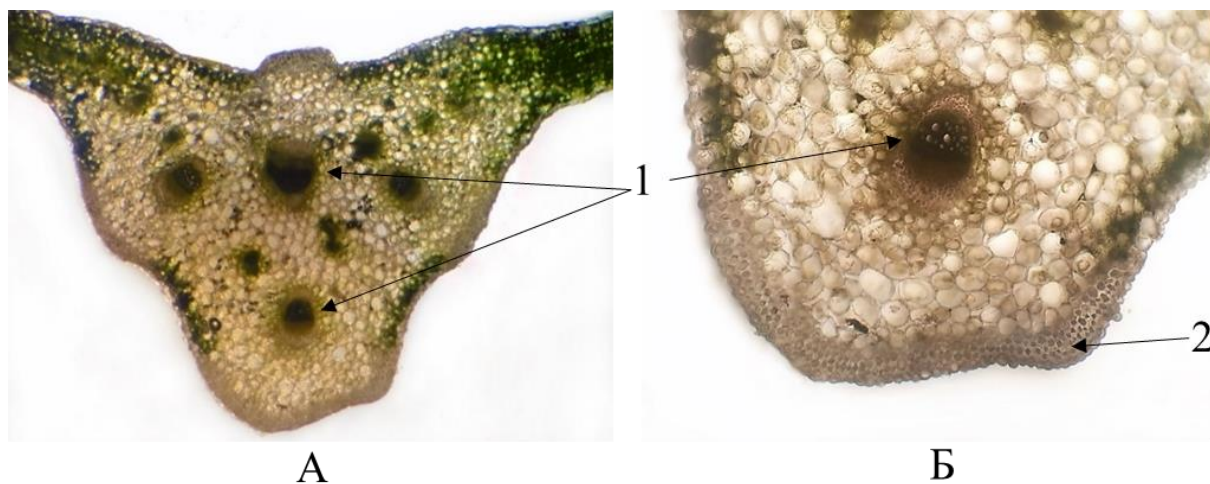


Рисунок 43 – Поперечный срез листовой пластинки в области в области главной жилки (Б - увл. x70), В - увл. x100): 7 – проводящие пучки, 8 – уголково-клетчатая колленхима;

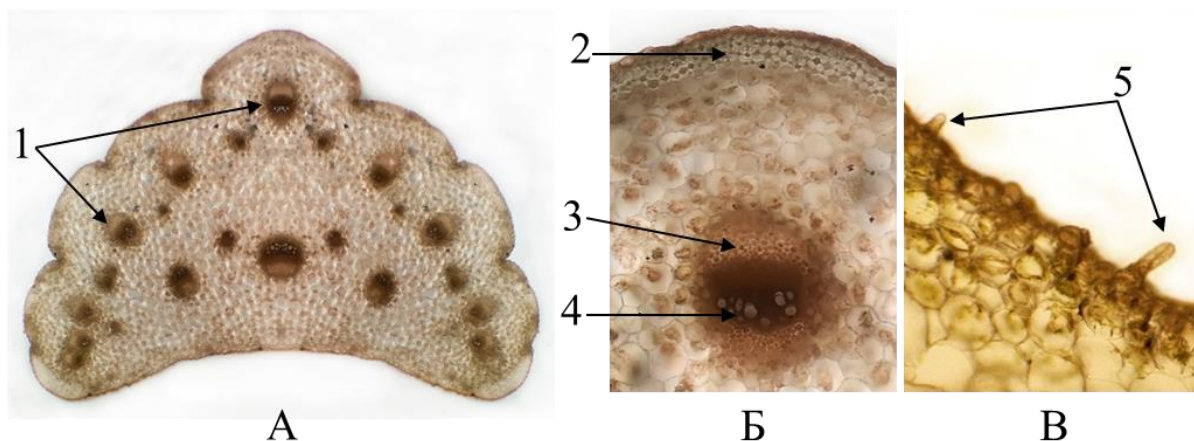


Рисунок 44 – Поперечный срез черешка листа (А - увл. x40, Б - увл. x100, В - увл. x400): 1 – закрытые коллатеральные пучки, 2 – уголковая колленхима, 3 – флоэма, 4 – ксилема, 5 – простые одноклеточные волоски.

Для растений семейства гречишные характерно наличие раструбов. Раструб черешка листа щавеля кислого бахромчато надрезанный; клетки эпидермы мелкие, плотно прилегают друг к другу, более или менее правильной, в очертании прямоугольной формы со слабо извилистыми стенками, устьица отсутствуют, в мезофилле находится большое количество друз оксалата кальция (рисунок 45) [111].

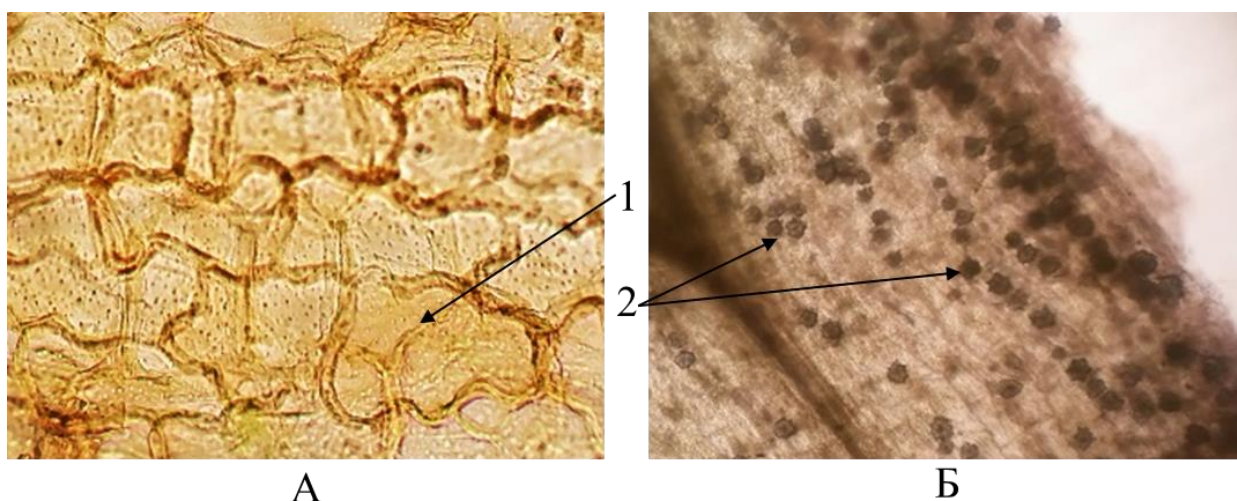


Рисунок 45 – Раструб с поверхности (А – увл. x400, Б – увл. x100): 1 – клетки эпидермы, 2 – друзы оксалата кальция

Цветок. На «давленном» микропрепарате пестичного цветка виден гинецей с тремя нитевидными столбиками и кистевидными рыльцами с сосочковидными выростами; при основании цветка вдоль жилок чашелистиков наблюдаются многочисленные друзы оксалата кальция (рисунок 46) [111].

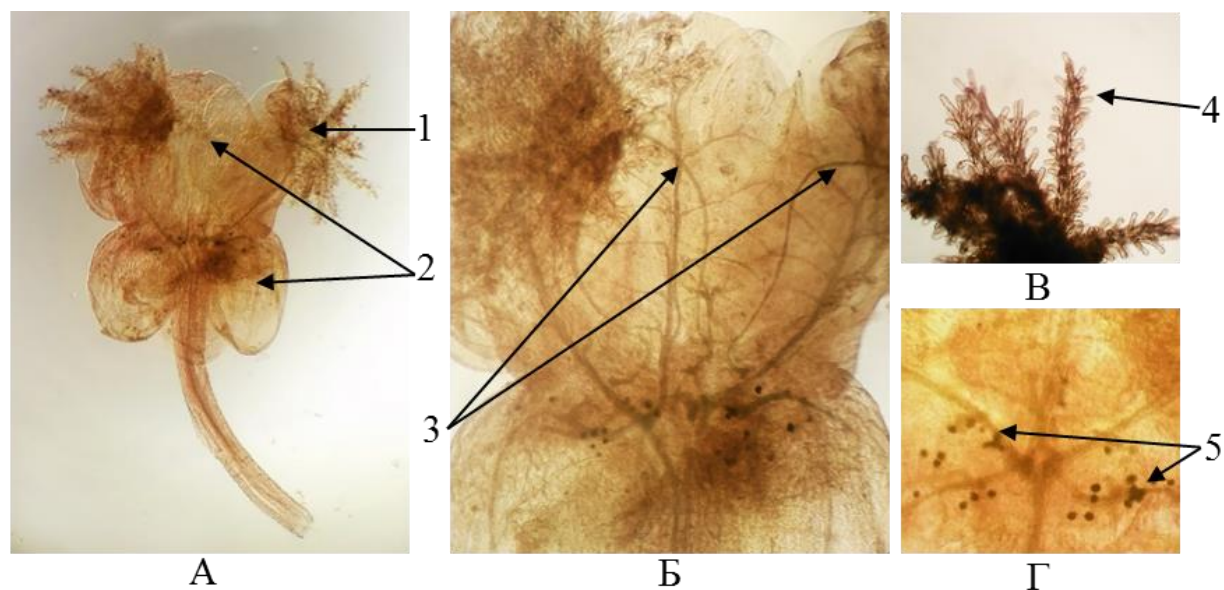


Рисунок 46 - Пестичный цветок (А – увл. x100, Б - Г – увл. x400): 1 – кистевидные рыльца, 2 – чашелистики, 3 – нитевидные столбики, 4 – сосочковидные выросты, 5 – друзы оксалата кальция

При рассмотрении чашелистика с поверхности видны клетки верхней эпидермы с сильно извилистыми стенками и устьица аномоцитного типа; клетки нижней эпидермы прямыми стенками, железами с 4-х клеточной головкой и имеют сосочковидные выросты по краям чашелистика (рисунок 47) [111].

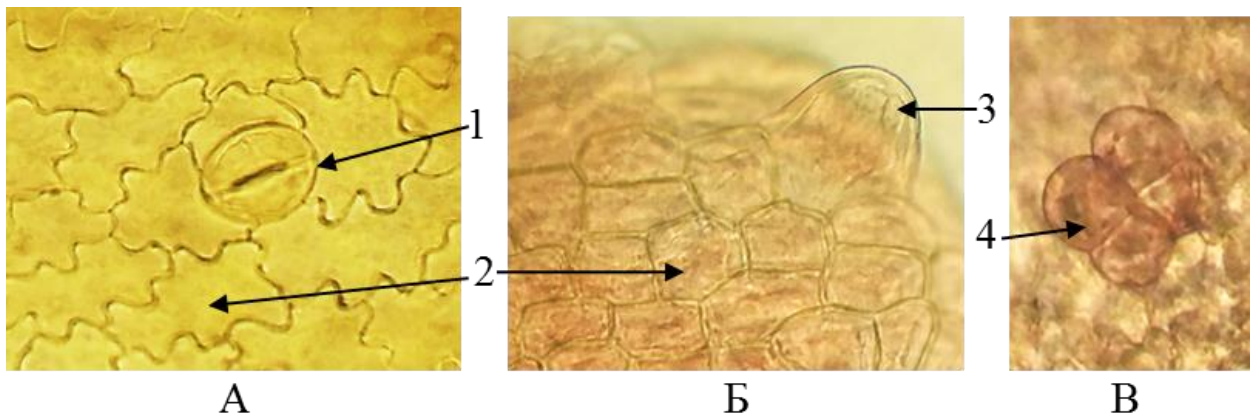


Рисунок 47 - Верхняя (А) и нижняя (Б, В) эпидерма чашелистиков пестичного цветка (увл. х400): 1 – аномоцитный тип устьичного комплекса, 2 – клетки эпидермы, 3 – сосочковидный вырост эпидермы, 4 – железка с 4-х клеточной головкой.

Тычиночный цветок состоит из чашелистиков и 6 тычинок с сосочковидными выростами и пыльцевыми зернами округлой формы (рисунок 48).

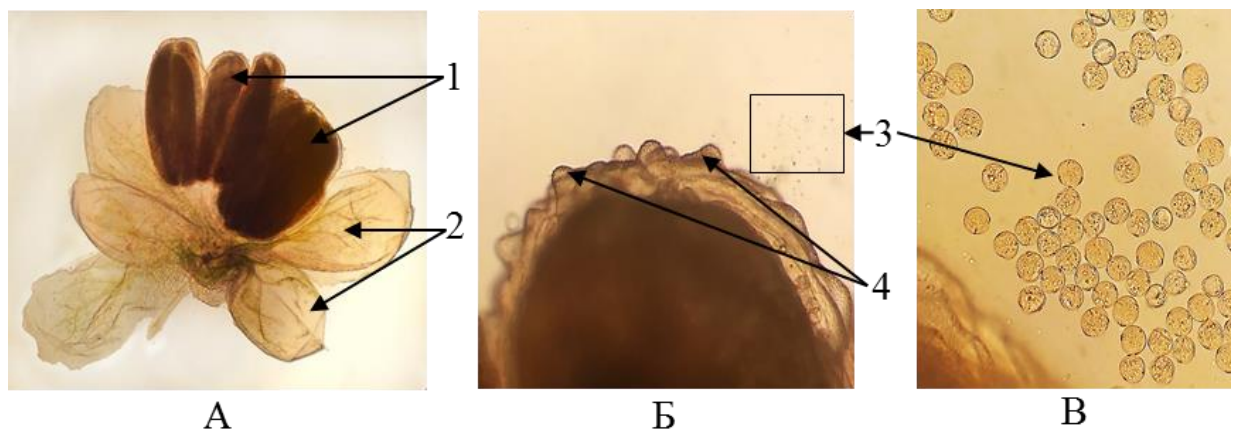


Рисунок 48 - Тычиночный цветок (А – увл. х100, Б, В – увл. х400): 1 – тычинки, 2 – чашелистики, 3 – пыльцевые зерна, 4 – сосочковидные выросты.

На микропрепарате с поверхности чашелистиков видны клетки верхней и нижней эпидермы: верхняя эпидерма - в центре в области жилок и при основании чашелистика клетки с прямыми стенками и устьицами аномоцитного типа; ближе к краю чашелистика клетки эпидермы с сильно

извилистыми стенками; нижняя эпидерма - в центре в области жилок и при основании чашелистика клетки со слабо извилистыми стенками и устьицами аномоцитного типа; ближе к краю чашелистика клетки эпидермы с сильно извилистыми стенками, имеются железы с 4-х клеточной головкой (рисунок 49).

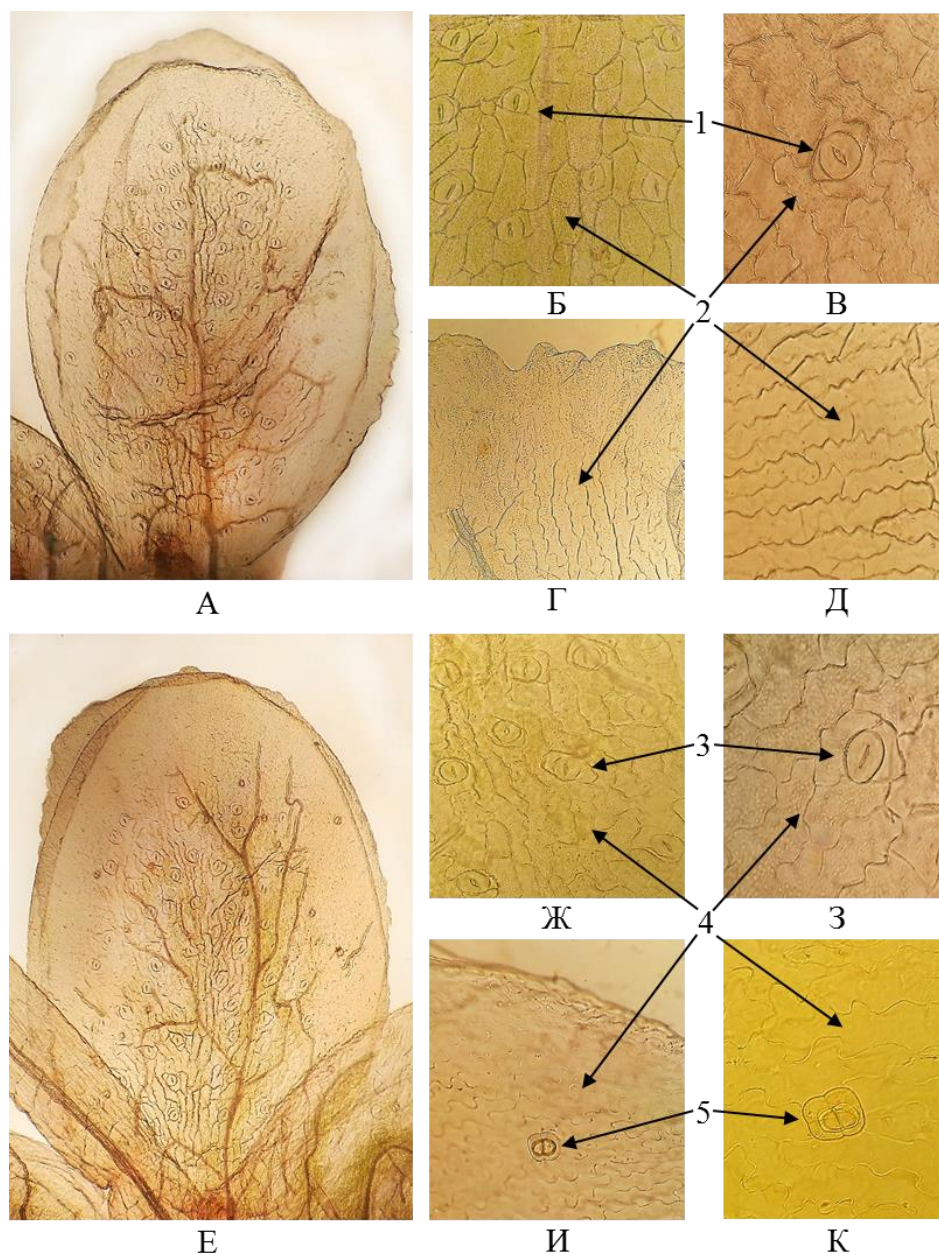


Рисунок 49 - Верхняя (А - Д) и нижняя (Е - К) эпидерма чашелистиков пестичного цветка (А, Е - увл. $\times 100$; Г, Ж, И – увл. $\times 400$; Б, В, Д, З, К - увл. $\times 630$): 1,3 – аномоцитный тип устьичного комплекса, 2,4 – клетки эпидермы, 5 – железа с 4-х клеточной головкой

5.2. Определение показателей доброкачественности щавеля кислого травы

Сырье заготавливали в различающихся по климатическим условиям и уровню техногенной нагрузки районах Алтайского края – Калманском, Первомайском, Курьинском, Змеиногорском районах, окрестностях г. Барнаула.

Определяли следующие показатели: влажность, зола общая и зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, органическая и минеральная примеси, экстрактивные вещества, количественное содержание флавоноидов и дубильных веществ.

Исследование проводили по фармакопейным методикам ГФ XIV изд. в пяти повторностях (см. главу II, стр.48) [29, 30]. Полученные данные статистически обрабатывали, результаты представлены в таблице 38.

В результате исследования установлены следующие значения показателей доброкачественности щавеля кислого травы: влажность – 6,98 - 8,41%; экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70% – 49,98 - 54,14%; зола общая – 9,87 - 13,78%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – 0,49 - 0,61%; органическая примесь - 0,67 - 1,50%; минеральная примесь – 0,45 - 0,76%; сырье, изменившее окраску – 0,19 - 0,53%; сумма флавоноидов в пересчете на рутин – 0,59 - 1,14%; дубильные вещества в пересчете на галловую кислоту – 3,19 - 5,35% [113].

5.3. Определение экстрактивных веществ

В ходе фитохимического исследования установлено, что основными группами БАС щавеля кислого травы являются флавоноиды и дубильные вещества. Данные соединения обладают разными физико-химическими свойствами, необходимо подобрать оптимальные растворители для извлечения экстрактивных веществ, флавоноидов и дубильных веществ.

В качестве растворителей использовали воду очищенную и спирт этиловый в различных концентрациях (20%, 40%, 70%, 90%).

Определение количественного содержания флавоноидов и дубильных веществ осуществляли по методикам, приведенным в главе 3, стр. 63-64, 76-77. Результаты исследования приведены в таблице 37.

Таблица 37 – Содержание экстрактивных веществ, суммы флавоноидов и дубильных веществ в траве щавеля кислого с использованием различных экстрагентов

Экстрагент	Метрологические характеристики (n = 5; P = 95%; t _p = 2,78)								
	Экстрактивные вещества, %			Сумма флавоноидов (в пересчете на рутин), %			Сумма дубильных веществ (в пересчете на галловую кислоту), %		
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	S $\bar{x}$	ε, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	S $\bar{x}$	ε, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	S $\bar{x}$	ε, %
Вода очищенная	31,37±0,07	0,06	0,22	0,45±0,012	0,0100	2,67	5,61±0,08	0,0542	1,25
Спирт этиловый 20%	43,43±0,08	0,0612	0,17	0,49±0,008	0,0121	1,63	4,68±0,10	0,0601	2,14
Спирт этиловый 40%	44,36±0,07	0,0500	0,15	0,59±0,005	0,0421	0,85	5,24±0,09	0,0498	1,72
Спирт этиловый 70%	53,71±0,06	0,0408	0,10	0,63±0,004	0,0461	0,63	3,15±0,07	0,0514	2,22
Спирт этиловый 90%	31,68±0,03	0,0311	0,10	0,56±0,007	0,0530	1,25	0,35±0,007	0,0591	1,97

При определении экстрактивных веществ установлено, что экстрагирующая способность повышается по мере увеличения концентрации спирта этилового от 20% до 70% и начинает снижаться при применении в качестве экстрагента спирта этилового 90%. Максимально количество экстрактивных веществ извлекается спиртом этиловым 70% - 53,71% (рисунок 50).

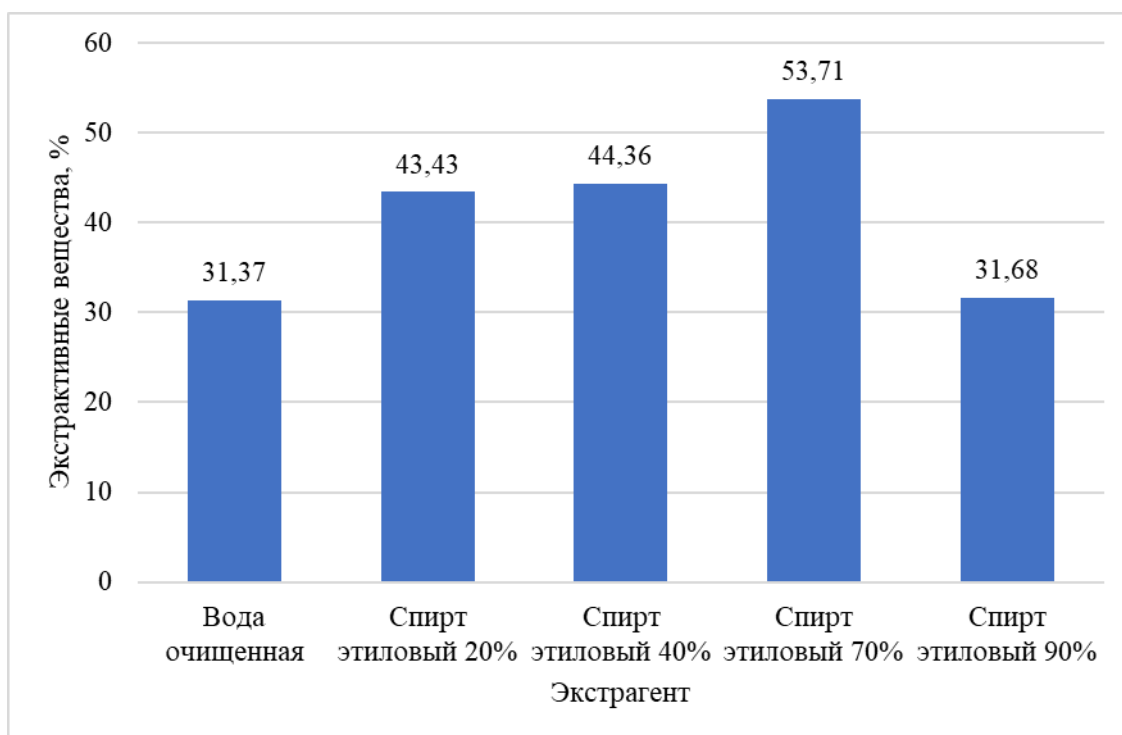


Рисунок 50 – Зависимость выхода экстрактивных веществ щавеля кислого травы от природы и концентрации экстрагента

Выход флавоноидов в пересчёте на рутин при использовании в качестве экстрагента воды очищенной составил 0,45 %. При использовании в качестве экстрагента водно – спиртовых смесей, установили, что наибольшее количество флавоноидов экстрагируется спиртом этиловым 70% - 0,63% (рисунок 51). Данный растворитель целесообразно применять для извлечения суммы флавоноидов.

В ходе анализа количественного содержания суммы дубильных веществ установлено, что оптимальными растворителями являются вода очищенная и спирт этиловый 40%, извлекающие соответственно 5,61% и 5,24% дубильных веществ в пересчете на кислоту галловую (рисунок 52). Данные результаты согласуются с растворимостью гидролизуемых и конденсированных дубильных веществ.

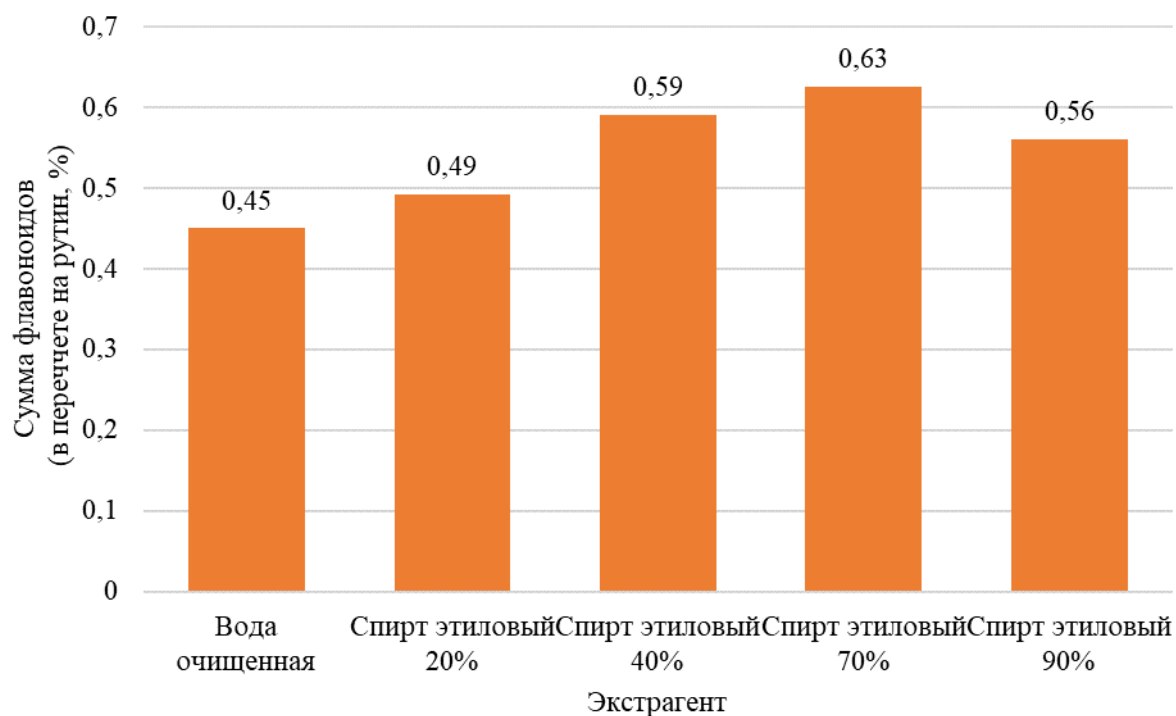


Рисунок 51 - Зависимость выхода флавоноидов щавеля кислого травы от экстрагента

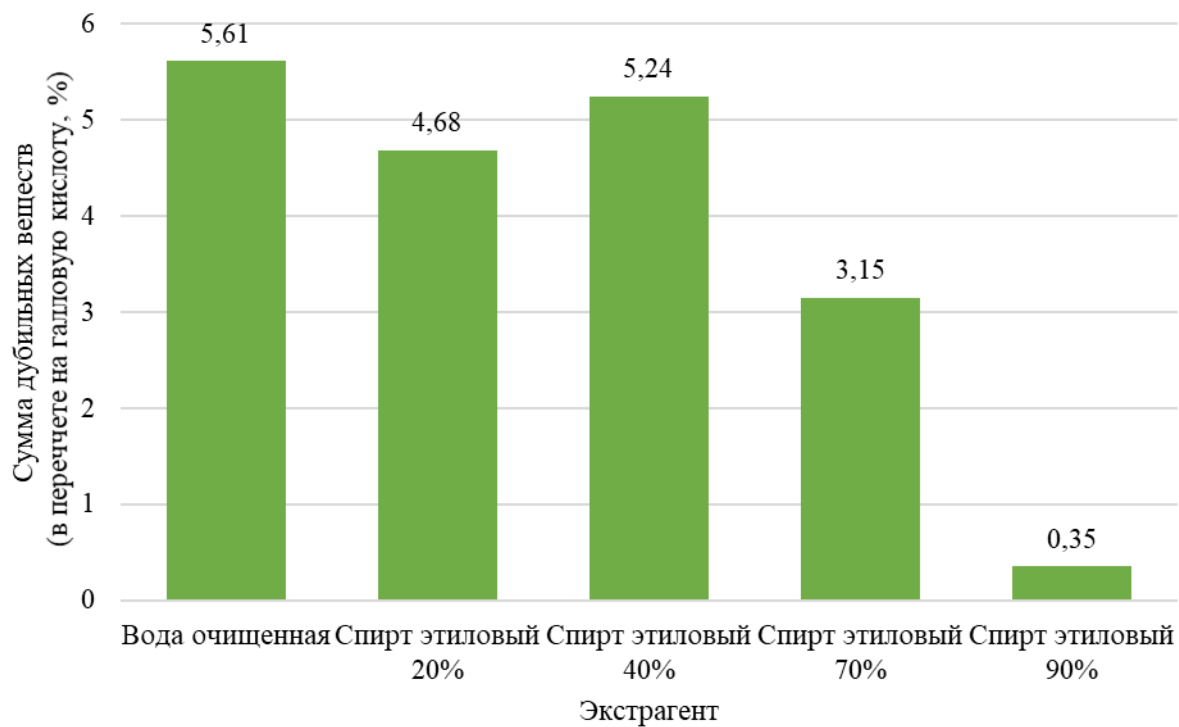


Рисунок 52 - Зависимость выхода дубильных веществ щавеля кислого травы от экстрагента

Для получения более достоверных результатов проводили количественное определение экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной и спиртом этиловым 70%; количественное содержание флавоноидов и дубильных веществ в щавеля кислого траве, заготовленной в разных районах Алтайского края (рисунок 53, 54).

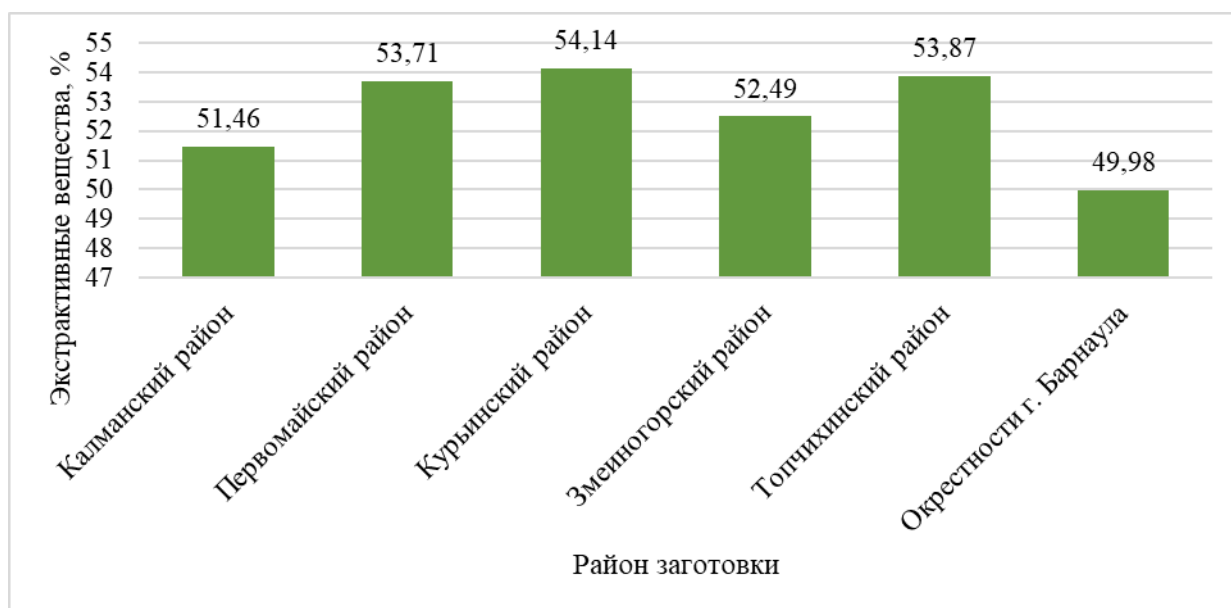


Рисунок 53 – Экстрактивные вещества (извлекаемые спиртом этиловым 70%) щавеля кислого травы, заготовленной в разных районах Алтайского края

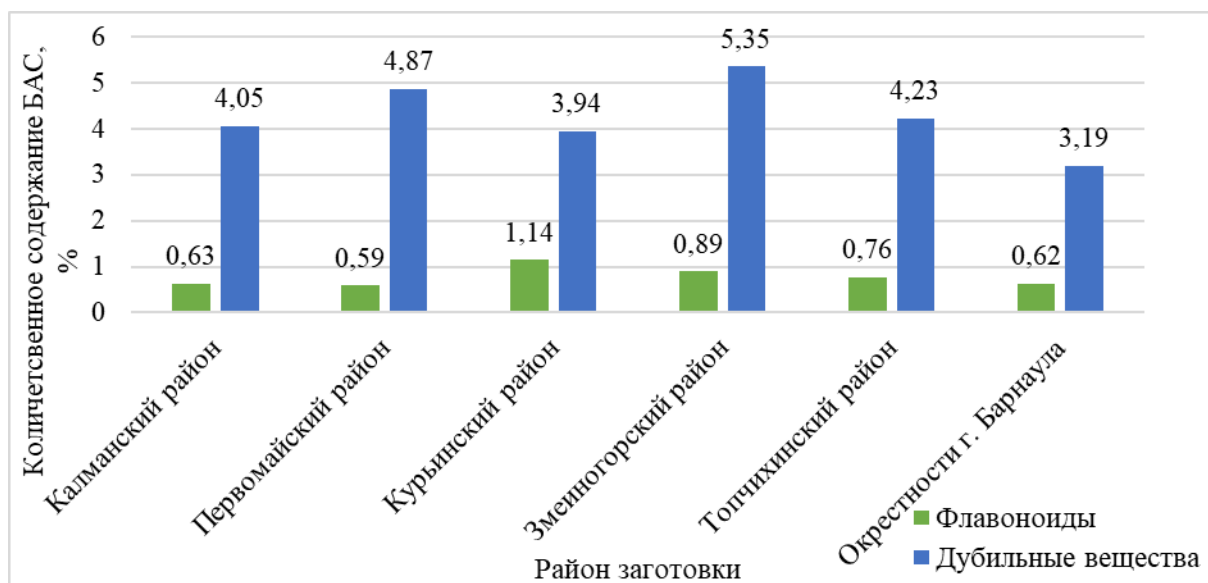


Рисунок 54 – Количественное содержание флавоноидов и дубильных веществ в щавеля кислого траве, заготовленной в разных районах Алтайского края

Таблица 38 - Показатели доброкачественности щавеля кислого травы, заготовленной в разных районах Алтайского края (n = 5; P = 95%; t_p = 2,78)

Показатели качества сырья	Метрологические характеристики	Район заготовки сырья					
		Калманский	Первомайский	Курынский	Зменогорский	Топчихинский	г. Барнаул
Влажность, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	8,30 ±0,02	7,19 ±0,03	8,41 ±0,05	8,29 ±0,04	6,98 ±0,03	8,20 ±0,03
	S $\bar{x}$	0,0258	0,0310	0,0295	0,0274	0,0430	0,0254
	ε, %	0,25	0,42	0,59	0,48	0,43	0,37
Экстрактивные вещества (извлекаемые спиртом этиловым 70%), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	51,46 ±0,10	53,71 ±0,06	54,14 ±0,12	52,49 ±0,09	53,87 ±0,13	49,98 ±0,08
	S $\bar{x}$	0,0914	0,0984	0,0853	0,0917	0,0963	0,0795
	ε, %	0,19	0,11	0,22	0,17	0,24	0,16
Зола общая, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	12,93 ±0,09	10,34 ±0,20	11,22 ±0,31	10,13 ±0,41	9,87 ±0,24	13,78 ±0,39
	S $\bar{x}$	0,0765	0,0690	0,0495	0,0543	0,0590	0,0513
	ε, %	1,03	1,93	2,76	4,05	2,43	2,83
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,53 ±0,01	0,52 ±0,02	0,50 ±0,02	0,51 ±0,02	0,49 ±0,02	0,61 ±0,03
	S $\bar{x}$	0,0179	0,0295	0,0195	0,0314	0,0253	0,0394
	ε, %	1,09	3,84	3,20	3,18	4,08	1,64
Органическая примесь, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,96 ±0,02	1,02 ±0,03	0,67 ±0,01	1,50 ±0,02	0,79 ±0,02	0,89 ±0,03
	S $\bar{x}$	0,0197	0,0285	0,0212	0,0248	0,0201	0,0198
	ε, %	2,08	2,94	1,79	1,6	2,53	2,69
Минеральная примесь, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,45 ±0,02	0,89 ±0,02	0,67 ±0,03	0,76 ±0,03	0,54 ±0,02	0,73 ±0,03
	S $\bar{x}$	0,0256	0,0238	0,0241	0,0310	0,0264	0,0250
	ε, %	4,44	2,24	3,73	3,29	3,71	4,11
Сырье, изменившее окраску, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,20 ±0,003	0,34 ±0,007	0,25 ±0,005	0,53 ±0,008	0,43 ±0,009	0,19 ±0,004
	S $\bar{x}$	0,0340	0,0291	0,0312	0,0400	0,0321	0,0395
	ε, %	1,50	2,06	1,79	1,51	2,09	2,10
Сумма флавоноидов (в пересчете на рутин), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	0,63 ±0,007	0,59 ±0,011	1,14 ±0,019	0,89 ±0,018	0,76 ±0,012	0,62 ±0,016
	S $\bar{x}$	0,0670	0,0841	0,0252	0,0420	0,0514	0,0490
	ε, %	1,16	1,86	1,67	2,02	1,57	2,58
Дубильные вещества (в пересчете на галловую кислоту), %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	4,05 ±0,09	4,87 ±0,08	3,94 ±0,07	5,35 ±0,10	4,23 ±0,06	3,19 ±0,06
	S $\bar{x}$	0,0587	0,0514	0,0610	0,0510	0,0485	0,0573
	ε, %	2,23	1,65	1,78	1,87	1,42	1,88

5.4. Определение сроков заготовки щавеля кислого травы

Известно, что содержание БАС в ЛРС зависит от фазы вегетации. Для выбора оптимального срока заготовки щавеля кислого травы изучалась динамика накопления флавоноидов и дубильных веществ в разные фазы вегетации.

В ходе исследования определяли количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и суммы дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту % в щавеля кислого траве, заготовленной в разные фазы вегетации: бутонизация (май), цветение (июль), плодоношение (август). Результаты исследования представлены в таблице 39.

Таблица 39 – Результаты количественного определения суммы флавоноидов и суммы дубильных веществ в щавеля кислого траве, заготовленной в разные фазы вегетации

Фенологическая фаза	Метрологические характеристики (n = 5; P = 95%; t _p = 2,78)					
	Флавоноиды			Дубильные вещества		
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	S $\bar{x}$	ε, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	S $\bar{x}$	ε, %
Бутонизация	0,26±0,01	0,0691	2,69	1,17±0,03	0,0532	2,56
Цветение	0,65±0,01	0,0752	1,79	6,21±0,13	0,0430	2,09
Плодоношение	0,34±0,01	0,0651	2,35	2,14±0,05	0,0510	2,33

При анализе полученных данных установлено, что наибольшее содержание суммы флавоноидов (0,65%) и дубильных веществ (6,21%) в щавеля кислого траве отмечается в фазу цветения (рисунок 55).

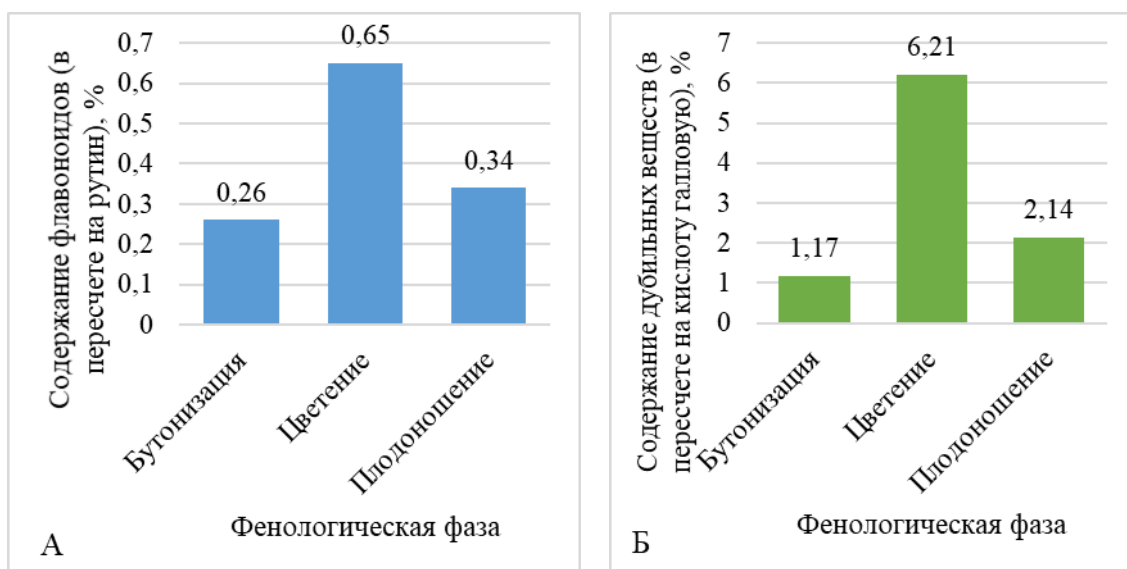


Рисунок 55 – Зависимость содержания флавоноидов (А) и дубильных веществ (Б) от сроков заготовки щавеля кислого травы

Таким образом оптимальным сроком сбора щавеля кислого травы является фаза цветения, когда растение наиболее развито, что согласуется с рекомендациями для морфологической группы ЛРС «Травы».

5.5. Определение срока годности сырья

В процессе хранения ЛРС подвергается действию различных факторов, влияющих на качество, поэтому необходимо установить срок годности щавеля кислого травы.

Критериями оценки качества служили: влажность, содержание сырья, изменившего окраску, количественное содержание флавоноидов и дубильных веществ.

Определение проводили на образцах 5 серий сырья, заложенного на хранение в 2016-м году. Сырьё хранили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» Государственной фармакопеи XIV издания при температуре 20–25°C и относительной влажности не более 60±5% [29, 30].

Анализ проводили через каждые 6 месяцев в 2016 – 2019 – х гг. (приложение 6). Данные экспериментов свидетельствуют о том, что показатели качества сырья существенно не изменились в течение 2,5 лет. Следовательно, срок годности щавеля кислого травы составляет 2,5 года (срок наблюдения).

Выводы по главе

1. Проведенное морфолого-анатомическое изучение щавеля кислого травы позволило установить диагностические признаки сырья:

- К диагностически значимым морфологическим признакам отнесены: поперечное сечение стебля, тип листовой пластинки и листорасположение, наличие или отсутствие черешка, наличие соцветий кисть, образующих метелку, актиноморфные цветки с чашечковидным околоцветником;
- Анатомическими признаками являются: железки с многоклеточной головкой, многочисленные друзы оксалата кальция в клетках нижней и верхней эпидермы листовой пластинки, простые одноклеточные сосочковидные волоски, друзы оксалата кальция в паренхиме сердцевины стебля, железки с 4-х клеточной головкой, сосочковидные выросты и друзы оксалата кальция на нижней эпидерме чашелистиков пестичного цветка, железки с 4-х клеточной головкой на нижней эпидерме чашелистиков тычиночного цветка;

2. Определены показатели доброкачественности: влажность – не более 10%; экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70% - не менее 45%; зола общая – не более 14%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; органическая примесь – не более 2%; минеральная примесь - не более 1%; сырье, изменившее окраску - не более 1%; сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 0,5 %; дубильные вещества в пересчете на галловую кислоту – не менее 3%;

3. По результатам исследований динамики накопления действующих веществ установлена закономерность содержания флавоноидов и дубильных веществ от фазы вегетации растения. Заготовка щавеля кислого травы рекомендована в период цветения. Составлена «Инструкция по сбору и сушке щавеля кислого травы» (приложение 11);

4. Срок годности щавеля кислого травы – 2,5 года (срок наблюдения);

5. Разработанные характеристики подлинности, изученные нормативы показателей качества сырья, в том числе содержание флавоноидов и дубильных веществ, включены в проект фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава», который апробирован в ЗАО «Эвалар» (приложение 7, 13).

6. Отправлены для рассмотрения в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России проект фармакопейной статьи, пояснительная записка к проекту фармакопейной статьи, инструкция по сбору и сушке щавеля кислого травы (приложение 9).

Получены документы о включении проекта ФС «Щавеля кислого трава» в план разработки проектов ФС (приложение 10).

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. На основании литературных данных систематизированы и обоснованы сведения о составе биологически активных соединений и фармакологической активности щавеля кислого травы и показана недостаточная ее изученность.

2. Проведенное морфолого-анатомическое изучение щавеля кислого травы позволило установить диагностические признаки сырья: к диагностически значимым морфологическим признакам отнесены: поперечное сечение стебля, тип листовой пластинки и листорасположение, наличие или отсутствие черешка, наличие соцветий кисть, образующих метелку, актиноморфные цветки с чашечковидным околоцветником; анатомическими признаками являются: железки с многоклеточной головкой, многочисленные друзы оксалата кальция в клетках нижней и верхней эпидермы листовой пластинки, простые одноклеточные сосочковидные волоски, друзы оксалата кальция в паренхиме сердцевины стебля, железки с 4-х клеточной головкой, сосочковидные выросты и друзы оксалата кальция на нижней эпидерме чашелистиков пестичного цветка, железки с 4-х клеточной головкой на нижней эпидерме чашелистиков тычиночного цветка;

3. Проведено исследование состава комплекса биологически активных соединений щавеля кислого травы:

Проведено исследование состава комплекса биологически активных соединений щавеля кислого травы: установлено содержание флавоноидов, конденсированных и гидролизуемых дубильных веществ, антраценпроизводных, кумаринов, аминокислот, органических кислот, аскорбиновой кислоты, углеводов, тритерпеновых сапонинов, липофильных соединений.

Фенольные соединения представлены: простыми фенолами – пирокатехин; стильбенами – ресвератрол; флавоноидами - кверцетин и его гликозиды рутин и гиперозид, кверцетрин; кемпферол и его гликозиды

кемпферол-7-О-рамнозид, кемпферол-3-О-рамнозид; фенолокислотами – кофейная кислота, п-кумаровая кислота и ее производные, феруловая кислота; дубильными веществами гидролизуемой группы – галловая и эллаговая кислоты и их производные, эллаготанин; конденсированной группы – производные катехина (эпигаллокатехин галлат); антраценпроизводными - группы 1,8 – диоксиантрахинона (фисцион, реин, эмодин); кумаринами – производные кумарина, 7-метоксикумарина.

Установлен аминокислотный состав и идентифицированы глутамин, аспарагиновая кислота, α - аланин, аспарагин, валин и β - аланин.

Комплекс органических кислот содержит щавелевую, яблочную, лимонную, винную и янтарную кислоты.

Моносахариды представлены глюкозой, ксилозой и галактозой.

Комплекс липофильных соединений составляют хлорофиллы, каротиноиды (β – каротин), α – токоферол и витамин К₁.

В результате количественного определения БАС химическими и физико-химическими методами установлено содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) 0,59 - 0,63%; фенолокислот (в пересчете на феруловую кислоту) 0,40 - 0,61%; дубильных веществ (в пересчете на галловую кислоту) 3,84 - 5,61%; катехинов (в пересчете на эпигаллокатехин галлат) 1,02 - 2,12%; антраценпроизводных (в пересчете на эмодин) 0,31 - 0,49%; кумаринов (в пересчете на кумарин) 0,37 - 0,48%; аминокислот (в пересчете на глутамин) 7,56 - 8,16%; органических кислот (в пересчете на щавелевую кислоту) 0,93 - 2,13%; аскорбиновой кислоты 3,91 – 4,70%; суммы липофильных соединений 4,43 - 5,25%; хлорофиллов 5,94 - 8,98 мг%; каротиноидов 3,18 - 6,38 мг%, витамина К₁ 26,67 - 30,25 мг%.

4. Доказано, что настой щавеля кислого травы не обладает токсичностью. Проявляет противовоспалительную и антиоксидантную активность.

5. По результатам исследования динамики накопления действующих веществ установлена закономерность содержания флавоноидов

и дубильных веществ от фазы вегетации растения. Заготовка щавеля кислого травы рекомендована в период цветения.

6. Определены показатели доброкачественности: влажность – не более 10%; экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70% - не менее 45%; зола общая – не более 14%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; органическая примесь – не более 2%; минеральная примесь - не более 1%; сырье, изменившее окраску - не более 1%; сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 0,5 %; дубильные вещества в пересчете на галловую кислоту – не менее 3%.

7. Заготовка щавеля кислого травы рекомендована в период цветения. Составлена «Инструкция по сбору и сушке щавеля кислого травы». Срок годности щавеля кислого травы – 2,5 года (срок наблюдения).

8. Разработанные характеристики подлинности, изученные нормативы показателей качества сырья, в том числе содержание флавоноидов и дубильных веществ включены в проект нормативного документа «Щавеля кислого трава», который апробирован в ЗАО «Эвалар».

9. Отправлены для рассмотрения в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России проект фармакопейной статьи, пояснительная записка к проекту фармакопейной статьи, инструкция по сбору и сушке щавеля кислого травы. Получены документы о включении проекта фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава» в план разработки проектов фармакопейных статей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азарова, О. В. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О. В. Азарова, Л. П. Галактионова. – Текст: электронный // Химия растительного сырья. – 2012. – № 4. – С. 61–78. – URL: http://www.chem.asu.ru/chemwood_old/volume16/2012_04/1204_61.pdf (дата обращения: 12.09.2016)
2. Акопов, И. Э. Кровоостанавливающие растения: (Кровоостанавливающие и др. их лечеб. свойства) / И. Э. Акопов. – [2-е изд., перераб. и доп.]. - Ташкент: Медицина УзССР, 1981. - 296 с. : ил., 8 л. ил.; 22 см. – Библиогр.: с. 260-267. - Текст: непосредственный.
3. Арбузова, Я. С. Влияние растений семейства Грушанковых на процессы свободно-радикального окисления : Экспериментальное исследование: специальность 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Арбузова Яна Сергеевна; ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет». – Томск, 2006. – 24 с.: ил. – Библиогр.: с. 21-22. – Место защиты: ГУ «Научно-исследовательский институт фармакологии Томского научного центра Сибирского отделения РАМН». - Текст: непосредственный.
4. Артамонов, В. И. Щавелек, кобыльник, квасец... / В. И. Артамонов. - Текст: непосредственный // Наука и жизнь. – 1996. – №12. - С.163-165. - Библиогр.: с. 165 (5 назв.).
5. Асеева, Т. А. Пищевые растения в тибетской медицине: [монография] / Т. А. Асеева, Ц. А. Найдакова; отв. ред. С. М. Николаев; АН СССР, Сибирское отд-ние, Бурятский ин-т биологии. – [3-е изд., испр. и доп.]. - Новосибирск: Наука: Сибирское отд-ние, 1991. - 128, [1] с.: ил.; 20 см. – Библиогр.: С. 126-129. - ISBN 5-02-030104-3. - Текст: непосредственный.

6. Багрий, А. К. Полифенольные соединения некоторых видов щавелей (*Rumex*): автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Багрий А. К.; Запорожский фармацевтический институт - Тарту, 1965. - 20 с.: ил. – Библиогр.: с.19. - Место защиты: Тартуский государственный университет. - Текст: непосредственный.
7. Баева, В. М. Современный подход к изучению лекарственных растений / В. М. Баева. - Текст: непосредственный. // Российский фитотерапевтический съезд (1; 2008; Москва). I Российский фитотерапевтический съезд : сборник научных трудов г. Москва, 14-16 марта 2008 года / Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию, Федеральный науч. клинико-экспериментальный центр традиционных методов диагностики и лечения. - Москва : Изд-во Федерального научного клинико-экспериментального центра традиционных методов диагностики и лечения, 2008. - ISBN 978-5-93854-100-9 - С. 268-271.
8. Баркина, Н. А. Исследование аминокислотного состава сфагнома бурого / Н. А. Баркина, Г. И. Калинкина, Л. В. Фоминых, Л. В. Курдюкова – Текст: электронный // Химия растительного сырья. - 2000. - №1. - С. 81-83. – URL: http://www.chem.asu.ru/chemwood_old/volume4/2000_01/0001_81.pdf (дата обращения: 14.04.2017).
9. Барнаулов, О. Д. Детоксикационная фитотерапия, или противоядные свойства лекарственных растений / О. Д. Барнаулов. - СПб.: Политехника, 2007. - 408, [2] с. : табл.; 22 см. – Библиогр.: С. 400-405. - 2000 экз.- ISBN 978-5-7325-0406-4 - Текст: непосредственный.
10. Барыкина, Р. П. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятков [и др.]; Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова - Издательство Московского университета Москва, 2004. - 311 с.; 22 см.

- Библиогр.: С. 276-286. - 2000 экз.- ISBN 5-211-06103-9. - Текст: непосредственный.
11. Баторова, С. М. Растения тибетской медицины: опыт фармакогностического исследования / С. М. Баторова, Г. П. Яковлев, С. М. Николаев, З. Г. Самбуева; Отв. ред. Т. П. Анцупова; АН СССР, Сиб. отд-ние, Бурят. фил., Ин-т биологии - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1989. - 157,[1] с. : ил.; 20 см. – Библиогр.: С. 137-150. – 90000 экз.- ISBN 5-02-028722-9. - Текст: непосредственный.
 12. Бексеев, Ш. Г. Большая энциклопедия огородничества : БЭО / Ш. Г. Бексеев. - СПб.: Диля, 1999. - 783 с. : ил.; 24 см. – Библиогр.: С. 769-778. - 2500 экз. - ISBN 5-8174-0008-1. - Текст: непосредственный.
 13. Беланова, Н. А. Определение катехинов методами ТСХ и УФ спектрофотометрии / Н. А. Беланова, С. И. Карпов, В. Ф. Селеменев, Е. О. Чепелева. - Текст: непосредственный // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. - 2011. - Т. 77, № 12. - С. 21-23. - Библиогр.: с. 23 (17 назв.).
 14. Беликов, В. Г. Изучение динамики накопления полисахаридов в хатмелле тюрингенской / В. Г. Беликов, С. В. Меньков, Л. В. Лигай. - Текст: непосредственный // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. Выпуск 60. / Пятигорская государственная фармацевтическая академия; редколлегия Вергейчик Е.Н. [и др.] – Пятигорск, 2005 – ISBN 5-94122-018-9 - С.185-188.
 15. Бельтюкова С. В. Биологически активные полифенолы и методы их определения / С. В. Бельтюкова, А. А. Бычкова - Текст: непосредственный. // Харчова наука і технологія. - 2013. – Т. 24, № 3. - С.18-25. - Библиогр.: с. 25 (15 назв.).
 16. Бердимуратова, Г. Д. Биологически активные вещества растений: выделение, разделение, анализ / Г. Д. Бердимуратова, Р. А. Музычкина, Д. Ю. Коренькин, Ж. А. Абилов, А. У. Тулегенова; Казахский

- национальный университет им. аль-Фараби – [2-е изд., перераб. и доп.].
- Алматы: Атамұра, 2006. – 438 с. : ил.; 21 см. - Библиогр.: С. 430-437 – 500 экз. – ISBN 9965-688-97-4 – Текст: непосредственный.
- 17.Борисов, М. И. Лекарственные свойства сельскохозяйственных растений / Б. М. Коршиков, Г. В. Макарова, Н. Л. Налетько и др.: Под ред. М. И. Борисова, С. Я. Соколова. – [2-е изд., перераб. и доп.].- Мн.: Ураджай, 1985. - 273 с. : ил.; 20 см. - Библиогр.: С. 271-272. – 300000 экз. (1-ый завод 1 – 150000 экз.) – Текст: непосредственный.
- 18.Боровикова, Н. А. Спектрофотометрическое количественное определение дубильных веществ в коре дуба, соплодиях ольхи и в водных извлечениях из данного сырья / Н. А. Боровикова, Н. Г. Селезнев, Д. М. Попов. – Текст: непосредственный // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2010. - №11. - С.19-23. - Библиогр.: с. 23 (8 назв.).
- 19.Буданцев, А. Л. Растительные ресурсы России : дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / Российская акад. наук, Ин-т проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова, Ботанический ин-т им. В. Л. Комарова ; отв. ред. А. Л. Буданцев. - Санкт-Петербург; Москва : Товарищество науч. изд. КМК, 2008. - 24 см. – Текст: непосредственный.
т. 1: Семейства Magnoliaceae - Juglandaceae, Ulmaceae, Moraceae, Cannabaceae, Urticaceae. - 2008. – 421 с. - Библиогр.: С. 200-347. – 700 экз. - ISBN 978-5-87317-472-0.
- 20.Ветров, П. П. Определение содержания липофильных веществ и суммы каротиноидов в растительном сырье / П. П Ветров, С. В. Гарная, Л. Г. Долгоненко. – Текст: непосредственный // Химико-фармацевтический журнал. - 1989. - №3. – С.320–325. - Библиогр.: с. 325 (7 назв.).
- 21.Вехов, В. Н. Культурные растения СССР / В. Н. Вехов, И. А. Губанов, Г. Ф. Лебедева. - Москва : Мысль, 1978. - 336 с., 40 л. ил.; 21 см. - Библиогр.: С. 334-336. – 100000 экз. – Текст: непосредственный.

22. Вульф, Е. В. Мировые ресурсы полезных растений: Пищевые, кормовые, техн., лекарств. и др.: Справочник / Е. В. Вульф, О. Ф. Малеева; АН СССР. Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова. - Ленинград: Наука. Ленингр. отд-ние, 1969. - 565 с., 1 л. портр.; 27 см.- Библиогр.: С. 431-463 – 7500 экз. – Текст: непосредственный.
23. Высочина, Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишные (*Polygonaceae* Juss.). Сообщ. IV. Род Щавель - *Rumex* L. / Г. И. Высочина. - Текст: электронный // Turczaninowia, 2011 – №1 – С.120-126. – URL: http://old.ssbg.asu.ru/turcz/turcz_14_1_120-126.pdf (дата обращения: 01.05.2017).
24. Гиренко, М. М. Культурная флора СССР: Т.12. Листовые овощные растения / М. М. Гиренко, К. В. Иванова, Р. А. Комарова [и др.] - Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1988. - 304 с. : ил. - Библиогр. в конце гл. - 2550 экз. - Текст: непосредственный.
25. Головкин, Б. Н. Биологически активные вещества растительного происхождения = Biologically active substances of plant origin : [монография] : В 3-х томах / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова, А.И. Шретер; ответственный редактор В.Ф. Семихов; Рос. акад. наук. Гл. ботан. сад им. Н.В. Цицина. - М. : Наука, 2001-2002. - 24 см. – Текст: непосредственный.
Т. 1: А-К. - 2001. - 349, [1] с. - Библиогр.: С. 347-349. – 1000 экз. - ISBN 5-02-013183-0.
26. Головкин, Б. Н. Биологически активные вещества растительного происхождения = Biologically active substances of plant origin : [монография] : В 3-х томах / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова, А.И. Шретер; ответственный редактор В.Ф. Семихов; Рос. акад. наук. Гл. ботан. сад им. Н.В. Цицина. - М. : Наука, 2001-2002. - 24 см. – Текст: непосредственный.
Т. 2: Л-Я. - 2001. - 763, [1] с. - Библиогр.: С. 761-763. – 1000 экз. - ISBN 5-02-013184-9.

27. Горбунов, А. Б. Итоги интродукции пищевых растений в ЦСБС за 65 лет (1946 – 2011 гг.) / А. Б. Горбунов. - Текст: непосредственный // Растительный мир Азиатской России. - 2014. - №2 (14). – С.80-89. - Библиогр.: С. 87-89 (62 назв.).
28. ГОСТ 34301 - 2017. Щавель и шпинат свежие. Технические условия = Fresh sorrel and spinach. Specifications: межгосударственный стандарт: издание официальное: введен приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2017 г. № 1855-ст в качестве национального стандарта Российской Федерации : введен впервые : дата введения 2018-07-01 / Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации ; подготовлен Автономной некоммерческой организацией "Научно-исследовательский центр "Кубаньагростандарт" (АНО "НИЦ "Кубаньагростандарт"). - Москва : Стандартинформ, 2018. - IV, 7, [1] с. : табл. – Текст: непосредственный.
29. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Том 1. - Текст: электронный // Федеральная электронная медицинская библиотека: [сайт]. – 2018. – URL : http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html (дата обращения: 12.07.2019).
30. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Том 2 - Текст: электронный // Федеральная электронная медицинская библиотека: [сайт]. – 2018. – URL : http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/index.html (дата обращения: 12.07.2019).
31. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Том 4 - Текст: электронный // Федеральная электронная медицинская библиотека: [сайт]. – 2018. – URL : http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_4/HTML/index.html (дата обращения: 12.07.2019).
32. Губанов, И. А. Иллюстрированный определитель растений Средней России : в 3 томах / И. А. Губанов [и др.]. – [2-е изд., испр. и доп.] -

- Москва : Т-во науч. изданий КМК : Ин-т технологических исслед., 2013
- 30 см. – Текст: непосредственный
- Т. 2: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). - 2013. - 665 с. : ил.; - 3000 экз. - ISBN 978-5-87317-882-7.
- 33.Губанов, И. А. Пищевые растения России / И. А. Губанов. - Москва, 1998. - 504 с. : [28] л. ил., ил.; 20 см. - Библиогр.: С. 481-482. – 6000 экз. – ISBN 5-87484-028-1. - Текст: непосредственный.
- 34.Гусынин, И. А. Токсикология ядовитых растений / проф. И. А. Гусынин. – [4-е изд., перераб. и доп.] – М.: Сельхозиздат, 1962. - 624 с. : ил.; 22 см. – 42000 экз. - Текст: непосредственный.
- 35.Демьянова, Е. И. О половой структуре популяций некоторых двудомных растений / Е. И. Демьянова. - Текст: непосредственный // Ботанический журнал. – 2012. – Т. 97, №9. – С.1163-1174. – Библиогр.: с. 1173-1174 (60 назв.).
- 36.Дроздова, И. Л. Выделение и химическое изучение полисахаридов травы донника рослого (*Melilotus altissimus Thull.*) / И. Л. Дроздова. - Текст: электронный // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2004. - №1. - С. 173-175. – URL: <http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2004/01/drozdova.pdf> (дата обращения: 25.02.2018).
- 37.Евдокимова, О. В. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в столбиках с рыльцами кукурузы / О. В. Евдокимова. - Текст: непосредственный // Фармация. – 2008. - №7. – С.14-17. – Библиогр.: с. 17 (14 назв.).
- 38.Емелина, Т. Н. Получение углеводсодержащих субстратов из вегетативной части топинамбура / Т. Н. Емелина, Т. В. Рязанова, Н. А. Чупрова. - Текст: электронный // Химия растительного сырья. - 2002. - №2. - С. 117–119. – URL: http://www.chem.asu.ru/chemwood_old/volume6/2002_02/0202_117.pdf (дата обращения: 19.06.2017).

39. Жизнь растений: В 6 томах / Гл. ред. чл.-кор. АН СССР, проф. А. А. Федоров. - Москва : Просвещение, 1974. 27 см. - Текст: непосредственный.
Т. 5: Цветковые растения. Ч. 1 / Акад. А. Л. Тахтаджян, доктора биол. наук В. И. Грубов, И. В. Грушвицкий и др. ; Под ред. акад. А. Л. Тахтаджяна. - 1980. - 430 с., 32 л. ил. – 300000 экз.
40. Замятина, С. В. Влияние растительных сборов с противовоспалительной активностью на процессы свободно-радикального окисления: Экспериментальное исследование: специальность 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Замятина Светлана Владимировна; ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН. – Томск, 2006. – 29 с.: ил. - Библиогр.: С. 27-29. – Место защиты: ГУ «Научно-исследовательский институт фармакологии Томского научного центра Сибирского отделения РАМН». - Текст: непосредственный.
41. Захаров, В. Л. Содержание биологически активных веществ в корнях лекарственных травянистых растений / В. Л. Захаров, Т. А. Кудашкина, В. И. Жихорева. - DOI 10.24888/2541-7835-2018-9-8-14. - Текст: электронный // Агропромышленные технологии Центральной России. - №9. – 2018. – С.8-15. – URL: https://elibrary.ru/title_about.asp?id=62013 (дата обращения: 28.10.2016).
42. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность / Я. Ф. Зверев. – DOI 10.17816/RCF1545-13 - Текст: электронный // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15., № 4. – С.5–13. – URL: <https://journals.eco-vector.com/RCF/article/view/7719/6210> (дата обращения: 04.06.2017).

- 43.Зверева, О. А. Биологические особенности и селекционное значение сортов и видов щавеля *Rumex L.*: специальность 06.01.05 «Селекция и семеноводство» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Зверева Ольга Анатольевна; Всерос. науч.-исслед. ин-т растениеводства им. Н. И. Вавилова. - Санкт-Петербург, 2000. - 16 с. : ил. - Библиогр.: С.16. – Место защиты: Всерос. науч.-исслед. ин-т растениеводства им. Н. И. Вавилова. - Текст: непосредственный.
- 44.Иванов, В. В. Количественное определение дубильных веществ в траве горца сахалинского, интродуцированного в условиях Кавказских минеральных вод, различными аналитическими методами // В. В. Иванов, О. Н. Денисенко. - Текст: электронный / Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6 – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16511> (дата обращения: 09.05.2017)
- 45.Иванова А. В. Исследование антиоксидантной активности и суммарного содержания полифенолов лекарственного растительного сырья / А. В. Иванова, Е. Л. Герасимова, Е. Р. Газизуллина [и др.]. – DOI 10.7868/S0044450217040053. - Текст: электронный // Журнал аналитической химии. - 2017. – Т. 72, № 4. - С.363-368. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_28872625_87291238.pdf (дата обращения: 07.05.2018).
- 46.Иванова, Е. В. Определение катехинов и лейкоантоцианов в надземной и подземной частях *Aconogonon divaricum* / Е. В. Иванова, Е. А. Лукша, Г. И. Калинкина, И. С. Погодин. - Текст: непосредственный // Вестник ВолГМУ. – 2016. – Т. 60, №4. – С.118-120. - Библиогр.: С.120 (12 назв.).
- 47.Кавторадзе, Н. Ш. Хроматоспектрофотометрический метод определения витамина К₁ в листьях *Urtica dioica L.* / Н. Ш. Кавторадзе, М. Д. Алания. - Текст: непосредственный // Растительные ресурсы. – 2002. – Т. 38, №4. – С.118-120. - Библиогр.: С.120 (3 назв.).

48. Казеева, А. Р. Обоснование выбора методики количественного определения дубильных веществ в кровохлебке лекарственной / А. Р. Казеева, К. А. Пупыкина, Т. Д. Даргаева, О. Б. Николаева. - Текст: непосредственный // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. - №3. – С.3-7. - Библиогр.: С.7 (8 назв.).
49. Канон врачебной науки : в 5-ти книгах: [Пер. с араб.] / Абу Али ибн Сина (Авиценна); [Редкол.: А. С. Садыков (пред.) и др.] – [2-е изд.] - Ташкент : Фан, 1979-1982. - 26 см. - Текст: непосредственный
Кн. 2. – 1982. – 312 с. - Библиогр.: С. 830-831.
50. Кашина, Л. И. Флора Сибири: в 14 томах / [АН СССР, Сиб. отд-ние, Центр. сиб. ботан. сад; Составители Л. И. Кашина и др.]; Под ред. И. М. Красноборова. - Новосибирск : Наука : Сиб. отд-ние, 1988 - 2003. - 25 см. - ISBN 5-02-028894-2. - Текст: непосредственный.
Т. 5: Salicaceae (Ивовые) — Amaranthaceae (Амарантовые). - 1992. – 312 с. – 1050 экз. – ISBN 5-02-030077-2.
51. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография = Thin-layer chromatography : В 2-х томах : [Перевод с английского] / Ю. Кирхнер ; Пер. с англ. Д. Н. Соколова, М. И. Яновского. - М. : Мир, 1981-. - 22 см. - Текст: непосредственный.
Т.1. - М. : Мир, 1981. - 616 с. – Библиогр. в конце гл. – 5000 экз.
52. Королук, Е. А. Красильные растения Алтая и сопредельных территорий / Е. А. Королук. - Текст: непосредственный // Химия растительного сырья. – 2003. - №1. – С.101 – 135. - Библиогр.: С. 132-135 (136 назв.).
53. Корулькин, Д. Ю. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстиков; Российская акад. наук, Сибирское отд-ние, Новосибирский ин-т органической химии им. Н. Н. Ворожцова, М-во образования и науки Респ. Казахстан, Казахский нац. ун-т им. Аль-Фараби. - Новосибирск : ГЕО, 2007. - 229, [3] с. : ил.,

- табл.; 26 см. - Библиогр.: с. 221-229. - 500 экз. - ISBN 978-5-9747-0119-1. - Текст: непосредственный
54. Корчагин, А. А. Памятка заготовительным организациям по сбору дикорастущих съедобных растений Ленинградской области / Под ред. проф. А. А. Корчагина; Ботанический инст. им. акад. В. Л. Комарова Акад. наук СССР. - Ленинград: Ленингр. газетно-журн. и кн. изд-во, 1942. - 30 с.: ил.; 19 см. - Текст: непосредственный
55. Кошечев А. К. Дикорастущие съедобные растения в нашем питании / А. К. Кошечев. - М.: Пищ. пром-сть, 1981. - 256 с.: ил.; 21 см. - 300000 экз. - Текст: непосредственный.
56. Красноборов, И. М. Определитель растений Алтайского края: монография / [Рос. акад. наук. Сиб. отд-ние, Центр. сиб. ботан. сад и др.] ; отв. ред. И. М. Красноборов. - Новосибирск: Издательство СО РАН, 2003. - 631 с., [24] л. ил.; 27 см. - Алф. указ. латин. и рус. назв. растений: с. 590-631. - 500 экз. - ISBN 5-7692-0477-X
57. Краткие сообщения Института археологии. Вып. 224 / Ин-т археологии РАН; Гл. ред Н. А. Макаров; Институт археологии Российской академии наук. - М.: Языки славянской культуры, 2010. - 334 с.: ил., вклейка после с. 114. - Библиогр. в конце сообщ. - 400 экз. - ISBN 978-5-9551-0433-1. - Текст: непосредственный.
58. Куркин, В. А. Антрагликозиды коры крушины ломкой (*Frangula alnus* Mill.) / В. А. Куркин, А. А. Шмыгарева, Е. Д. Даева, В. И. Каденцев. - Текст: непосредственный // Химия растительного сырья. - 2012. - № 1. - С. 83-86. - Библиогр.: С. 86 (11 назв.).
59. Куркин, В. А. Определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского / В. А. Куркин, Н. В. Зайцева, Е. В. Авдеева. - Текст: непосредственный // Фармация. - 2013. - № 1. - С. 8-10. - Библиогр.: С. 10 (4 назв.).

60. Курышкина, О. В. Технология возделывания щавеля / О. В. Курышкина. - Пенза: ООО «Агрополив», 2007. - 5 с.: ил. - Текст: непосредственный
61. Кутателадзе, Г. Р. Идентификация и количественное определение витамина К₁ в траве щавеля кислого, произрастающего на территории Алтайского края / Г. Р. Кутателадзе - Текст: электронный // Фундаментальная наука в современной медицине 2019: материалы сателлитной дистанционной научно - практической конференции студентов и молодых ученых / Белорусский государственный медицинский университет; под редакцией А. В. Сикорского [и др.]. - Минск: БГМУ, 2019. - ISBN 978-985-21-0250-6. - С. 107-110. - URL: <http://sno.bsmu.by/sborniki/Фундамент.pdf> (дата обращения 12.05.2019).
62. Кутателадзе, Г. Р. Изучение продуктов кислотного гидролиза фенольных соединений спиртового извлечения травы щавеля кислого / Г. Р. Кутателадзе - Текст: электронный // Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Природные соединения и здоровье человека», посвященная 100-летию образования ИГМУ (Иркутск, 23-24 мая 2019 г.). / ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России - Иркутск: ИГМУ, 2019. - С.51. - URL: https://www.ismu.baikal.ru/src/downloads/0ac7f7e6_sbornik_prirodsoed_2019.pdf (дата обращения 01.07.2019).
63. Кутателадзе, Г. Р. Фенолокислоты щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края / Г. Р. Кутателадзе, Л. М. Федосеева - Текст: непосредственный // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: сборник статей по материалам XXVI международной научно-практической конференции - 2019. - № 8 (24). - С.51-54. - Библиогр.: с. 53-54 (8 назв.).
64. Кутателадзе, Г. Р. Определение количественного содержания катехинов в щавеле кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края / Г. Р. Кутателадзе - Текст: электронный // Сборник

- материалов XXVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов (Москва, 8 - 11 апреля 2019 года) / Библиотека Российского национального конгресса «Человек и лекарство» - М.: Видокс, 2019. - ISBN 978-5-9500825-7-3 - С.122. - URL: <https://chelovekilekarstvo.ru/docs/tezisi/thesis2019.pdf> (дата обращения 19.04.2019).
65. Кутателадзе, Г. Р. Противовоспалительная активность щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края / Г. Р. Кутателадзе, Л. М. Федосеева. - Текст: электронный // Материалы V Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» (Рязань, 10 - 11 октября 2019 г.). / ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России; ред. кол.: Р.Е. Калинин [и др.] - Рязань, 2019. - ISBN 978-5- 8423-0200-0 - С. 63-64. - URL: <https://rzgmu.ru/images/upload/users/sc/Innovac.pdf> (дата обращения 15.10.2019).
66. Кутателадзе, Г. Р. Исследования по разработке и валидации методики количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края / Г. Р. Кутателадзе, Л. М. Федосеева - DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-80-86. - Текст: электронный // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2019. - №2. - С.80-86. - URL: <https://www.pharmjournal.ru/jour/article/view/685/666> - Дата публикации: 03.06.2019.
67. Ладыгина, Е. Я. Химический анализ лекарственных растений: [Учеб. пособие для фармац. вузов и фак.] / Е.Я. Ладыгина, под ред. Н.И. Гринкевич. – М. : Высш. шк., 1983. - 176 с. : ил.; 21 см.- - Библиогр. в конце гл. – 25000 экз. – Текст: непосредственный.
68. Литвиненко, В. И. Количественное определение каротиноидов и хлорофиллов хладонового экстракта валерианы лекарственной / В. И. Литвиненко, С. В. Талашова, Т. П. Попова // Состояние и

- перспективы современного лекарствоведения: материалы научно – практической конференции, посвященной 15-летию фармацевтического факультета ЯрГМА. - Ярославль, 1997. - С.65-66. – Текст: непосредственный. - - Библиогр. в конце тез.
69. Ломоносова, М. Н. Флора Сибири. В 14 томах. Дополнения и исправления. Алфавитные указатели / Сост. М. Н. Ломоносова, Н. М. Большаков, И. М. Красноборов и др. - Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 2003. - Т. 14. - 188 с. - ISBN 5-02-032040-4. - Текст: непосредственный.
70. Мазнев, Н. И. Энциклопедия лекарственных растений / Н. Мазнев. - [3. изд., испр. и доп.]. - М. : Мартин, 2004. - 492, [3] с., [16] л. цв. ил.; 24 см. - Библиогр.: С. 494. – 10000 экз. – ISBN 5-8475-0213-3 – Текст: непосредственный.
71. Мальцева, А. А. Количественное определение дубильных веществ в траве горца почечуйного / А. А. Мальцева, А. С. Чистякова, А. А. Сорокина [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник Воронежского государственного университета. Серия Химия. Биология. Фармация. - 2013. - № 2. - С. 203-205. - Библиогр.: С. 205 (5 назв.).
72. Марахова, А. И. Теоретические и экспериментальные подходы к разработке спектрофотометрических методик анализа фенольных соединений в лекарственном растительном сырье и препаратах на его основе / А. И. Марахова. – Текст: непосредственный // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 6. – С. 1267 – 1272. - Библиогр.: С. 1271-1272 (11 назв.).
73. Махлаюк, В. П. Лекарственные растения в народной медицине: [монография] / В. П. Махлаюк. - Саратов : Приволж. кн. изд-во, 1993. - 542, [2] с., [8] л. ил. : ил.; 22 см. - Библиогр.: с. 532-543. – ISBN 5-7633-0743-7. – Текст: непосредственный.
74. Меньшикова Е. Б. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия: [монография] // Е. Б.

- Меньшикова, В. З. Ланкин, Н. В. Кандалинцева – Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. - 496 с. - Библиогр.: С. 411-488 - ISBN: 978-3-8465-9461-2. – Текст: непосредственный.
- 75.Музычкина, Р. А. Природные антрахиноны : Биол. свойства и физикохим. характеристики / Р. А. Музычкина; Ред. Г. А. Толстиков. - М. : ФАЗИС, 1998. - 864 с.; 24 см. - Библиогр.: С. 757-782 - ISBN 5-7036-0042-1. - Текст: непосредственный.
- 76.Музычкина, Р. А. Сравнительное исследование казахтанских растений семейства *Polygonaceae* / Р. А. Музычкина, Д. Ю. Корулькин. – DOI 10.15328/chemb_2011_1. - Текст: электронный // Вестник КазНУ. Серия химическая. - 2011. - №1. - С.155-159. - URL: <https://bulletin.chemistry.kz/index.php/kaznu/article/view/876/693> (дата обращения: 24.03.2018).
- 77.Музычкина, Р. А. Щавели – сырье для комплексного использования в медицине и в сельском хозяйстве / Р. А. Музычкина // Физиолого-биохимические аспекты изучения лекарственных растений. Материалы международного совещания, посвященного памяти д.б.н. В. Г. Минаевой (15 – 18 апреля 1998 г.) / редколлегия: И. И. Баяндина [и др.]; Центральный сибирский ботанический сад СО РАН – Новосибирск: Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, 1998. - С.42.
- 78.Мушкина, О. В. Хроматографический анализ смородины черной листьев / О. В. Мушкина, Т. Т. Толкач, Е. С. Данченко // Актуальные вопросы фармации Республики Беларусь : сб. тр. 9-го съезда фармац. работников Респ. Беларусь: в 2-х частях, Минск, 22 апр. 2016 г. / Белорусский государственный медицинский университет; под редакцией Л. А. Реутской. - Минск : БГМУ, 2016. - Ч. 2. - С.44 - 46.
- 79.Непокойчицкий, Г. А. Большая энциклопедия. Лекарственные растения в народной медицине. - М.: «Издательский дом «АНС», 2005 – 993 с. –

- Библиогр.: С. 989-991. – 5000 экз. - ISBN 978-5-17-042620-1. – Текст: непосредственный.
- 80.Новиков, В. С. Флора средней полосы России : атлас-определитель / К. В. Киселева, С. Р. Майоров, В. С. Новиков ; под ред. В. С. Новикова. - Москва : Фитон+, 2010. - 544 с. : ил. ; 25 см. - Указ. рус. и латин. назв. отд., кл., семейств и родов растений: с. 535-544. - 1000 экз. - ISBN 978-5-93457-307-3. – Текст: непосредственный.
- 81.Орловская, Т. В. Пищевые растения, как источники лекарственных средств: фитохимический анализ / Т. В. Орловская, М. В. Гаврилин, В. А. Челомбитько. – Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2011. – 196 с. – Текст: непосредственный.
- 82.Пазюк, Д.- М. В. Идентификация фенольных кислот в надземной части моркови посевной сорта «Яскравая» / Д.-М. В. Пазюк, И. А. Журавель. - Текст: непосредственный // International Student's Journal of Medicine (Сборник IV Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Наука и медицина: Современный взгляд молодежи», Алматы, 20-21 апреля 2017 года) - 2017. - Спец. выпуск - С.266-267. - Библиогр.: С.267 (3 назв.).
- 83.Пападюк, В. И. Синупрет как препарат выбора в лечении острого бактериального риносинусита / В. И. Пападюк, И. В. Кастыро. - Текст: непосредственный // Эффективная фармакотерапия. Пульмонология и оториноларингология. - 2012. - №2. - С. 16-18. - Библиогр.: С.59 (20 назв.).
- 84.Пастушенков Л. В. Лекарственные растения: использование в народной медицине и в быту / Л. В. Пастушенков, А. Л. Пастушенков, В. Л. Пастушенков. – [5-е изд.]. - Санкт-Петербург : БХВ-Петербург, 2012. - 432 с., [15] л. цв. ил. : ил., табл.; 24 см. – Библиогр.: С. 413-415. - 2500 экз.- ISBN 978-5-9775-0836-0. – Текст: непосредственный.
- 85.Патент №2144674 Российская Федерация, МПК G01N 33/52 (2000.01), G01N 33/68 (2000.01). Способ определения антиоксидантной

- активности супероксидисмутазаы и химических соединений : № 99103192/14 : заявл. 24.02.1999 : опубл. 20.01.2000 / Сирота Т.В.; заявитель Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН. - 16 с. : ил. – Текст: непосредственный.
- 86.Полухина, Т. С. Количественное определение суммы органических кислот в траве горца почечуйного (*Polygonum persicaria* L.), произрастающего в Южном федеральном округе / Т. С. Полухина, М.С. Даниярова, Н. С. Курмушева. - Текст: электронный // Наука и инновации в XXI веке. Сборник статей V Международной научно-практической конференции (Пенза, 5 августа 2017 года): в 2 частях / ответственный редактор Гуляев Г. Ю. – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение», 2017. – ч.1 – С.210 – 212. - ISBN 978-5-906973-65-8 – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_29787671_79464852.pdf (дата обращения: 10.10.2017).
- 87.Попов, А. П. Траволечебник : Лечение лекарств. травами / А. П. Попов. - [6-е изд.]. - Екатеринбург : ООО «У-Фактория», 1999. - 560,[1] с. : ил.; 21 см. - Библиогр.: С. 519-520. – 20000 экз. - ISBN 5-89178-089-5. – Текст: непосредственный.
- 88.Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с. - Библиогр. в конце гл. – 500 экз. - ISBN 978-5-8125-1466-3. – Текст: непосредственный.
- 89.Рябинина, Е. И. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина / Е. И. Рябинина, Е. Е. Зотова, Е. Н. Ветрова [и др.]. - Текст: непосредственный // Химия растительного сырья. - 2011. - № 3. - С.117-121. - Библиогр.: С. 121 (9 назв.).
- 90.Сампиев, А. М. Кукурузные рыльца: от выявления действующих веществ до создания технологии малоотходной переработки сырья. Сообщение 1. Проблема нормирования качества и получения

- фитопрепаратов, ориентированных на содержание действующих веществ. Фитохимия кукурузных рылец как первый этап в установлении действующих веществ / А. М. Сампиев, Е. Б. Никифорова, М. Р. Хочава. - Текст: непосредственный // Кубанский научный медицинский вестник. - 2006. - № 12 (93). - С.106 - 110. - Библиогр.: С. 110 (14 назв.).
- 91.Серегин, А. П. Коллекция "Гербарий МГУ" / А. П. Серегин. – Текст: непосредственный. // Депозитарий живых систем "Ноев Ковчег" (направление "Растения"): [сайт]. – М.: МГУ, 2018. – URL: <https://plant.depo.msu.ru> (дата обращения 08.10.2018).
- 92.Силантьева, М. М. Конспект флоры Алтайского края: [монография] / М. М. Силантьева ; М-во образования и науки РФ, ФГБОУ ВПО "Алтайский гос. ун-т" ; АлтГУ. - [2-е изд., доп. и перераб.]. - Барнаул : Изд-во Алтайского гос. ун-та, 2013. - 518, [1] с. : карта, табл.; 21 см. - Библиогр.: С. 471-490. – 300 экз. – ISBN 978-5-7904-1451-0 – Текст: непосредственный.
- 93.Синская, Е. Н. Историческая география культурной флоры: (На заре земледелия) / Под ред. акад. Д. Д. Брежнева. - Ленинград : Колос. [Ленингр. отд-ние], 1969. - 480 с.; 22 см. - Библиогр.: С. 443-461. – 3000 экз. – Текст: непосредственный.
- 94.Сирота, А. И. Приусадебные витаминные растения / А. И. Сирота. - Харьков: Прапор, 1982. - 159 с. : 8 л. ил.; 17 см. - Библиогр.: С. 153-156. – 1500 экз. – Текст: непосредственный.
- 95.Скворцов, В. Э. Иллюстрированное руководство для ботанических практик и экскурсий в Средней России : руководство / В. Э. Скворцов. - Москва : КМК, 2004. - 505, [1] с. : ил. ; 25 см. - Алф. указ. назв. видов: с. 494-503. - Библиогр.: с. 504-505. - 2000 экз. - ISBN 5-87317-170-X. - Текст: непосредственный.
- 96.Смирнова, Ю. А. Разработка научно-методических подходов к расширению номенклатуры отечественного официального

- лекарственного растительного сырья : специальность 15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Смирнова Юлия Анатольевна; ФГУ «Федеральный научный клинико-экспериментальный центр традиционных методов диагностики и лечения». - Москва, 2009. - 24 с.: ил. - Библиогр.: С. 23-24. – Место защиты: Моск. мед. акад. им. И.М. Сеченова. – Текст: непосредственный.
- 97.Сорокина, А. А. Фотометрические методы в анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе: [монография] / А. А. Сорокина, А. И. Марахова, Я. М. Станишевский, Т. Ю. Ковалева. - Москва : РУДН, 2015. - 154, [1] с. : ил., табл.; 20 см. - Библиогр.: С. 142-152. – 500 экз. - ISBN 978-5-209-06319-3. – Текст: непосредственный.
- 98.Сорокина, И. А. Атлас дикорастущих растений Ленинградской области / И. А. Сорокина, В. А. Бубырева. - 2-изд. испр. и доп. - Москва : Товарищество науч. изд. КМК, 2018. - 685 с. : цв. ил.; 17 см. - Библиогр.: С. 664. – 2000 экз. - ISBN 978-5-6040241-4-0. – Текст: непосредственный.
- 99.Сулейманов, Т. А. Фитохимическое изучение представителей видов рода щавель, произрастающих в Азербайджане/ Т. А. Сулейманов, Ю. Б. Керимов, Н. В. Федорова. - Текст: непосредственный // Ресурсоведческое и фитохимическое изучение лекарственной флоры СССР: сборник научных трудов / Под ред. Грицаенко И.С., Горчаковой Н.К. – Москва : [б. и.], 1991. - С. 107-111. - (Научные труды / ВНИИ фармации ; т.29). - Библиогр. в конце ст.
100. Талыкова, Н. М. Обнаружение и количественное определение витамина К₁ в горца птичьего траве / Н. М. Талыкова, А. К. Беспалова - Текст: непосредственный // Актуальные проблемы фармакологии и фармации: ежегодный сборник научных и методических работ

- преподавателей, молодых ученых и студентов фармацевтического факультета. Выпуск XIV. / Алтайский государственный медицинский университет; ответственный редактор В. В. Лампатов - Барнаул: Алтайский государственный медицинский университет, 2017. – С.107 - 112.
101. Тареева, Н. В. Каланхин – препарат из теплицы / Н. В. Тареева, В. Ф. Охотникова, Т. В. Качалина, В. И. Глызин. - Текст: непосредственный // Труды Всероссийского научно - исследовательского института лекарственных и ароматических растений. Химия, технология, медицина / Российская академия сельскохозяйственных наук; Всероссийский научно – исследовательский институт лекарственных и ароматических растений – Москва: ВИЛАР, 2000. – С.48-52.
 102. Телятьев, В. В. Полезные растения Центральной Сибири / В. В. Телятьев. - Иркутск : Вост.-Сиб. кн. изд-во, 1985. - 383 с. : 16 л. ил.; 21 см. - Библиогр.: С. 371-382. – 100000 экз. – Текст: непосредственный.
 103. Тихомиров, Б. А. Главнейшие дикорастущие пищевые растения Ленинградской области / М. М. Голлербах, В. Ф. Корякина, А. А. Никитин [и др.]; под ред. Б. А. Тихомирова. - Ленинград: Лениздат, 1942. - 101 с. : ил.; 19 см. - Библиогр.: С. 98-99. – Текст: непосредственный.
 104. Ториков, В. Е. Лекарственная ценность овощных, плодово-ягодных, полевых растений и дикоросов: [монография]. / В. Е. Ториков. – Брянск.: Издательство Брянской ГСХА, 2013. - 292 с.- Основные публ. по теме: С. 290. – 500 экз. – ISBN 978-5-88517-232-5 – Текст: непосредственный.
 105. Тринеева, О. В. Применение различных методов при определении дубильных веществ в листьях крапивы / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин. - Текст: непосредственный // Фармация. – 2014. – № 1. – С.16-19. - Библиогр.: С.19 (8 назв.).

106. Тринеева, О. В. Определение витаминов А и Е в тонком слое при совместном присутствии / О. В. Тринеева, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2015. - №3. - С.129 – 134. - Библиогр.: С.133-134 (14 назв.).
107. Тропина, Л. П. Биологические особенности щавеля и ревеня в условиях лесостепи Западной Сибири / Л. П. Тропина, З. А. Нежданова, О. А. Ощепкова. - Текст: непосредственный // Интродукция и акклиматизация культурных растений в Сибири: сборник трудов сотрудников лаборатории интродукции и акклиматизации культурных растений Центрального сибирского ботанического сада СО АН СССР / АН СССР. Сиб. отд-ние. Центр. сиб. ботан. сад.; Ред. коллегия: д-р с.-х. наук М. Н. Саламатов (отв. ред.) и др. ; - Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 1972. – С.167-171.
108. Федосеева, Л. М. Идентификация органических кислот надземной части некоторых видов рода *Urtica* произрастающих в Алтайском крае / Л. М. Федосеева, Л. Е. Кудрикова, В.О. Кирьякова. - Текст: электронный // Молодежная наука и современность: материалы 76-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием (Курск, 19-20 апр. 2011 г.) : в 3 частях / Курский гос. мед. ун-т, Центр.-Чернозем. науч. центр РАМН, Рос. акад. естеств. наук ; редкол.: В.А. Лазаренко, П. В. Калущкий, Н.И.Шевченко. – Курск : КГМУ, 2011. –1 эл. опт. диск (CD-ROM). – ISBN 978-5-7487-1480-8. – Часть 2. - С.278.
109. Федосеева, Л. М. Изучение некоторых фенольных соединений крапивы коноплевой травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, В.О. Кирьякова. - Текст: непосредственный // Химия растительного сырья. – 2012. – №2. – С.133-138. - Библиогр.: С.137 (4 назв.).
110. Федосеева, Л. М. Изучение полисахаридного комплекса хатмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края

- / Л. М. Федосеева, О. А. Мызникова. - Текст: непосредственный // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 4 (8). – С. 39-42. - Библиогр.: С.42 (7 назв.).
111. Федосеева, Л. М. Анатомическое изучение щавеля кислого травы, произрастающего на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе - Текст: электронный // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2018. - №3. - С. 218-224. - URL: <http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2018/03/2018-03-31.pdf> (дата обращения 30.11.2018).
112. Федосеева, Л. М. Изучение некоторых фенольных соединений надземной части щавеля кислого, произрастающего на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе. - DOI: 10.14258/jcprtm.2017041861. - Текст: электронный // Химия растительного сырья. - 2017. - №4. - С. 91-96. - URL: <http://journal.asu.ru/cw/article/view/1861/2756>. - Дата публикации: 21.12.2017.
113. 2. Федосеева, Л. М. Определение показателей доброкачественности щавеля кислого травы, произрастающего на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе. - Текст: непосредственный // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Сборник научных трудов. Выпуск 72. / Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России - Ижевск: ООО «Принт», 2017. - С. 82-84.
114. Федосеева, Л. М. Изучение состава фенольных соединений эфирной фракции щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе, Л. Е. Кудрикова - Текст: электронный // Материалы V Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов

- «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» (Рязань, 10 - 11 октября 2019 г.). / ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России; ред. кол.: Р.Е. Калинин [и др.] - Рязань, 2019. - ISBN 978-5-8423-0200-0 - С. 64-65. - URL: <https://rzgmu.ru/images/upload/users/sc/Innovac.pdf> (дата обращения 15.10.2019).
115. Федосеева, Л. М. Валидация методики количественного определения дубильных веществ в щавеля кислого траве, заготовленной на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе. - Текст: электронный // Фундаментальная и прикладная наука: состояние и тенденции развития : сборник статей Международной научно-практической конференции (Петрозаводск, 8 сентября 2019 г.). - Петрозаводск: МЦНП «Новая наука», 2019. - ISBN 978-5-907230-00-2 - С.214 - 219. - URL: <https://sciencen.org/assets/Kontent/Konferencii/Arhiv-konferencij/KOF-49-Sbornik.pdf> (дата обращения 17.10.2019).
116. Федосеева, Л. М., Идентификация и количественное определение свободных аминокислот в щавеля кислого траве / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе. - Текст: непосредственный // Актуальные проблемы фармакологии и фармации: ежегодный сборник научных и методических работ преподавателей, молодых ученых и студентов фармацевтического факультета. Выпуск XIV. / Алтайский государственный медицинский университет; ответственный редактор В. В. Лампатов - Барнаул: Алтайский государственный медицинский университет, 2017. - С. 130 - 134.
117. Федосеева, Л. М. Идентификация и количественное определение органических кислот в щавеля кислого траве, произрастающего на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе - Текст: электронный // Молодежь - Барнаулу: Материалы XVII - XIX городской научно-практической конференции молодых ученых. Часть

- XIX. / Алтайский государственный университет; главный редактор Ю. В. Анохин - Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2018. - ISBN 978-5-7904-2263-8. - С. 894-896.
118. Федосеева, Л. М. Изучение липофильных веществ щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе Текст: непосредственный // Актуальные проблемы фармакологии и фармации: ежегодный сборник научных и методических работ преподавателей, молодых ученых и студентов фармацевтического факультета. Выпуск XV. / ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России; редактор В. М. Воробьева - Барнаул: Алтайский государственный медицинский университет - Барнаул, 2018. - С. 95-99.
119. Федосеева, Л. М. Дубильные вещества щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе. - Текст: непосредственный // Medicus. - 2019. - № 5 (29) - С.64-68. - Библиогр.: с. 66-67 (10 назв.).
120. Федосеева, Л. М. Состав флавоноидов щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе. - Текст: непосредственный // Молодой ученый. - 2019. - №34. - С. 33-35. - Библиогр.: с. 35 (9 назв.)
121. Федосеева, Л.М. Определение антиоксидантной активности настоя травы щавеля кислого методом *in vitro* / Л. М. Федосеева, Г. Р. Кутателадзе. - DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-3-0-7. - Текст: электронный // Научные результаты биомедицинских исследований. - 2019. - Т.5, №3. - С.64-70. - URL: http://rrmedicine.ru/media/medicine/2019/3/HP_биомед_иссл.pdf_сентябрь_2019-65-71.pdf. - Дата публикации: 27.09.2019.
122. Федосеева, Л.М. Изучение органических кислот щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Л. М. Федосеева,

- Г. Р. Кутателадзе, Л. Е. Кудрикова - Текст: электронный // Современные достижения фармацевтической науки в создании и стандартизации лекарственных средств и диетических добавок, которые содержат компоненты природного происхождения: материалы I Международной научно - практической интернет-конференции (Харьков, 5 апреля 2018 г.). / Национальный фармацевтический университет; редколлегия А. А. Котвицкая [и др.] - Харьков: НФаУ, 2018. - ISBN 978-966-615-538-5 - С. 78-79. - URL: <http://cnc.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2018/04/Матеріали-конференції.pdf>
123. Филонова, О. В. Обоснование, разработка технологии и товароведная характеристика продуктов из щавеля *Rumex acetosa L.* и ревеня *Rheum L.*: специальность 05.18.07 «Биотехнология пищевых продуктов», 05.18.15 «Товароведение пищевых продуктов и технология продуктов общественного питания» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Филонова Ольга Владимировна; Институт пищевых технологий и товароведения Тихоокеанского государственного экономического университета. - Владивосток, 2006. - 23 с.: ил. - Библиогр.: С. 22-23. – Место защиты: Тихоокеанский государственный экономический университет. - Текст: непосредственный.
124. Флоридус, М. О свойствах трав / Одо из Мена (Мацер Флоридус), пер. с латин., коммент. и прил. акад. В. Н. Терновского. - Москва: Медицина, 1976. - 272 с. : ил.; 21 см. - Текст: непосредственный.
125. Фотобанк 123RF : [сайт] – Москва: ООО "Легион-Медиа", 2005 - URL: <https://ru.123rf.com> (дата обращения: 17.04.2017). – Режим доступа: для авториз. пользователей. – Изображение (неподвижное ; двухмерное): электронное.
126. Хортецька, Т. В. Вивчення вмісту вітаміну К у листі перспективних видів роду *Plantago L.* флори України у вегетаційний

- період / Т. В. Хортецька, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Г. В. Мазулін - Текст: непосредственный // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. - 2012. - Т.10, №3 - С.26-28. – Библиогр.: с. 2-3 (26 назв.).
127. Черепнин, В. Л. Пищевые растения Сибири / В. Л. Черепнин; Отв. ред. Л. К. Поздняков; АН СССР, Сиб. отд-ние. - Новосибирск : Наука : Сиб. отд-ние, 1987. - 186,[2] с. : ил.; 20 см. – Библиогр.: С. 161-163. - 210000 экз. - Текст: непосредственный.
128. Чумакова, В. В. Определение галловой кислоты в траве лофанта анисового методом планарной хроматографии / В. В. Чумакова, Т. Д. Мезенова, О. И. Попова. - Текст: непосредственный // Химия растительного сырья. - 2011. - №4. - С. 269-271. - Библиогр.: С.271 (5 назв.).
129. Чухина, И. Г. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения. *Rumex acetosa* / И. Г. Чухина, А. Н. Афонин, С. Л. Грин [и др.]- Текст: электронный. - URL: http://www.agroatlas.ru/ru/content/related/Rumex_acetosa/map/ (Дата обращения: 05.07.2018).
130. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии = Chromatografiana tenkych vrstvachvo farmaciia v klinickej biochemii : В 2-х частях / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец ; Перевод со словац. А. П. Сергеева, А. Н. Ушакова. - М. : Мир, 1980. - 22 см. - Текст: непосредственный.
Ч. 1. - М. : Мир, 1980. - 295 с. – Библиогр. в конце гл. – 3000 экз.
131. Шишкин, К. Б. Флора Ленинградской области / Отв. ред. чл.-кор. Акад. наук СССР проф. К. Б. Шишкин ; Ленингр. ордена Ленина гос. ун-т им. А. А. Жданова. - Ленинград : Изд-во Ленингр. ун-та, 1955-1965. - 4 тома; 26 см. - Текст: непосредственный.
Вып. 2 / [Сост.: Г. А. Денисова, С. Ф. Захаревич, М. Э. Кирпичников и др.]. - 1957. - 243 с. : карт.

132. Шмидт, В. М. Ареалы лекарственных и родственных им растений СССР: атлас / под ред. В. М. Шмидта ; Томский гос. ун-т им. В. В. Куйбышева, ВНИИ лекарств. растений, Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова АН СССР ; [В. Б. Куваев и др.]. – [2-е изд., испр.] - Ленинград : Изд-во ЛГУ, 1990. - 222,[2] с. : ил.; 26 см. - Библиогр.: С. 218-223. - ISBN 5-288-00484-6. - Текст: непосредственный.
133. Шретер, А. И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока // А. И. Шретер. - Москва : Медицина, 1975. - 328 с.; 22 см. - Библиогр.: С. 295-319. - Текст: непосредственный.
134. Щавель кислый. – Текст: электронный // Электронный каталог сосудистых растений Азиатской России : [сайт]. – 2002 - URL: <http://www.nsc.ru/win/elbib/atlas/flora/2988.html> (Дата обращения: 18.04.2018).
135. Эрмер, Й. Валидация методик в фармацевтическом анализе. Примеры наилучшей практики = Method validation in pharmaceutical analysis. A guide to best practice: [пер. с англ.] / Й. Эрмер, Д. Миллер; перевод с английского А. В. Александров. - М.: Группа компаний «Виалек», 2013. - 512 с. - Библиогр. в конце гл. - 1000 экз. - ISBN 978-5-904723-05-7. - Текст: непосредственный.
136. Яковлев, Г. П. Ботаника: [учебник для вузов] / Г. П. Яковлев, М. Ю. Гончаров, М. Н. Повыдыш [и др.] – [Изд. 4-е, испр. и доп.] - СПб: СпецЛит, 2018. - 879 с. : ил.; 25 см. - Библиогр.: С. 878-879. - 1000 экз. - ISBN 978-5-299-00834-0. - Текст: непосредственный.
137. Яковлев, Г.П. Иллюстрированный определитель растений Ленинградской области : [справ. доп. лит.] / [Аверьянов Л. В. и др.] ; под ред. А. Л. Буданцева, Г. П. Яковлева. - Москва : Товарищество науч. изд. КМК, 2006 (М. : Типография "Наука"). - 799 с. : ил., табл.; 23 см. - Библиогр.: С. 744. – 1000 экз. – ISBN 5-87317-260-9. - Текст: непосредственный.

138. Яцюк, В. Я. Исследование аминокислотного состава растений рода крапива / В. Я. Яцюк, О. В. Сошникова, Г. А. Чалый, О. А. Елецкая - Текст: непосредственный // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. Выпуск 60. / Пятигорская государственная фармацевтическая академия; редколлегия Вергейчик Е.Н. [и др.] – Пятигорск, 2005 – ISBN 5-94122-018-9 - С.75-76.
139. Ainsworth, C. Intersex inflorescences of *Rumex acetosa* demonstrate that sex determination is unique to each flower / C. Ainsworth, A. Rahman, J. Parker, G. Edwards. – Text: unmediated // New Phytologist. – 2005. - No. 165. – P.711 – 720. – References: P. 719-720 (36 titles).
140. Ambriz - Pérez, D. L. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review / D. L. Ambriz - Pérez, N. Leyva-López, E. P. Gutierrez-Grijalva, J. B. Heredia. – DOI 10.1080/23311932.2015.1131412. - Text: electronic // Cogent Food & Agriculture. – 2016. - No. 2. – URL: <https://www.cogentoa.com/article/10.1080/23311932.2015.1131412.pdf> (Accessed: 12.12.2018).
141. Bae, J. - Y. A comparison between water and ethanol extracts of *Rumex acetosa* for protective effects on gastric ulcers in mice / J.-Y. Bae, Y. S. Lee¹, S. Y. Han [et al.]. – DOI 10.4062/biomolther.2012.20.4.425. - Text: electronic // Biomol. Ther. - 2012. - Vol. 20, No. 4. - P. 425 - 430. – URL: <http://www.biomolther.org/journal/view.html?uid=317&vmd=Full> (Accessed: 14.12.2018).
142. Barnali, G. Phytochemical Constituents of Some Medicinal Plant Species used in Recipe During ‘Bohag Bihu’ in Assam / G. Barnali, K. Zaman. - Text: electronic // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. - 2013. - Vol. 2, No. 2 - P. 30-40. – URL: <http://www.phytojournal.com/archives/2013/vol2issue2/PartA/3.1.pdf> (Accessed: 26.05.2018).
143. Bicker, J. Proanthocyanidins and a phloroglucinol derivative from *Rumex acetosa* L. / J. Bicker, F. Petereit, A. Hensel. – DOI

- 10.1016/j.fitote.2009.08.015. - Text: electronic // Fitoterapia. – 2009. – Vol. 80, No. 8. – P.483–495. – URL: https://www.researchgate.net/publication/26755814_Proanthocyanidins_and_a_phloroglucinol_derivative_from_Rumex_acetosa_L (Accessed: 01.04.2018).
144. Bischoff Chromatography ProntoSIL HPLC Columns: Catalog. - Text: electronic // HPLC: [website]. – 2011. – URL: http://www.hplc.eu/Downloads/ProntoSIL_HPLC_Catalog.pdf (Accessed: 29.10.2017).
145. Bryant, E. T. A note of the differentiation between flavonoid glycosides and their aglycones / E. T. Bryant. – DOI 10.1002/jps.3030390823. - Text: electronic // J. Amer. Pharm. Assoc. - 1950. - Vol. 39, No. 8. - P. 480-488. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jps.3030390823> (Accessed: 16.10.2016).
146. Castle, T. Lexicon Pharmaceuticum or a pharmaceutical dictionary, comprehending the pharmacopoeias of London, Edinburgh, and Dublin, with a variety of other useful information relative to medicine and pharmacy / T. Castle. - Charleston: Nabu Press, 2011. – 384 p. – ISBN 978-1173061876. - Text: unmediated.
147. Ceccanti, C. Mediterranean Wild Edible Plants: Weeds or «New Functional Crops»? // C. Ceccanti, M. Landi, S. Benvenuti [et al.]. - DOI 10.3390/molecules23092299. - Text: electronic / Molecules. – 2018. – Vol. 23, No. 9. – URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/9/2299/pdf> (Accessed: 23.11.2018).
148. Cimpoiu, C. Analysis of Some Natural Antioxidants by Thin- Layer Chromatography and High Performance Thin- Layer Chromatography / C. Cimpoiu. – DOI 10.1080/10826070600574911. - Text: electronic // J. Liq. Chrom. Relat. Tech. – 2006. – Vol.29, No. 7. – P.1125-1142. - URL: https://www.researchgate.net/publication/244594877_Analysis_of_Some_Natural_Antioxidants_by_Thin-Layer_Chromatography_and_High_Performance_Thin-Layer_Chromatography (Accessed: 28.05.2018)

149. Derksen, A. 3-O-galloylated procyanidins from *Rumex acetosa* L. inhibit the attachment of influenza A virus / A. Derksen, A. Hensel, W. Hafezi [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0110089 - Text: electronic // PLOS One. – 2014. – Vol. 9, No. 10. – P.1 – 13. - URL: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0110089&type=printable> (Accessed: 04.07.2017).
150. Duke, J. A. Handbook of Medicinal Herbs / A. J. Duke [et al.]. - Boca Raton: CRC Press, 2002. – [2nd ed.] – 896 p. – References: P.821-828. - ISBN 9780849312847. - Text: unmediated.
151. Fairbairn, J. W. The biosynthesis and metabolism of anthraquinones in *Rumex obtusifolius* / J. W. Fairbairn, F. J. Muhtadi. – DOI 10.1016/S0031-9422(00)89992-6. - Text: electronic // Phytochemistry. - 1972. - Vol.11, No.1 - P. 215 - 219. - URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942200899926> (Accessed: 12.12.2018).
152. Gescher, K. Potent antiviral effect of a polyphenol-enriched *Rumex acetosa* L. extract against herpes simplex virus type 1 via interaction with viral envelope proteins / K. Gescher, J. Bicker, W. Hafezi [et al.]. – DOI 10.1055/s-0029-1234257. - Text: electronic // Planta Med. - 2009. – Vol.75, No. 9. - P.884. - URL: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0029-1234257> (Accessed: 10.12.2018).
153. Gescher, K. Oligomeric proanthocyanidins from *Rumex acetosa* L. inhibit the attachment of herpes simplex virus type-1 / K. Gescher, A. Hensel, W. Hafezi [et al.]. – DOI 10.1016/j.antiviral.2010.10.007. - Text: electronic // Antiviral Res. – 2011. – Vol.89, No. 1. - P.9-18. - URL: https://www.researchgate.net/publication/47754758_Oligomeric_proanthocyanidins_from_Rumex_acetosa_L_inhibit_the_attachment_of_herpes_simplex_virus_type-1 (Accessed: 05.11.2018).
154. Gruenwald, J. Physician's drug reference for herbal medicines / J. Gruenwald, T. Brendler, C. Jaenicke – [4th ed.] - Montvale: Thomson

- Healthcare Inc., 2007. - 1250 p. – Ref. after monogr. - ISBN 978-1563636783 - Text: unmediated.
155. Husain, A. Dictionary of Indian Medicinal Plants / A. Husain; Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants - Lucknow: Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 1992. – 546 p. - Text: unmediated.
 156. Ito, H. Effects of the antitumor agents from various natural sources on drug-metabolizing system, phagocytic activity and complement system in sarcoma 180-bearing mice / H. Ito. – DOI 10.1254/jjp.40.435. - Text: electronic // Japan. J. Pharmacol. - 1986. – Vol.40, No. 3. - P.435-443. - URL:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021519819379119> (Accessed: 13.12.2018).
 157. Jeong, Y. M. Antioxidative effects and component analysis of extracts of the *Rumex acetosa* L. / Y. M. Jeong, H. J. Kim, S. H. Lee [et al.]. – DOI 10.15230/SCSK.2014.40.4.391. - Text: electronic // J. Soc. Cosmet. Sci. Korea. - 2014. - Vol. 40, No. 4. - P.391-402. - URL: http://society.kisti.re.kr/sv/SV_svpsbs03V.do?method=download&cn1=JAKO201403359903364 (Accessed: 19.06.2018).
 158. Jerezano, A. Some traditional medicinal plants of North region from Puebla, Mexico: Uses and potential pharmacological activity of *Rumex spp.* / A. Jerezano, D. Pazos, S. Rios [et al.]. – DOI 10.4172/2329-6836.100022. - Text: electronic // Nat. Prod. Chem. Res. - 2016. - Vol.4, No. 4. - P.223 - 230. - URL: <https://www.longdom.org/open-access/some-traditional-medicinal-plants-of-north-region-from-puebla-mexico-uses-and-potential-pharmacological-activity-of-rumex-spp-2329-6836-1000223.pdf> (Accessed: 27.02.2017).
 159. Kato, T. C-glycosylflavones with acetyl substitution from *Rumex acetosa* L. / T. Kato, Y. Morita. – DOI 10.1248/cpb.38.2277. - Text: electronic // Chem. Pharm. Bull. – 1990. – Vol.38, No. 8. – P.2277 – 2280. - URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/38/8/38_8_2277/_pdf/-char/en (Accessed: 15.09.2016).

160. Kew Backbone Distributions: *Rumex acetosa*. - Text: electronic // Plants of the World Online: [website]. - 2018. - URL: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:332105-2> (Accessed: 05.07.2018)
161. Kim, H. J. Anatomical characterization and chemical profiling of *Rumex* species / H. J. Kim, W. S. Park, J. Y. Bae [et al.]. – DOI 10.1055/s-0036-1596766. - Text: electronic // Planta Med. – 2016. – Vol. 82, suppl. 1 – P.1 – 381. - URL: https://www.researchgate.net/publication/312308486_Anatomical_characterization_and_chemical_profiling_of_Rumex_species (Accessed: 17.01.2018).
162. Kucekova, Z. Phenolic compounds from *Allium schoenoprasum*, *Tragopogon pratensis* and *Rumex acetosa* and their antiproliferative effects / Z. Kucekova, J. Mlcek, P. Humpolicek [et al.]. – DOI 10.3390/molecules16119207. - Text: electronic // Molecules. - 2011. – Vol. 16., No. 11. - P.9207-9217. - URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/16/11/9207/htm> (Accessed: 28.05.2017).
163. Lajter, I. Antiproliferative activity of *Polygonaceae* species from the Carpathian Basin against human cancer cell lines / I. Lajter, I. Zupko, J. Molnar [et al.]. – DOI 10.1002/ptr.4690. - Text: electronic // Phytother. Res. - 2013 – Vol.27, No. 1. – P.77–85. - URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.4690> (Accessed: 19.03.2017).
164. Mabry, T. The systematic identification of flavonoids / T. J. Mabry, K. R. Markham, M. B. Thomas; The Cell Research Institute and Department of Botany of The University of Texas at Austin. - New York: Springer-Verlag, 1970. - 354 p. - Ref. after ch. - ISBN 978-3-642-88460-3. - Text: unmediated.
165. Michalun, V. M. Skin Care and Cosmetic Ingredients Dictionary / M. V. Michalun, J. C. DiNardo. – [4th ed.]. - New York: Cengage Learning, 2014 – 339 p. – ISBN 978-1-285-06079-8. - Text: unmediated.

166. Oliff, H. S. Scientific and clinical monograph for Sinupret / H. S. Oliff, M. Blumenthal; American botanical council. - 14 p. – URL: abc.herbalgram.org/site/DocServer/Sinupret_fullmono.pdf (Accessed: 23.07.2017). - Text: electronic.
167. Orban-Gyapaia, O. Antibacterial screening of *Rumex* species native to the Carpathian Basin and bioactivity-guided isolation of compounds from *Rumex aquaticus* / O. Orbán-Gyapaia, E. Liktor-Busaa, N. Kúsa [et al.]. – DOI 10.1016/j.fitote.2017.03.009. - Text: electronic // Fitoterapia. – 2017. – Vol.118. – P.101 – 106. – URL: https://www.researchgate.net/publication/314755091_Antibacterial_screening_of_Rumex_species_native_to_the_Carpathian_Basin_and_bioactivity-guided_isolation_of_compounds_from_Rumex_aquaticus (Accessed: 19.03.2017).
168. Porteka, B. Selective protective effect of antioxidant-rich *Rumex acetosa* extracts / B. Porteka, A.C. Mot, C. Cimpoiu [et al.]. - Text: electronic // Rev. Chim. - 2016. - Vol.67, No. 5. - P.833-837. – URL: <https://www.revistadechimie.ro/pdf/PORTEKA%20B%205%2016.pdf> (Accessed: 18.01.2019).
169. Qamar, H. M. Vascular mechanisms underlying the hypotensive effect of *Rumex acetosa* / R. Qayyum, U. Salma, S. Khan [et al.]. - Text: unmediated // Pharm. Biol. – 2018. - Vol.56, No. 1. - P.225- 234. – References: P. 234 (35 titles).
170. *Rumex acetosa* - Image (still; two-dimensional): electronic // The Bulgarian flora online: [website]. – 2018. - URL: https://bgflora.net/families/polygonaceae/rumex/rumex_acetosa/rumex_acetosa_en.html (Accessed: 14.10.2016)
171. *Rumex acetosa* L. - Text: electronic // Global Biodiversity Information Facility (GBIF) : [website]. – 2017. - URL: https://www.gbif.org/occurrence/gallery?taxon_key=2888951 (Accessed: 08.07.2018)
172. *Rumex acetosa* (Green Sorrel) - Image (still; two-dimensional): electronic // Minnesota Wildflowers : [website]. – 2015. - URL:

- <https://www.minnesotawildflowers.info/flower/green-sorrel> (Accessed: 12.11.2017).
173. Schleiden, M. Phytochemical Screening, Extraction of Essential Oils and Antioxidant Activity of Five Species of Unconventional Vegetables / M. Schleiden, S. Carvalho. – DOI 10.4236/ajps.2015.616265. - Text: electronic // American Journal of Plant Sciences. – 2015. – No. 6. - P. 2632-2639. - URL: https://www.scirp.org/html/11-2602302_60628.htm (Accessed: 19.02.2018).
 174. Schmuch, J. Extract from *Rumex acetosa* L. for Prophylaxis of Periodontitis: Inhibition of Bacterial In Vitro Adhesion and of Gingipains of *Porphyromonas gingivalis* by Epicatechin-3-O-(4 β →8)-Epicatechin-3-O-Gallate (Procyanidin-B2-Di-Gallate) / J. Schmuch, S. Beckert, S. Brandt [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0120130. - Text: electronic // PLOS One. – 2015. – Vol.10, No. 3. – P.1 – 23. - URL: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0120130&type=printable> (Accessed: 15.10.2018).
 175. Schmuch, J. Proanthocyanidins from *Rumex acetosa* L. increase the in vitro rate of phagocytosis of *Porphyromonas gingivalis* in murine macrophages and provide a cytoprotective and anti-inflammatory potential for modern periodontitis therapy / J. Schmuch, S. Beckert, A. Hensel. – DOI 10.1055/s-0033-1351841. - Text: electronic // Planta Med. – 2013. – Vol. 79, No. 13. – P.1110-1111. - URL: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0033-1351841> (Accessed: 15.10.2018).
 176. Selçuk, S. N. Acute tubulointerstitial nephritis due to large amount of sorrel (*Rumex acetosa*) intake / S. N. Selçuk, B. Gülhan, A. Düzova, Ö. Tekşam. – DOI 10.3109/15563650.2015.1033061. - Text: electronic // Clin. Toxicol (Phila). – 2015. - Vol.53, No. 5. - P.497. - URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/15563650.2015.1033061> (Accessed: 08.12.2018).

177. Silva, E. C. Characterization of two types of azedinha in the region of Sete Lagoas, Brazil / E. C. Silva, L. A. Carlos, A. P. Araújo [et al.]. – DOI 10.1590/S0102-05362013000200025. - Text: electronic // Horticultura Brasileira. – 2013. – Vol.31, No. 4. – P.328 – 331. - URL: <http://www.scielo.br/pdf/hb/v31n2/25.pdf> (Accessed: 03.12.2018).
178. Silva, L. F. L. E. Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil // L. F. L. E Silva, D. C. De Souza, L. V. Resende [et al.]. – DOI 10.1590/0001-3765201820170509. - Text: electronic / An. Acad. Bras. Ciênc. – 2018. – Vol. 90, No. 2. – P.1775-1787. - URL: <http://www.scielo.br/pdf/aabc/v90n2/0001-3765-aabc-201820170509.pdf> (Accessed: 03.12.2018).
179. Steinmetz, E. F. *Materia medica vegetabilis*. Part II / E. F. Steinmetz. – Amsterdam: w. p., 1954 – 1473 p. – URL: https://www.herbalstudies.net/_media/resources/library/MMVII.pdf – (Accessed: 23.10.2017). - Text: electronic.
180. Sun, Y. Y. *Rumex acetosa* L. induces vasorelaxation in rat aorta via activation of PI₃-kinase/Akt- and Ca²⁺-ENOS-NO signaling in endothelial cells / Y. Y. Sun, X. H. Su, J. Y. Jin [et al.]. - Text: unmediated // Journal of Physiology and Pharmacology. - 2015. - Vol.66, No. 6. - P.907-915. – References: P. 914-915 (26 titles).
181. Tamano, M. Isolation of Hydroxyanthrones from the Roots of *Rumex acetosa* Linn. / M. Tamano, J. Koketsu. - Text: unmediated // Agric. Biol. Chem. – 1982. – Vol.46, No. 7 - P.1913 – 1914. – References: P.1914 (10 titles).
182. Thompson, A. T. A conspectus of the Pharmacopoeias of the London, Edinburgh, and Dublin Colleges of Physicians being a practical compendium of *Materia medica* and pharmacy / A. T. Thompson. - London: Forgotten Books, 2017. – 234 p. - ISBN 978-0265776698. – Text: unmediated.

183. Vasas A. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology / A. Vasas, O. Orban-Gyapai, J. Hohmann – DOI 10.1016/j.jep.2015.09.001 – Text: electronic // Journal of Ethnopharmacology. – 2015. – Vol. 175. – P.198-228. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874115301264/pdf?md5=14e97985e6261ef2ad68b3d28421b1b5&pid=1-s2.0-S0378874115301264-main.pdf> (Accessed: 20.04.2017).
184. Wagner, H. Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines / H. Wagner, R. Bauer, D. Melchart [et al.]; Universität München. – [2nd ed., revised and enlarged] – Wien-New York : Springer Wien New York, 2011. - 1012 p. - Ref. after ch. - ISBN 978-3-7091-0763-8. – Text: unmediated.
185. Wagner, H. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas / H. Wagner, S. Bladt, E. Zgainski; Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität München. – [2nd ed.] - Munich: Springer, 1996. - 384 p. - References: p. 367. - ISBN 978-3-540-58676-0. – Text: unmediated.
186. Wegiera, M. Anthracene derivatives in some species of *Rumex L.* genus / M. Wegiera, H. D. Smolarz, D. Wianowska, A. J. Dawidowicz. – DOI 10.5586/asbp.2007.013. – Text: electronic // Acta Soc Bot Pol. - 2007. - Vol.76, No. 2. - P.103-108. – URL: https://www.researchgate.net/profile/Dorota_Wianowska/publication/272735799_Anthracene_derivatlves_in_some_species_of_Rumex_L_genus/links/54edc66c0cf24a16e607f78b/Anthracene-derivatlves-in-some-species-of-Rumex-L-genus.pdf (Accessed: 19.12.2018).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

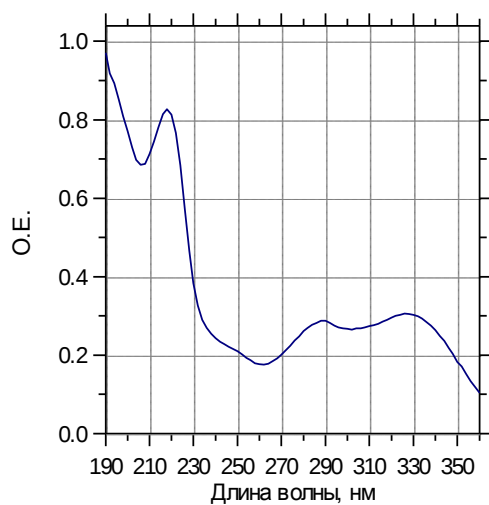
- АГМУ – Алтайский государственный медицинский университет
- БАС – биологически активные соединения
- БУВ – спирт н-бутиловый – уксусная кислота концентрированная/ледяная – вода очищенная
- ВАК – Высшая аттестационная комиссия
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
- ГФ – Государственная Фармакопея
- ГФ XIV изд. – Государственная фармакопея XIV издания
- ДВ – дубильные вещества
- ДХФИФН – дихлорфенолиндифенолят натрия
- ЗСОКСОС – Западно - Сибирская овоще - картофельная селекционная опытная станция
- ЛРС – лекарственное растительное сырье
- ОФС – общая фармакопейная статья
- ПО – программное обеспечение
- РСО – рабочий стандартный образец
- СО – стандартный образец
- СФМ – спектрофотометрия
- ТСХ – тонкослойная хроматография
- ТФУК – трифторуксусная кислота
- УФ-свет – ультрафиолетовый свет
- ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России - федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России
- MRSA – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*)

ПРИЛОЖЕНИЯ

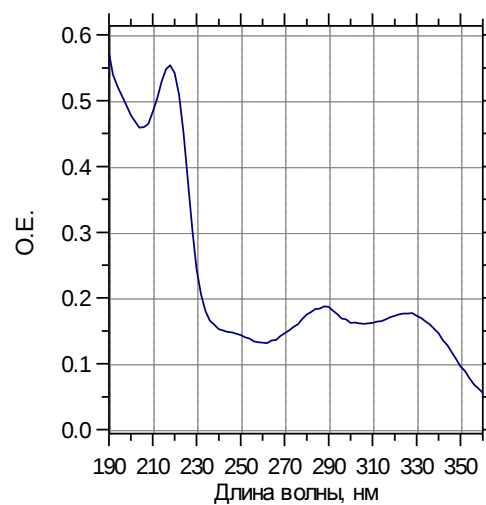
(перечень)

№ п/п	Наименование приложения
1.	Спектры поглощения соединений спиртового извлечения щавеля кислого травы
2.	Спектры поглощения соединений эфирной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы
3.	Спектры поглощения соединений этилацетатной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы
4.	Спектры поглощения соединений бутанольной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы
5.	Спектры поглощения соединений гидролизата спиртового извлечения щавеля кислого травы
6	Результаты изучения показателей щавеля кислого травы при хранении с июля 2016 г. по январь 2019 г.
7.	Проект фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава»
8.	Пояснительная записка к проекту фармакопейной статьи
9.	Сопроводительное письмо к проекту фармакопейной статьи
10.	Письмо из ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России
11.	Инструкция по сбору и сушке щавеля кислого травы
12.	Свидетельство о государственной регистрации базы данных
13.	Акты внедрения и апробации

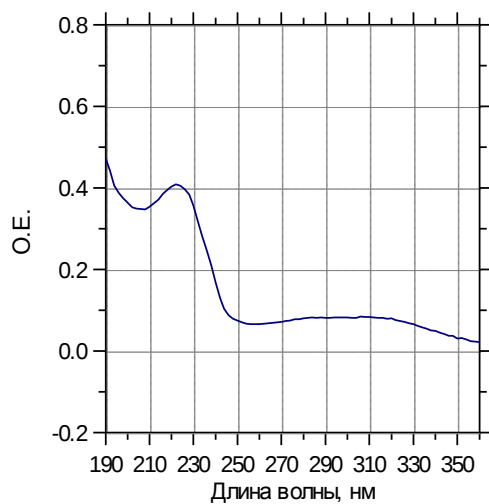
**Приложение №1. Спектры поглощения соединений спиртового извлечения
щавеля кислого травы**



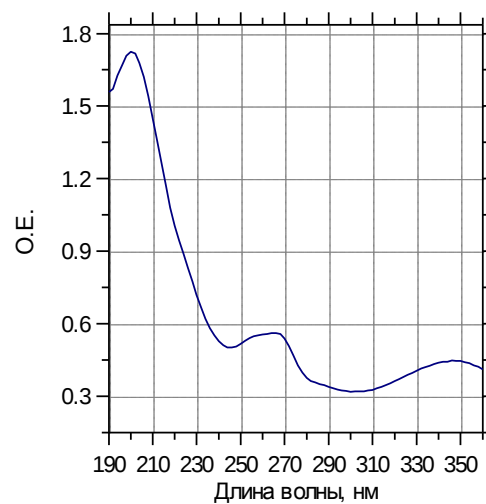
9,3 мин - фисцион



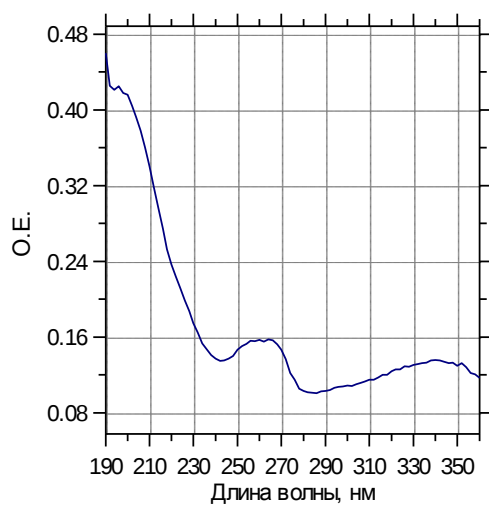
10,2 мин - эмодин



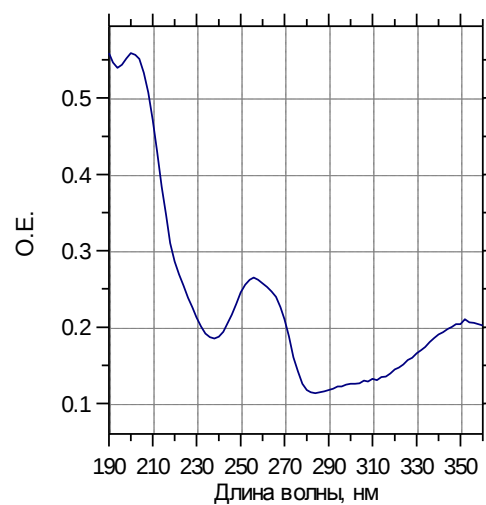
11,2 мин - реин



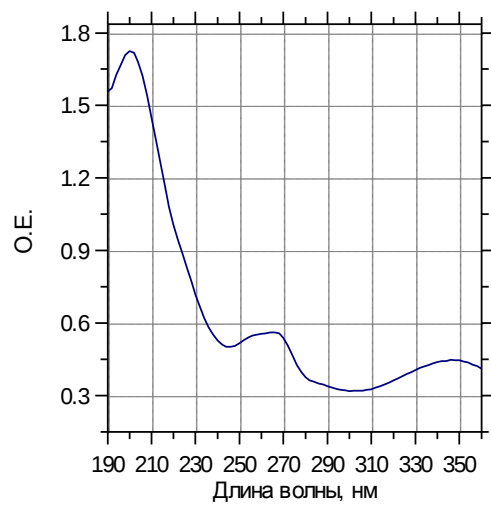
13,6 мин - кемпферол-7-О-рамнозид



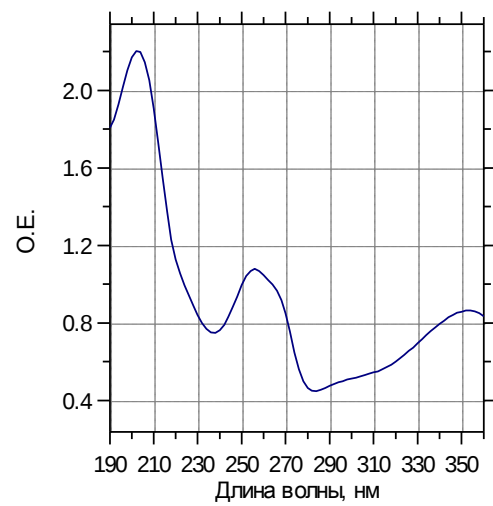
14,7 мин - гиперозид



15,3 мин - рутин

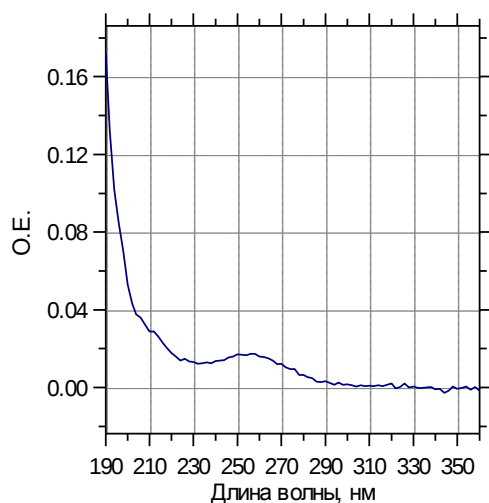


15,6 мин - кемпферол-3-О-рамнозид

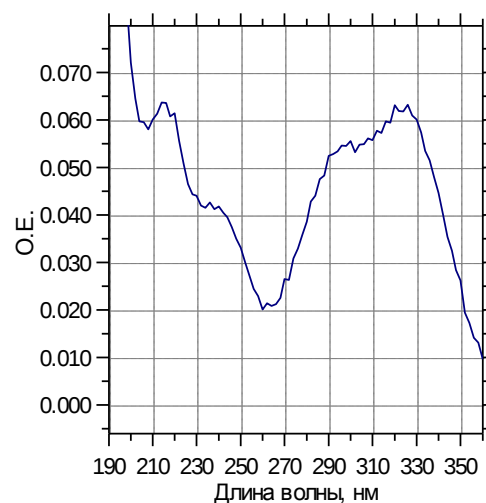


16,4 мин - кверцитрин

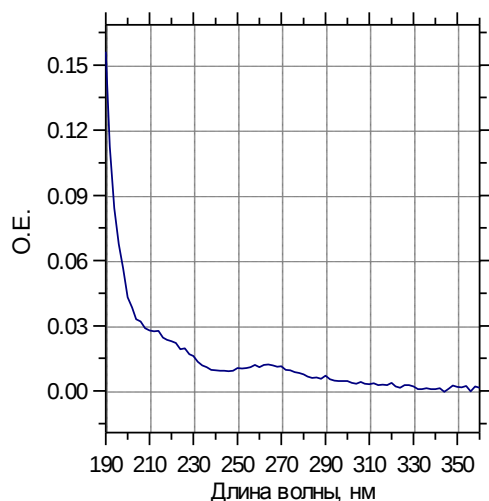
Приложение №2. Спектры поглощения соединений эфирной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы



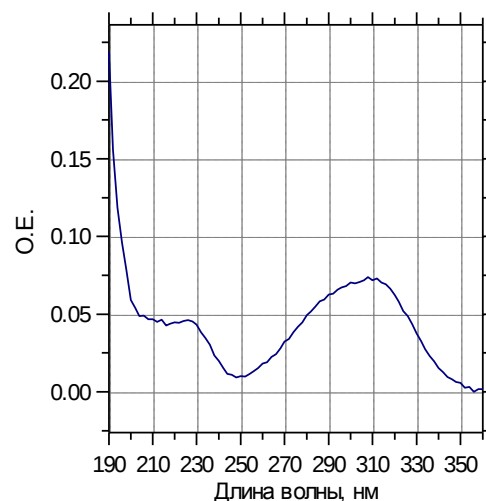
10,6 мин – производное катехина



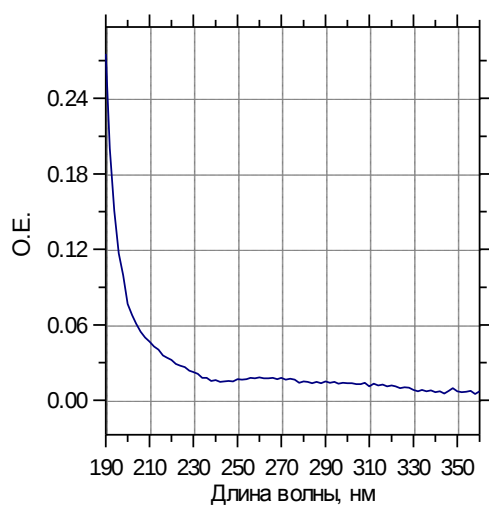
11,8 мин – кофейная кислота



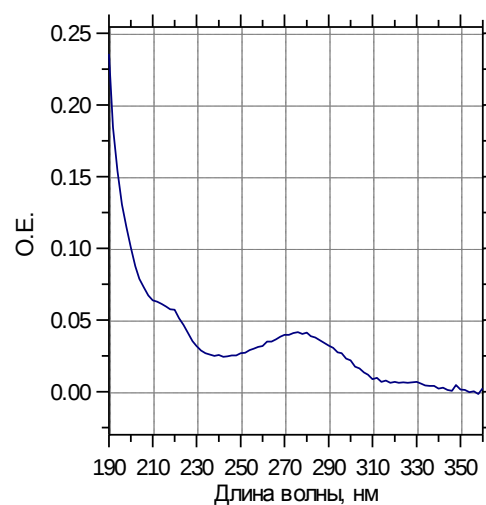
13 мин – производное катехина



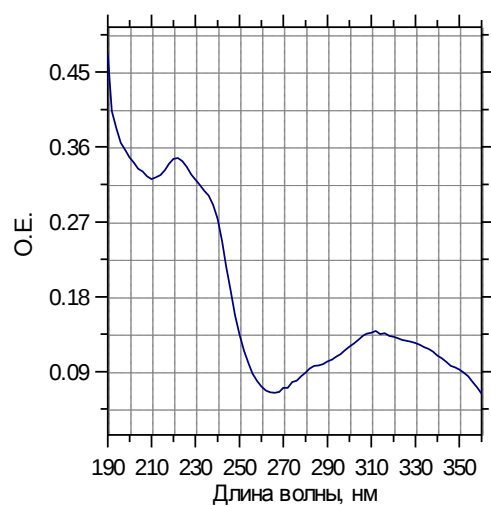
14,5 мин – производное п-кумаровой кислоты



15 мин – пирокатехин

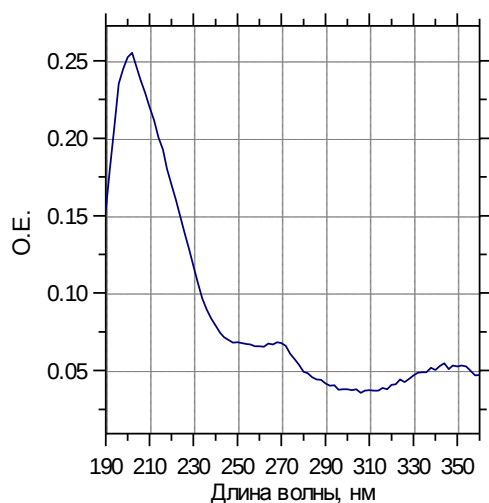


21,9 мин – производное катехина

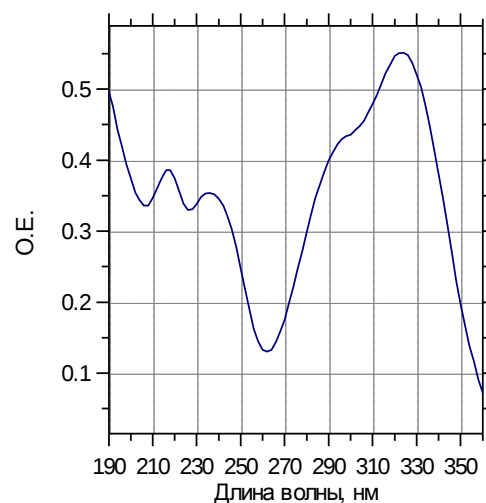


23 мин – эллаготанин

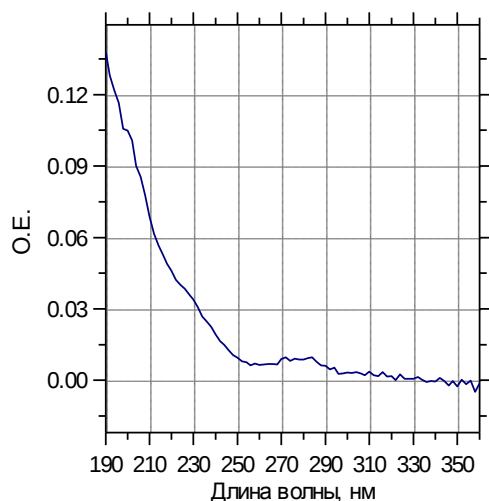
Приложение №3. Спектры поглощения соединений этилацетатной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы



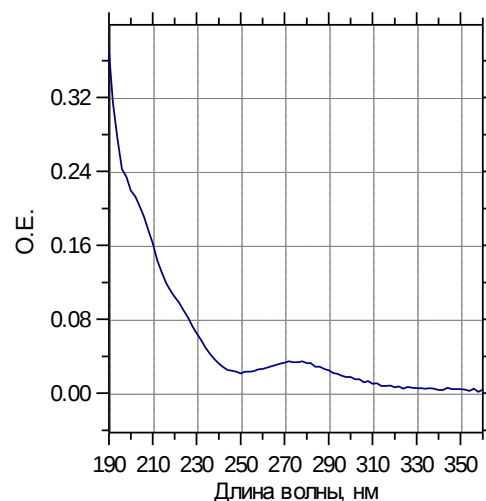
8,6 мин – производное кумарина



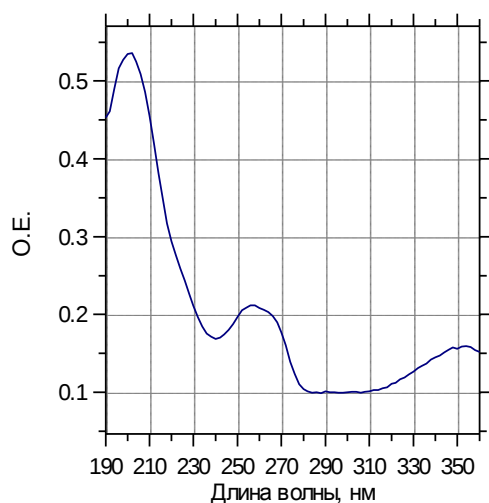
9,4 мин – феруловая кислота



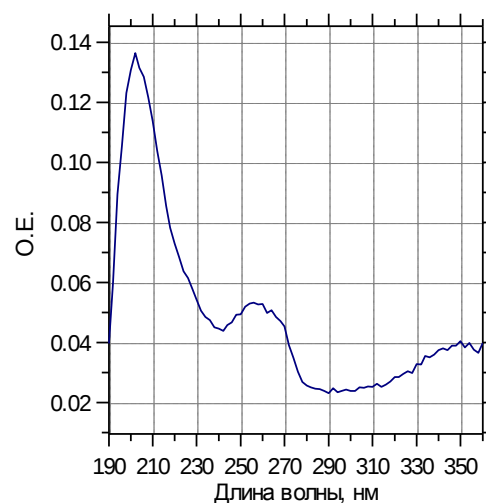
10,8 мин – производное катехина



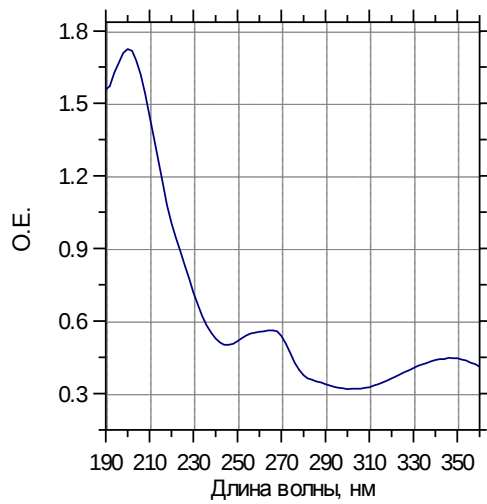
11,5 мин - эпигаллокатехин галлат



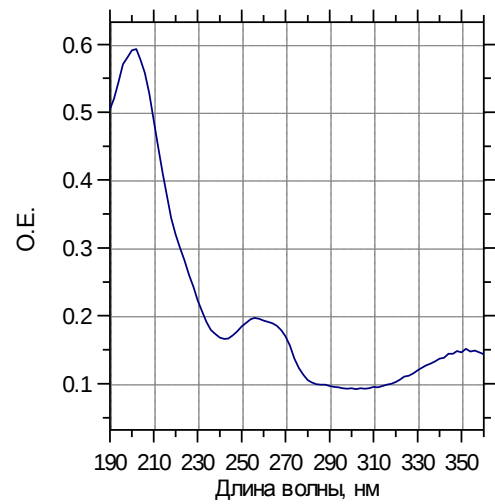
13,4 мин – производное кверцетина



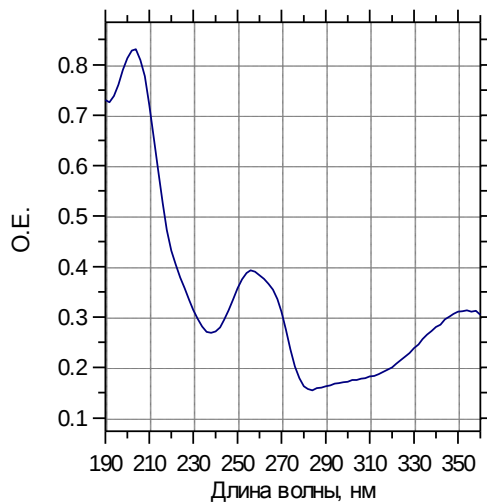
14,4 мин - гиперозид



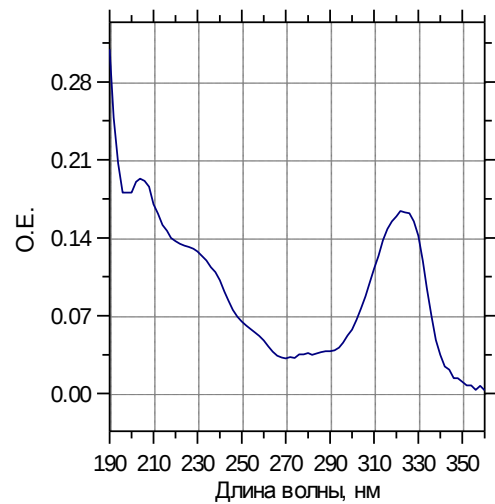
15,1 мин – производное кемпферола



15,8 мин – производное кверцетина

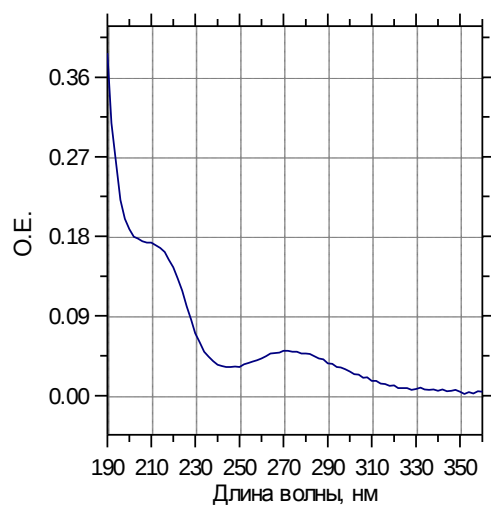


16,1 мин - кверцетрин

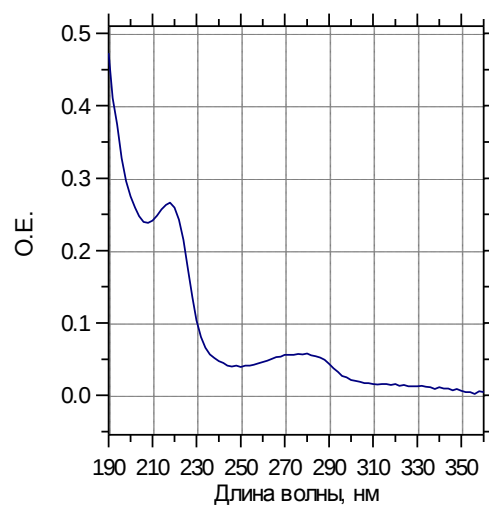
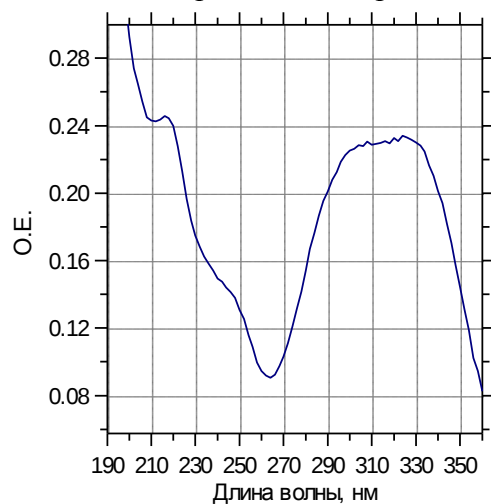


20,6 мин - производное 7-метоксикумарина

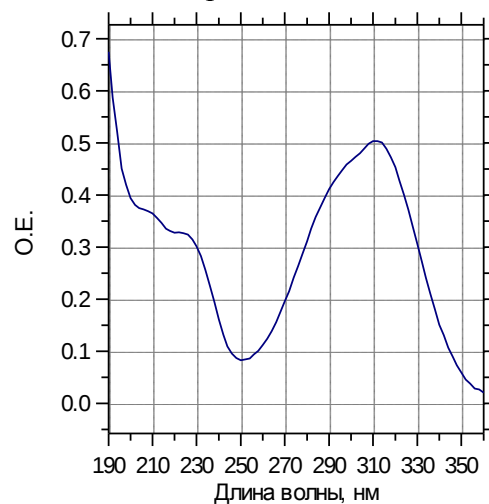
Приложение №4. Спектры поглощения соединений бутанольной фракции спиртового извлечения щавеля кислого травы



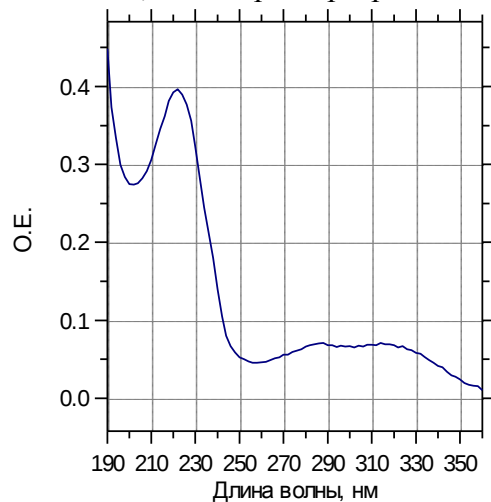
8,1 мин – производное хризацина



8,5 мин – производное катехина

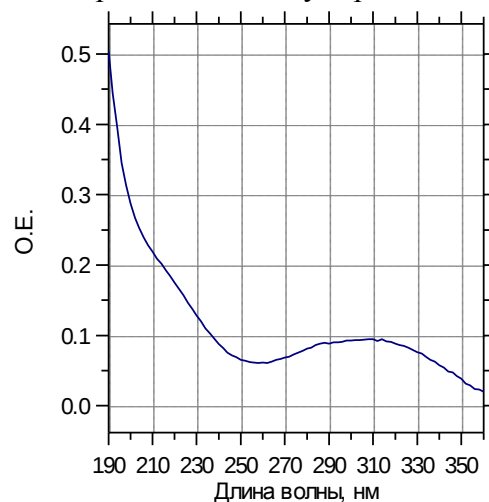


9,3 мин - ресвератрол

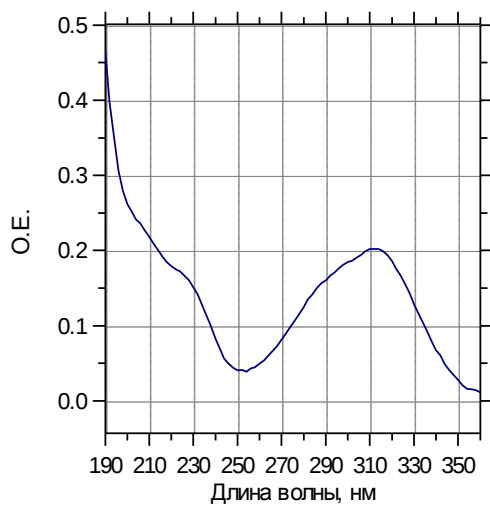


10,9 мин - производное хризацина

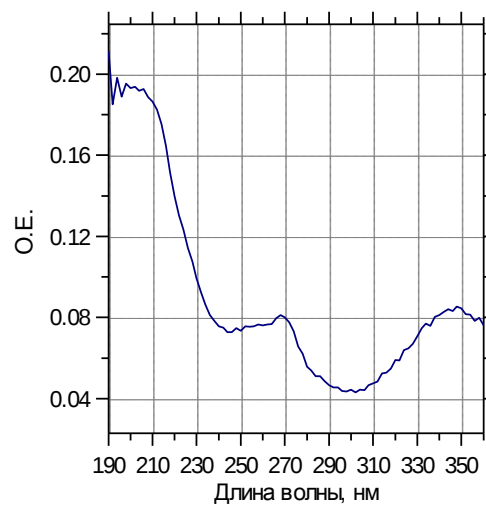
10,9 – производное п-кумаровой кислоты



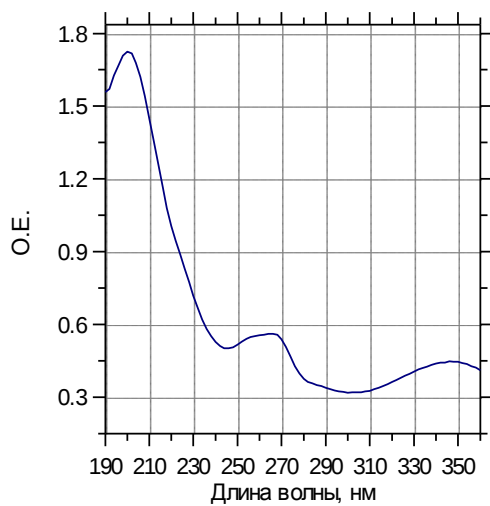
11,5 мин – производное п-кумаровой кислоты



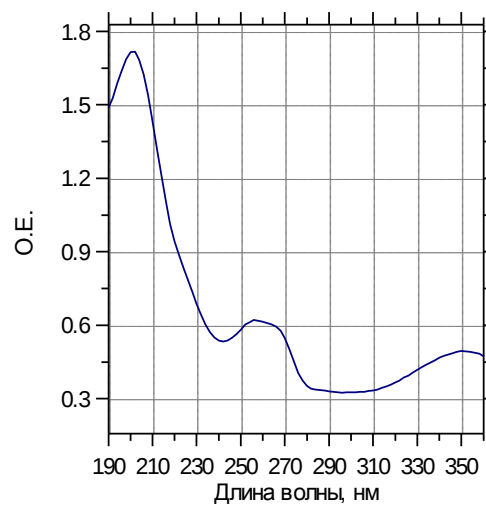
13,6 мин – производное п-кумаровой кислоты



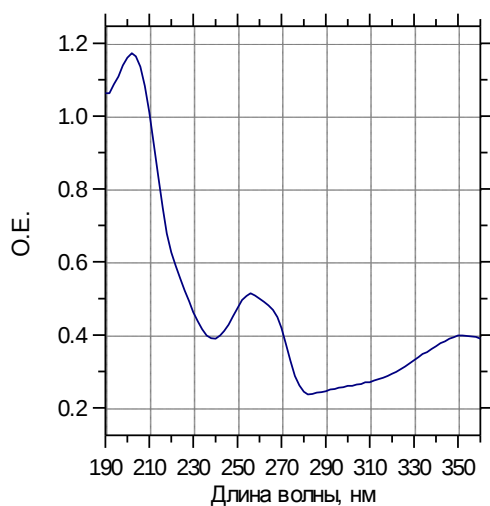
14,5 мин – производное кемпферола



15,1 мин – производное кемпферола

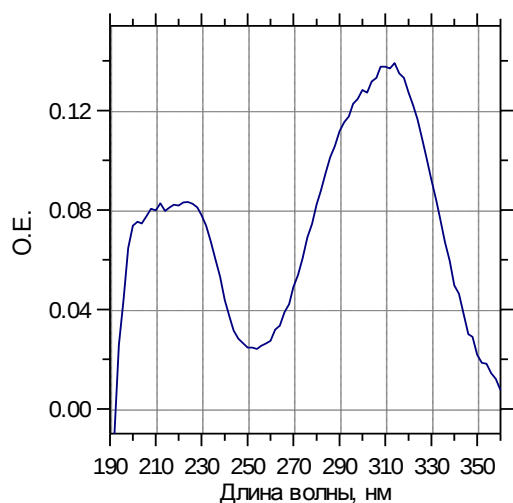


15,4 мин - рутин

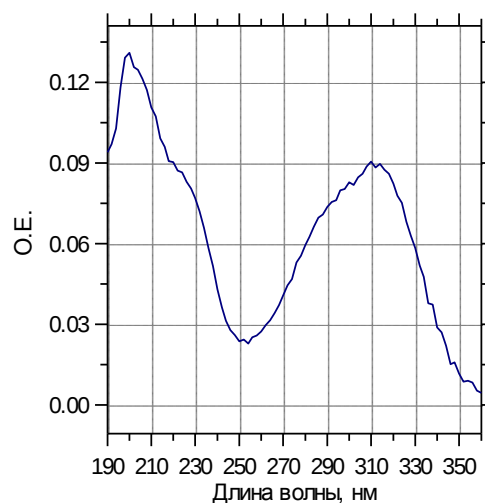


15,8 мин – производное кверцетина

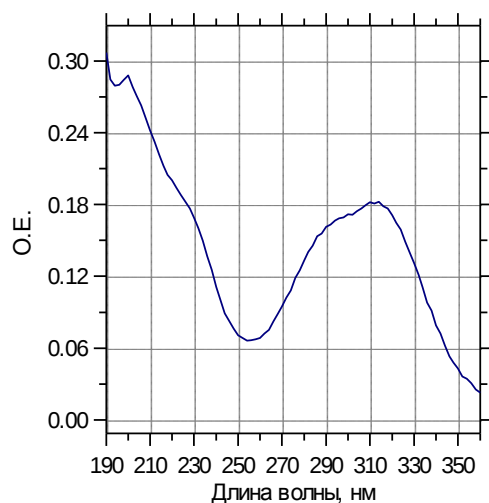
Приложение №5. Спектры поглощения соединений гидролизата спиртового извлечения щавеля кислого травы



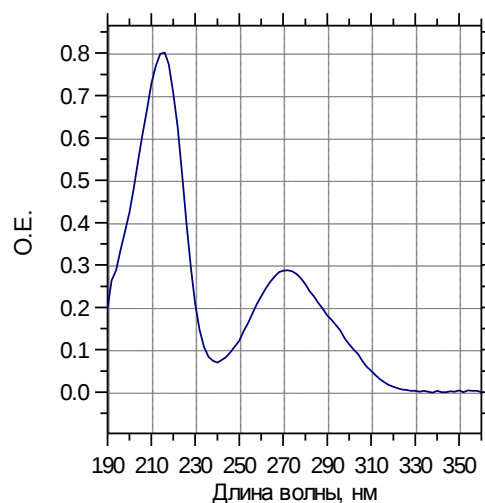
9,8 мин - производное п - кумаровой кислоты



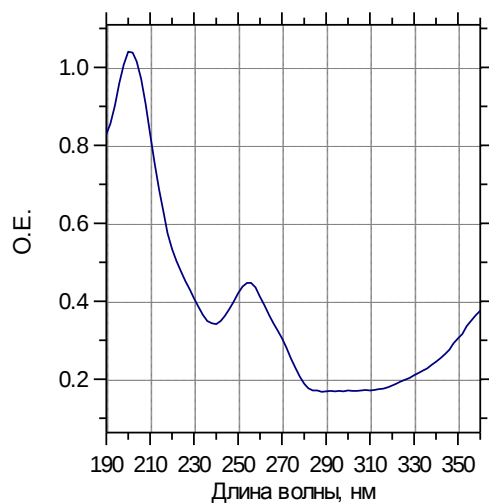
12,4 мин - п – кумаровая кислота



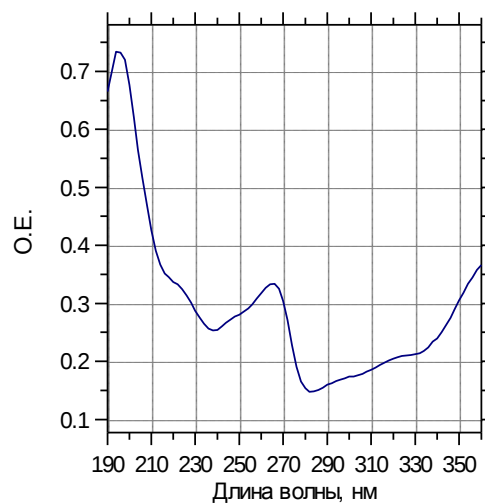
15,7 мин - производное п - кумаровой кислоты



17 мин - галловая кислота



21,6 мин - кверцетин



24,7 мин - кемпферол

Приложение №6. Результаты изучения показателей щавеля кислого травы при хранении с июля 2016 г. по январь 2019 г.

Срок хранения (месяц)	Влажность, %	Сырье, изменившее окраску, %	Дубильные вещества, %	Флавоноиды, %
Партия №1				
0	8,30	0,29	3,78	0,64
6	8,29	0,29	3,77	0,64
12	8,28	0,31	3,77	0,63
18	8,36	0,34	3,69	0,63
24	8,41	0,37	3,59	0,62
30	9,19	0,40	3,57	0,57
Партия №2				
0	7,19	0,43	4,56	0,76
6	7,18	0,43	4,54	0,76
12	7,17	0,44	4,49	0,75
18	7,19	0,45	4,47	0,74
24	7,34	0,46	4,39	0,73
30	7,43	0,48	4,35	0,72
Партия №3				
0	8,41	0,35	3,89	0,65
6	8,39	0,35	3,87	0,64
12	8,39	0,35	3,76	0,64
18	8,38	0,37	3,74	0,59
24	8,52	0,40	3,41	0,56
30	8,93	0,41	3,25	0,56
Партия №4				
0	8,29	0,19	4,19	0,89
6	8,29	0,19	4,18	0,89
12	8,27	0,20	4,18	0,88
18	8,25	0,21	4,17	0,85
24	8,51	0,23	4,05	0,79
30	8,60	0,25	3,76	0,71
Партия №5				
0	6,98	0,51	5,16	1,07
6	6,95	0,52	5,15	1,06
12	6,93	0,52	5,15	1,06
18	7,01	0,53	5,05	1,01
24	7,12	0,54	4,89	0,98
30	7,35	0,55	4,01	0,86

Приложение №7. Проект фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава»**ПРОЕКТ****МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ****ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА****ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

Щавеля кислого трава	ФС.2.5.XXXX.XX
<i>Rumicis acetosae herba</i>	Вводится впервые

Срок действия установлен

с «___» _____ 20__ г.

до «___» _____ 20__ г.

Собранная в фазу цветения и высушенная цельная трава дикорастущего двулетнего травянистого растения щавеля кислого – *Rumex acetosa* L., сем. гречишных – *Polygonaceae* Juss.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ**ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА**

СПЕЦИФИКАЦИЯ

Щавеля кислого трава

Показатели		Методы	Нормы
Подлинность			
Внешние признаки		Визуальный	Должны соответствовать описанию в НД
Микроскопические признаки		Визуальный	Должны соответствовать описанию в НД
Определение основных групп биологически активных соединений		Качественные реакции	1. Черно – зеленое окрашивание раствора (дубильные вещества) 2. Желтое окрашивание раствора (флавоноиды)
Испытания			
Влажность		ГФ XIV изд.	Не более 10%
Зола общая		ГФ XIV изд.	Не более 14%
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте		ГФ XIV изд.	Не более 1%
Сырье, изменившее окраску (побуревшие стебли, листья)		ГФ XIV изд.	Не более 1%
Органическая примесь		ГФ XIV изд.	Не более 2%
Минеральная примесь		ГФ XIV изд.	Не более 1%
Тяжелые металлы		В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	
Радионуклиды		В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	
Остаточные количества пестицидов		В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	
Микробиологическая чистота		ГФ XIV изд.	Категория 4А
Количественное содержание	Дубильные вещества	Спектрофотометрия	Не менее 3% (в пересчете на галловую кислоту)
	Флавоноиды	Дифференциальная спектрофотометрия	Не менее 0,5% (в пересчете на рутин)
Экстрактивные вещества (извлекаемые спиртом этиловым 70%)		ГФ XIV изд.	Не менее 45%
Упаковка, маркировка, транспортирование		В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»	
Хранение		В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»	
Срок годности		2,5 года	

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Щавеля кислого трава представляет собой верхние части стеблей до 70 см с листьями и соцветиями. Стебли бороздчатые, неветвистые, толщиной от 0,2 до 0,5 см. Листья очередные, простые, черешковые или сидячие, размером от 7 до 20 см, листовые пластинки продолговато-яйцевидные, при основании стреловидные или копьевидные с острыми лопастями, направленными вниз, край листа цельный, на обратной стороне листа ярко выраженная центральная жилка, жилкование перистое. Черешок до 20 см длиной, бороздчатый. Находящиеся у основания черешковых листьев раструбы – пленчатые, красноватые, бахромчато – надрезанные. Соцветия верхушечные – кисти, образующие метёлку. Цветки актиноморфные, мелкие, с простым чашечковидным околоцветником, который состоит из 6 лепестков, расположенных в два круга по 3.

Цвет стеблей и листьев зеленый, иногда с розовым или бурым оттенком; цветков – розовые или желтые, реже зеленоватые. Запах слабый, своеобразный. Вкус водного извлечения кисловатый, вяжущий.

Микроскопические признаки. При рассмотрении листовой пластинки с поверхности видны клетки верхней и нижней эпидермы с извилистыми тонкими стенками, устьица аннотропного типа и железки с многоклеточной (от 4 до 8 клеток) головкой на обеих сторонах листа, встречаются многочисленные друзы оксалата кальция. По жилке на нижней стороне листа встречаются простые одноклеточные сосочковидные волоски.

Центральная жилка на поперечном срезе имеет треугольную форму, ребристая; в каждом ребре располагается 3 – 5 рядов угловой колленхимы. При рассмотрении препарата с поверхности видно, что клетки эпидермы жилки вытянутые, стенки почти прямые, имеются простые одноклеточные тонкостенные волоски.

Черешок на поперечном срезе имеет треугольную форму, бороздчатый. Проводящие пучки закрытые коллатеральные, со склеренхимной обкладкой из 5 – 7 рядов клеток.

Раструб черешка листа бахромчато надрезанный; клетки эпидермы мелкие, правильной, в очертании прямоугольной формы со слабо извилистыми стенками, устьица отсутствуют, в мезофилле находится большое количество друз оксалата кальция.

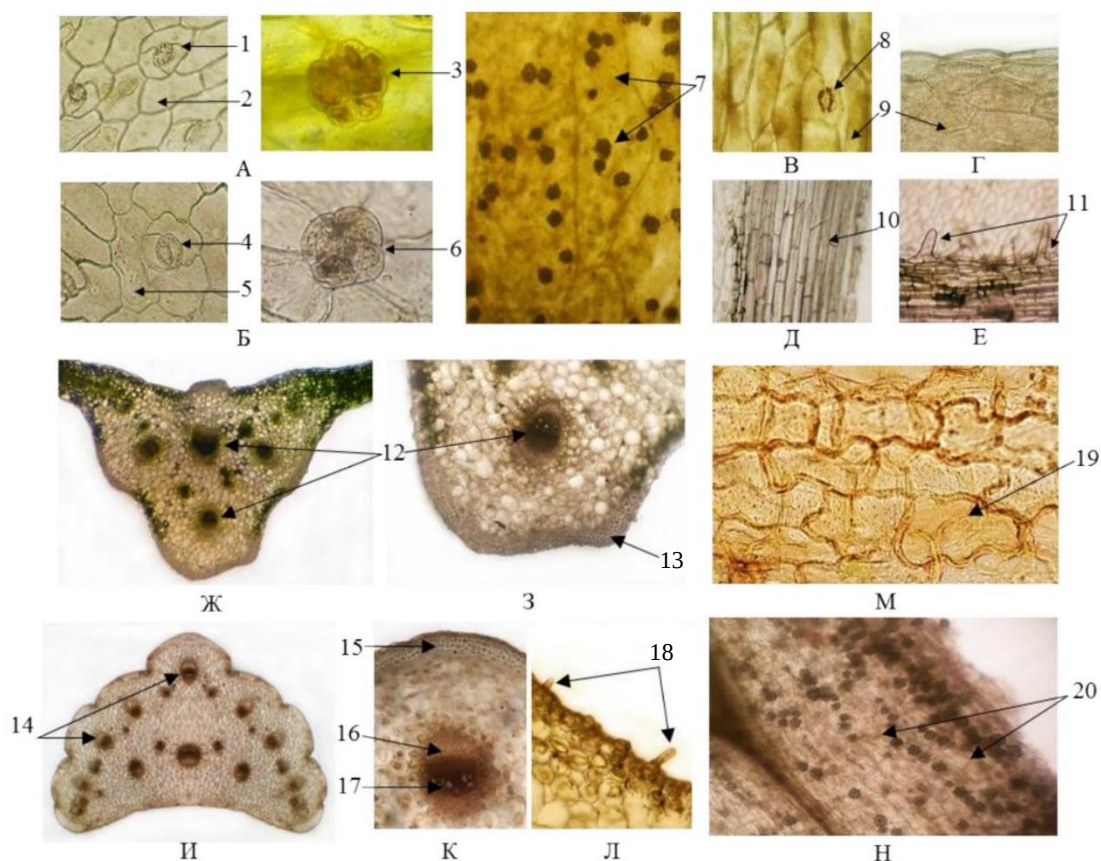


Рисунок 1 – Анатомио – диагностические признаки листа: верхняя (А) и нижняя (Б) эпидерма листовой пластинки (увл. $\times 400$): 1, 4 – анизокитный тип устьичного комплекса, 2, 5 – клетки эпидермы, 3 – железка с 8-и клеточной головкой, 6 – железка с 4-х клеточной головкой, 7 – друзы оксалата кальция; В – в области главной жилки, Г – в области края листовой пластинки: 8 – анизокитный тип устьичного комплекса, 9 – клетки эпидермы; Д, Е – над главной жилкой: 10 – клетки эпидермы, 11 – простой одноклеточный волосок по жилке нижней стороны листа; Ж (увл. $\times 70$), З (увл. $\times 100$) – главная жилка: 12 – проводящие пучки, 13 – уголкового колленхима; И (увл. $\times 40$), К (увл. $\times 100$), Л (увл. $\times 400$) – черешок листа: 14 – закрытые проводящие пучки, 15 – уголкового колленхима, 16 – флоэма, 17 – ксилема, 18 – простые одноклеточные волоски; М (увл. $\times 400$), Н (увл. $\times 100$) – препарат раструба с поверхности: 19 – клетки эпидермы, 20 – друзы оксалата кальция.

На «давленном» микропрепарате пестичного цветка виден гинецей с тремя нитевидными столбиками и кистевидными рыльцами с сосочковидными выростами; при основании цветка вдоль жилок чашелистиков наблюдаются многочисленные друзы оксалата кальция.

При рассмотрении микропрепаратов чашелистиков с поверхности видны клетки эпидермы: извилистостенные, с устьицами аномоцитного типа (верхняя эпидерма); прямостенные, с железами с 4-х клеточной головкой и сосочковидными выростами по краям чашелистика (нижняя эпидерма).

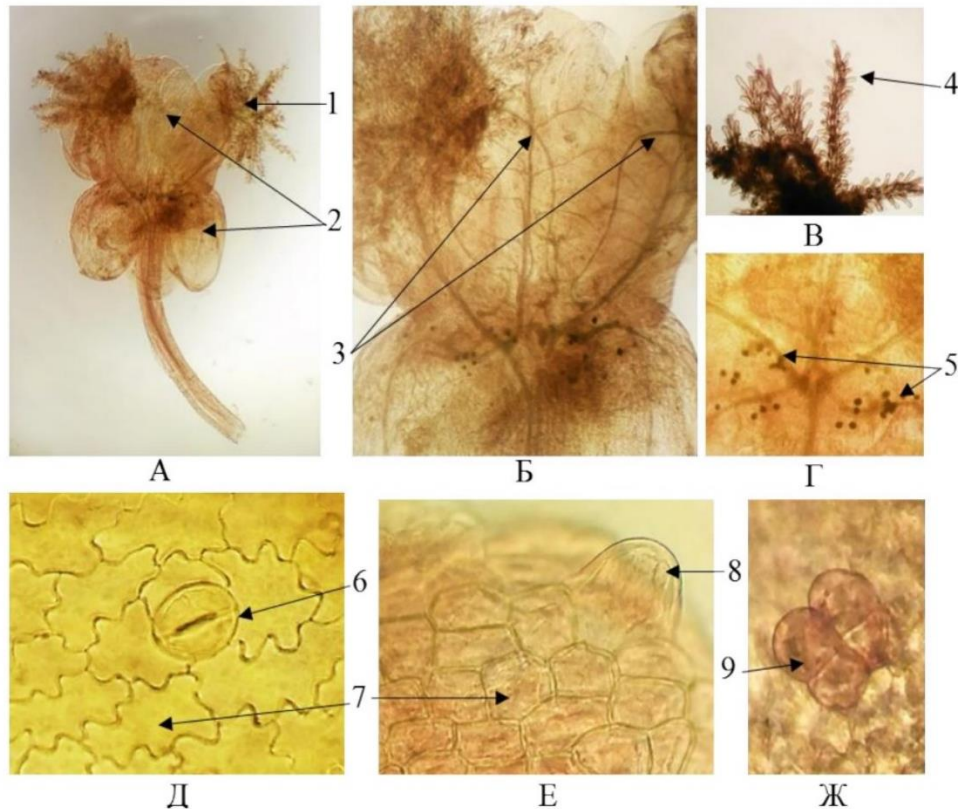


Рисунок 2 - Анатомио - диагностические признаки пестичных цветков (А – увл. x100, Б - Г – увл. x400): 1 – кистевидные рыльца, 2 – чашелистики, 3 – нитевидные столбики, 4 – сосочковидные выросты, 5 – друзы оксалата кальция; верхняя (Д) и нижняя (Е, Ж) эпидерма чашелистиков пестичного цветка (увл. x400): 6 – аномоцитный тип устьичного комплекса, 7 – клетки эпидермы, 8 – сосочковидный вырост эпидермы, 9 – железа с 4-х клеточной головкой.

При рассмотрении «давленного» препарата тычиночного цветка видны чашелистики и 6 тычинок с сосочковидными выростами и пыльцевыми зернами округлой формы.

На микропрепарате с поверхности чашелистиков тычиночного цветка видны клетки верхней и нижней эпидермы: верхняя эпидерма - в центре в области жилок и при основании чашелистика клетки с прямыми стенками и устьицами аномоцитного типа; ближе к краю чашелистика клетки эпидермы с сильно извилистыми стенками, устьица и железы

ближе к краю чашелистика клетки эпидермы с сильно извилистыми стенками, устьица и железки отсутствуют; нижняя эпидерма - в центре в области жилок и при основании чашелистика клетки со слабо извилистыми стенками и устьицами анамоцитного типа; ближе к краю чашелистика клетки эпидермы с сильно извилистыми стенками, устьица отсутствуют, имеются железки с 4-х клеточной головкой.

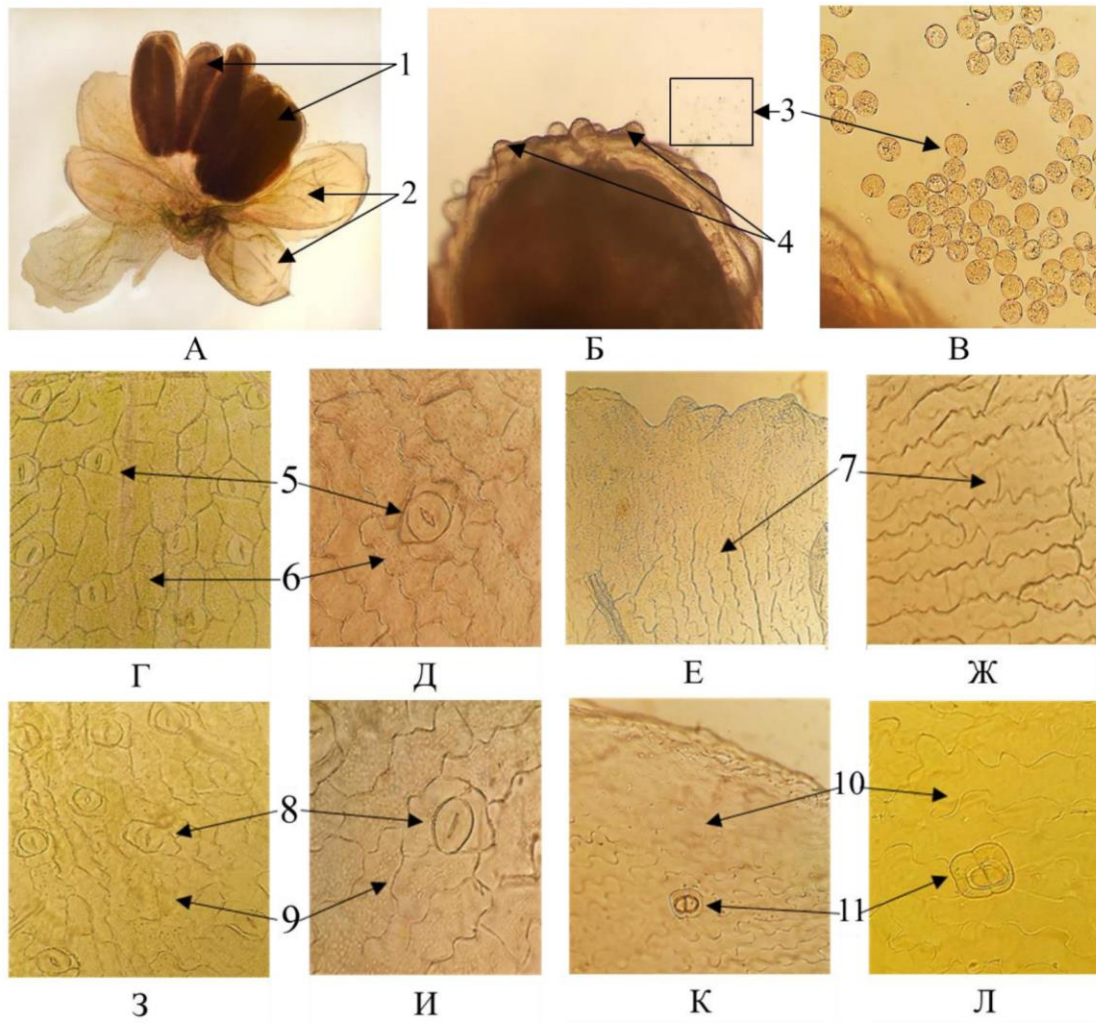


Рисунок 3 - Анатомио - диагностические признаки тычиночных цветков (А – увл. x100, Б, В – увл. x400): 1 – тычинки, 2 – чашелистики, 3 – пыльцевые зерна, 4 – сосочковидные выросты; верхняя (Г - Ж) и нижняя (З - Л) эпидерма чашелистиков (Е, З, К – увл. x400; Г, Д, Ж, И, Л- увл. x630): 5,8 – аномоцитный тип устьичного комплекса, 6,7,9,10 – клетки эпидермы, 11 – железка с 4-х клеточной головкой.

При рассмотрении поперечного среза стебля видно, что в поперечном сечении он округлый, ребристый, тип строения – вторичное пучковое.

Первичная кора дифференцирована, состоит из уголковой колленхимы (4 – 6 рядов в ребрах, 1 – 3 рядов в междуребье), хлоренхимы и слабо выраженной эндодермы, которая представлена крахмалоносным влагалищем.

В центральном осевом цилиндре по кругу расположены открытые коллатеральные пучки. Сердцевина состоит из паренхимных клеток с друзами оксалата кальция.

На микропрепаратах с поверхности стебля видно, что клетки эпидермы на ребрах – продольно-вытянутые, прямостенные, устьица отсутствуют; в междуребье – прямоугольные, с часто встречающимися анизоцитными устьицами.

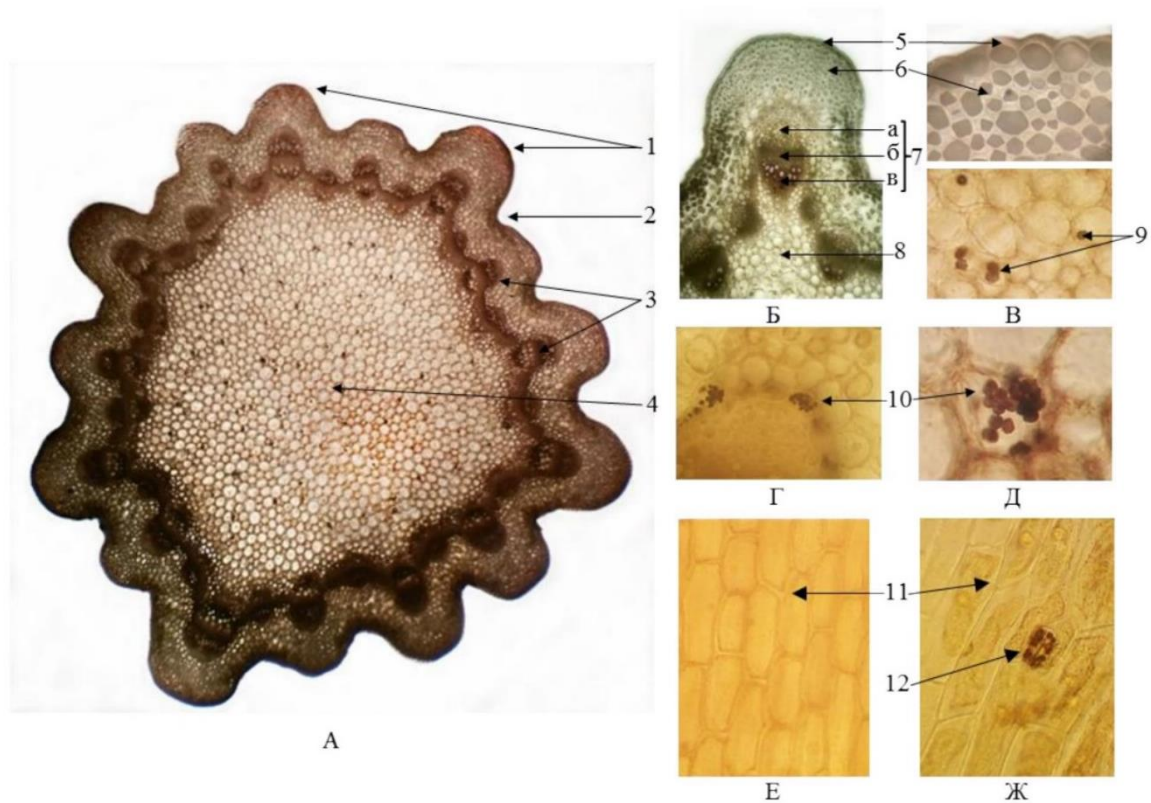


Рисунок 4 – Анатомио – диагностические признаки стебля: А (увл. x24): 1 – ребра; 2 – междуребье; 3 – проводящие пучки; 4 – сердцевина; Б (увл. x100), В (увл. x400): 5 – эпидерма; 6 – уголковая колленхима; 7 – коллатеральный сосудисто – волокнистый пучок: а – флоэма; б – камбий, в – ксилема, 8 – основная паренхима, 9 – друзы оксалата кальция; Г (увл. x400), Д (увл. X630): 10 – крахмальные зерна; Е (увл. x400) - эпидерма стебля на ребрах, Ж (увл. x400) - эпидерма стебля в междуребье: 11 – клетки эпидермы, 12 – анизоцитный тип устьичного комплекса.

Определение основных групп биологически активных соединений

Качественная реакция. 1. Около 0,5 г сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито размером 2 мм, помещают в коническую колбу на 100 мл, заливают 50 мл горячей воды и нагревают на водяной бане в течении 5 минут, полученное извлечение фильтруют через складчатый фильтр. К 5 мл фильтрата прибавляют 4-5 капель железа (III) аммония сульфата раствора 1%; должно наблюдаться черно – зеленое окрашивание (дубильные вещества).

2. Около 0,5 г сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито размером 2 мм, помещают в коническую колбу на 100 мл, заливают 10 мл спирта этилового 70%, соединяют с обратным холодильником и нагревают на водяной бане в течении 10 минут, полученное извлечение фильтруют через складчатый фильтр. В две одинаковые пробирки помещают по 5 мл фильтрата. В одну из пробирок прибавляют 2 мл алюминия хлорида раствора 5% (испытуемый раствор), а во вторую 1 мл спирта этилового 70% (раствор сравнения), содержимое пробирок перемешивают. Через 20 минут содержимое пробирок просматривают на белом фоне. Испытуемый раствор должен иметь желтый цвет и по интенсивности окраски превосходить раствор сравнения (флавоноиды).

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. Не более 10%.

Зола общая. Не более 14%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Не более 1%.

Посторонние примеси

Сырье, изменившее окраску (побуревшие стебли, листья) - не более 1%.

Органическая примесь – не более 2%.

Минеральная примесь - не более 1%.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота». Категория 4А

Количественное определение. Сумма дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту – не менее 3%; сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 0,5%; экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70% - не менее 45%.

Дубильные вещества

Приготовление растворов.

Раствор СО галловой кислоты. Около 0,02 г кислоты галловой (точная навеска) растворяют в 50 мл воды очищенной в мерной колбе вместимостью 100 мл, при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объем раствора чем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО кислоты галловой).

В мерную колбу на 50 мл отмеривают 5 мл раствора А СО кислоты галловой, прибавляют 5 мл фосфатного буферного раствора, 10 мл железо - тартратного реактива, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор Б СО кислоты галловой)

Железо - тартратный реактив. 0,46 г железа (II) сульфата гептагидрата и 1,25 г калия — натрия тартрата тетрагидрата растворяют в 100 мл воды очищенной в мерной колбе емкостью 250 мл, раствор доводят водой очищенной до метки. Раствор годен 48 часов при хранении в холодильнике.

Фосфатный буферный раствор. 9,073 г дигидрофосфата калия растворяют в 100 мл воды очищенной и разбавляют объем до 1000 мл (раствор А). 11,866 г дигидрофосфата натрия дигидрата растворяют в 100 мл воды очищенной и разбавляют объем до 1000 мл (раствор Б). 3,1 мл раствора А доводят до метки раствором Б в мерной колбе на 100 мл. рН фосфатного буферного раствора должен быть от 8,1 до 8,3.

Около 1,0 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, добавляют 100 мл воды очищенной и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Извлечение процеживают без

охлаждения через двойной слой марли в мерную колбу вместимостью 200 мл. Сырье на марле дважды промывают водой очищенной. После охлаждения доводят объем раствора водой очищенной до метки (раствор А).

В мерную колбу на 25 мл отмеривают 5 мл раствора А, прибавляют 5 мл фосфатного буферного раствора, 10 мл железо - тартратного реактива, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Оптическую плотность полученных растворов измеряют через 10 минут на спектрофотометре в кювете толщиной 1 см при длине волны (λ) 545 ± 1 нм. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО кислоты галловой.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 5 мл фосфатного буферного раствора, 10 мл железо - тартратного реактива, доведенных до метки водой очищенной в мерной колбе на 25 мл.

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на кислоту галловую в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 200 \cdot 25 \cdot 5 \cdot a_0 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25 \cdot (100 - W)} \cdot 100, \text{ где}$$

A – оптическая плотность раствор Б испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора Б СО кислоты галловой;

a – навеска сырья, г;

a_0 – навеска СО кислоты галловой, г;

P – содержание основного вещества в СО кислоты галловой, %;

W – влажность сырья, %.

Флавоноиды

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130 - 135 °С в течение 3 ч, растворяют в 80 мл спирта 70 % в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят объем раствора чем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутина).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл раствора А СО рутина, 5 мл алюминия хлорида раствора 5% спиртового, доводят объем раствора спиртом этиловым 70 % до метки и перемешивают (раствор Б СО рутина)

Около 1,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито размером 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта этилового 70 %. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически перемешивая. Охлажденное извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попадали на фильтр. В колбу для экстрагирования прибавляют 30 мл спирта этилового 70 %. Экстракцию повторяют еще дважды в описанных выше условиях, фильтруют извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводят тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл раствора А испытуемого раствора, 5 мл алюминия хлорида раствора 5% спиртового, доводят объем раствора спиртом этиловым 70 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора и 1 мл кислоты уксусной раствора 3%, доведенный спиртом этиловым 70 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина.

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

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot a_0 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 2 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot (100 - W)} \cdot 100, \text{ где}$$

A – оптическая плотность раствор Б испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

a – навеска сырья, г;

a_0 – навеска СО рутина, г;

P – содержание основного вещества в СО рутина, %;

W – влажность сырья, %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1).

Упаковка, маркировка, и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Проректор по научной работе и инновациям
ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России,
доктор биологических наук, доцент



А.Ю. Жариков

«5» ноября 2019 г.

Профессор кафедры фармации ФГБОУ ВО
АГМУ Минздрава России, доктор
фармацевтических наук, профессор

Л.М. Федосеева

«5» ноября 2019 г.

Соискатель кафедры фармации ФГБОУ ВО
АГМУ Минздрава России

Г.Р. Кутателадзе

«5» ноября 2019 г.

Приложение №8. Пояснительная записка к проекту фармакопейной статьи



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ

**АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(ФГБОУ ВО АГМУ Минздрав России)**

пр. Ленина, 40, г. Барнаул, 656038
тел. (3852) 368848, факс (3852) 366091

E-mail: rector@agmu.ru; <http://www.asmu.ru>

ОКПО 01962853, ОГРН 1022201762164;

ИНН 2225003156, КПП 222501001

№ _____

« _____ » _____ 2019 г.

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе и
инновациям ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава
России, доктор биологических наук,
доцент



А.Ю. Жариков

2019 г.

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

к проекту фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава»

Организация - разработчик: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России

Авторы: д.фарм.н, профессор Федосеева Л.М.

аспирант кафедры фармации Кутателадзе Г.Р.

Проект фармакопейной статьи (ФС) распространяется на собранную в фазу цветения и высушенную цельную траву дикорастущего двулетнего травянистого растения щавеля кислого – *Rumex acetosa* L., сем. гречишных – *Polygonaceae* Juss.

Проект нормативного документа на данный вид лекарственного растительного сырья составляется впервые.

Проект ФС «Щавеля кислого трава» состоит из: титульного листа, спецификации, описания методов и методик контроля качества лекарственного растительного сырья; разрабатывался при изучении пяти образцов щавеля кислого травы.

Отбор проб для анализа производился согласно ОФС.1.1.0005.15 «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» с использованием ПО «Microsoft Excel», статистического пакета «Statistica 7.0».

В соответствии с требованиями ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» приведены внешние (макроскопические) и анатомо – диагностические (микроскопические) признаки сырья.

Для идентификации флавоноидов и дубильных веществ в щавеля кислого траве выбраны качественные реакции.

Значения показателей доброкачественности определены в соответствии с ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья» (влажность), ОФС.1.2.2.2.0013.15 «Зола общая» (зола общая), ОФС.1.5.3.0005.15 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» (зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте), ОФС.1.5.3.0004.15 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (органическая примесь, минеральная примесь), ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (экстрактивные вещества).

Методики количественного определения флавоноидов и дубильных веществ, приведенные в разделе «Количественное определение», валидированы согласно ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик».

Срок годности щавеля кислого травы установлен по результатам анализа 5 серий щавеля кислого травы, заложенного на хранение в 2016-м году. Сырьё хранилось в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» при температуре 20–25°C и относительной влажности не более 60±5%. Анализ проводился через каждые 6 месяцев в 2016 – 2019 гг. Данные экспериментов свидетельствуют о том, что показатели качества сырья существенно не изменились в течение 2,5 лет (срок наблюдения).

Профессор кафедры фармации ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет» Минздрава России, доктор фармацевтических наук, профессор

Соискатель кафедры фармации ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет» Минздрава России



Федосеева Л.М.



Кутателадзе Г.Р.

Приложение №9. Сопроводительное письмо к проекту фармакопейной статьи



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ

АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(ФГБОУ ВО АГМУ Минздрав России)
пр. Ленина, 40, г. Барнаул, 656038
тел. (3852) 368848, факс (3852) 366091
E-mail: rector@agmu.ru; <http://www.agmu.ru>
ОКПО 01962853, ОГРН 1022201762164;
ИНН 2225003156, КПП 222501001

№ _____

« _____ » _____ 2019 г.

Генеральному директору ФГБУ «Научный
центр экспертизы средств медицинского
применения» Минздрава России, д.м.н.,
Олефиру Ю. В.
127051, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8,
стр. 2

Глубокоуважаемый Юрий Витальевич!

Направляем Вам проект фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава», разработанный сотрудниками кафедры фармации ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, для рассмотрения вопроса о включении в Государственную Фармакопею Российской Федерации.

Приложения:

1. Проект фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава» – 1 экз;
2. Пояснительная записка к проекту фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава» – 1 экз.

Проректор по научной работе и инновациям
ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России, доктор
биологических наук, доцент



А.Ю. Жариков

исп. Федосеева Л.М. (8-963-501-62-27),
Кутателадзе Г.Р. (8-983-186-92-55)

Приложение №10. Письмо из ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минздрав России)

**федеральное
государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств
медицинского применения»
(ФГБУ «НЦЭСМП»
Минздрава России)**

Проректору по научной работе и
инновациям ФГБОУ ВО «Алтай-
ский государственный медицин-
ский университет»

А.Ю. Жарикову

Пр. Ленина, 40, г. Барнаул, 656038

127051 Москва, Петровский бульвар д. 8 стр.2.
Тел. (499) 190-18-18, (495) 625-43-48, (495) 625-43-42

13 ЯНВ 2020

№

286

На № _____ от _____



Уважаемый Александр Юрьевич!

В ответ на Ваше обращение, поступившее в ФГБУ «НЦЭСМП» Министерства здравоохранения Российской Федерации 11.11.2019 г., о возможности включения материалов исследований сотрудников кафедры фармации Алтайского ГМУ в Государственную Фармакопею Российской Федерации сообщаем следующее.

В план работ ФГБУ "НЦЭСМП" включена разработка фармакопейной статьи для Государственной фармакопеи Российской Федерации на лекарственной растительное сырьё "Щавеля кислого трава". При разработке проекта фармакопейной статьи будут использоваться материалы исследований сотрудников университета Г.Р. Кутателадзе и Л.М. Федосеевой, полученные ФГБУ "НЦЭСМП". В то же время, подготовка данной фармакопейной статьи будет проводиться с учётом требований общих статей ГФ XIV издания и международного опыта.

С уважением,

заместитель генерального директора

по экспертизе лекарственных средств

В.А. Меркулов

Исполнитель: Гаврилин М.В.
8(495) 625-43-48 доб. 63-66



Барнаул – 2019 г.

Щавель кислый (*Rumex acetosa* L.) - двулетнее травянистое двудомное растение семейства гречишные (*Polygonaceae* Juss.). Имеет прямостоячий бороздчатый ветвистый стебель высотой 30 - 100 см и короткий мочковатый корень. В нижней части стебель растения имеет красноватый оттенок.

В первый год жизни не образует генеративных побегов, формирует мощную розетку листьев. Во второй год жизни весной происходит регенерация прикорневой розетки листьев из почек возобновления, расположенных на корневой шейке развиваются 2-4 генеративных побега.

Листья простые, цельнокрайние, яйцевидно - продолговатые со стреловидным или копьевидным основанием, на верхушке тупо заостренные или заостренные, с ярко выраженной центральной жилкой. Листовая пластинка может достигать длины 15 - 20 см. Прикорневые листья длинночерешковые, собраны в розетку, стеблевые - очерёдные, нижние стеблевые - длинночерешковые, далее по стеблю короткочерешковые или почти сидячие. У основания черешков стеблевых листьев прилистники срастаются в красноватый бахромчато – надрезанный пленчатый раструб, охватывающий стебель.

Растение двудомное, цветки однополые, мелкие, розоватые, красноватые или желтоватые, собраны в негустые кисти, образующие узкую метелку. Околоцветник состоит из 6 лепестков, расположенных в два круга. У тычиночных цветков доли околоцветника продолговато – овальные, наружные немного мельче внутренних, андроцей состоит из 6 тычинок; у пестичных цветков наружные доли отогнуты вниз и прижаты к цветоножке, внутренние – прямостоячие, разрастающиеся при плодах (наружные доли отсыхают), гинецей псевдомонокарпный, состоит из пестика с тремя короткими нитевидными столбиками и кистевидными рыльцами.

Плод - блестящий трехгранный темно-коричневый орешек, заключенный в разросшиеся доли околоцветника. Цветет растение с конца мая

по середину августа, плодоносит с конца июля по сентябрь. Размножается семенами.

В Российской Федерации щавель кислый произрастает в Европейской части, включая Арктику, на Кавказе, в Центральной, Западной и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке. Щавель кислый растет на кислых и нейтральных умеренно влажных и влажных почвах; выносит близкое залегание грунтовых вод, но отрицательно реагирует на длительное затопление. Обычно встречается на сырых и суходольных лугах, опушках леса, полянах, берегах водоемов, травянистых склонах, галечниках, у дорог.

В качестве сырья используют траву. Сырье заготавливают в период массового цветения растения (с начала июня по конец июля), срезая ножами, серпами или секаторами облиственные цветущие верхушки стеблей длиной до 70 см. Нельзя выдергивать все растение с подземными частями, так как это приводит к гибели зарослей. При правильном сборе на одном и той же заросли можно проводить заготовки 2 года подряд.

Собранную траву щавеля кислого складывают без уплотнения в корзины или мешки и доставляют на место сушки.

Сушат сырье щавеля кислого в хорошо проветриваемых помещениях или в тени под навесами. Для сушки сырье раскладывают тонким слоем (толщиной 3-5 см) на бумаге или ткани. В хорошую погоду сырье, если его 1-2 раза переворачивать ежедневно, высыхает за 3-4 дня. Сушку прекращают, если стебли при сгибании ломаются. Выход сухого сырья составляет 35-40% от массы свежесобранного.

Внешний вид сырья. Щавеля кислого трава представляет собой верхние части стеблей до 70 см с листьями и соцветиями. Стебли бороздчатые, неветвистые, толщиной от 0,2 до 0,5 см. Листья очередные, простые, черешковые или сидячие, размером от 7 до 20 см, листовые пластинки продолговато-яйцевидные, при основании стреловидные или копьевидные с

копьевидные с острыми лопастями, направленными вниз, край листа цельный, на обратной стороне листа ярко выраженная центральная жилка, жилкование перистое. Черешок до 20 см длиной, бороздчатый. Находящиеся у основания черешковых листьев раструбы – пленчатые, красноватые, бахромчато – надрезанные. Соцветия верхушечные - кисти, образующие метёлку. Цветки актиноморфные, мелкие, с простым чашечковидным околоцветником, который состоит из 6 лепестков, расположенных в два круга по 3.

Цвет стеблей и листьев зеленый, иногда с розовым или бурым оттенком; цветков – розовые или желтые, реже зеленоватые. Запах слабый, своеобразный. Вкус водного извлечения кисловатый, вязущий.

Числовые показатели: влажность – не более 10%; экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70% - не менее 45%; зола общая – не более 14%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; органическая примесь – не более 2%; минеральная примесь - не более 1%; сырье, изменившее окраску - не более 1%; сумма флавоноидов (в пересчете на рутин) – не менее 0,5%; дубильные вещества (в пересчете на галловую кислоту) – не менее 3%.

Не допускается наличие в сырье ядовитых растений и их частей, помета грызунов и птиц, плесени и гнили, а так же устойчивого постороннего запаха, не исчезающего при проветривании.

Упаковка. Готовое сырьё упаковывают, маркируют и транспортируют в тюки из ткани не более 50 кг нетто или в мешки тканевые или льно-джутокенафные не более 20 кг нетто, в соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Срок годности. 2,5 года.

Траву щавеля кислого используют как противовоспалительное средство. Для производства сухого и жидкого экстрактов.

Литература:

1. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания [Электронный ресурс]: в 4-х т. Т.1. URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html
2. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания [Электронный ресурс]: в 4-х т. Т.2. URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания [Электронный ресурс]: в 4-х т. Т.4. URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html

Инструкцию составили:

Профессор кафедры фармации ФГБОУ
ВО АГМУ Минздрава России, доктор
фармацевтических наук, профессор

Л.М. Федосеева

« 5 » ноября 2019 г.

Соискатель кафедры фармации
ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России

Г.Р. Кутателадзе

« 05 » ноября 2019 г.

Приложение №12. Свидетельство о государственной регистрации базы данных

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2019620115

«Количественное содержание разных групп биологически активных соединений щавеля кислого травы, заготовленной на территории Алтайского края в 2016 - 2018 гг.»

Правообладатель: **Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)**

Авторы: **Кутателадзе Георгий Родионович (RU),
Федосеева Людмила Михайловна (RU)**

Заявка № **2018622010**

Дата поступления **29 декабря 2018 г.**

Дата государственной регистрации
в Реестре баз данных **18 января 2019 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 **Г.П. Ивлиев**



Приложение №13. Акты внедрения и апробации



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ

АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(ФГБОУ ВО АГМУ Минздрав России)
пр. Ленина, 40, г.Барнаул, 656038
Тел.(3852)368848, факс (3852) 366091
E-mail: rector@agmu.ru; <http://www.asmu.ru>
ОКПО 01962853, ОГРН 1022201762164;
ИНН 2225003156, КПП 222501001

№ _____

« _____ » _____ 2019 г.

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Алтайский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации, профессор
Н.Н. Бородина



2019 г.

АКТ

внедрения результатов научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся: председатель методической комиссии по специальности «Фармация» Воробьева В.М. и и.о. заведующего кафедрой фармации Дворникова Л.Г., удостоверяем, что в ходе выполнения диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия разработаны методики макроскопического, микроскопического и фитохимического анализа щавеля кислого травы.

- 1. Наименование предложения:** методики макроскопического, микроскопического и фитохимического анализа щавеля кислого травы.
- 2. Авторы предложения:** доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России Федосеева Л.М., аспирант кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России Кутателадзе Г.Р.

3. **Где внедрено:** используется в учебном процессе ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России с 1 января 2019 г.
4. **Эффективность внедрения:** позволяет обучающимся освоить материал учебной программы и углубить знания по темам «Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие дубильные вещества» и «Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие флавоноиды».
5. **Замечания и предложения:** признано целесообразным использовать методики в процессе выполнения научно-исследовательской работы студентов фармацевтического факультета.
6. **Ответственный за внедрение:** и.о. заведующего кафедрой фармации Дворникова Л.Г.

Председатель методической комиссии
по специальности «Фармация»,
к.фарм.н., доцент



Воробьева В.М.

И.о. заведующего кафедрой фармации,
к.фарм.н.



Дворникова Л.Г.

2019 г.

внедрения результатов научно-исследовательской работы
в учебный процесс кафедры фармации
НГИУВ-филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

Эффективность внедрения: позволяет обучающимся освоить материал учебной программы и углубить знания по темам «Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащее дубильные вещества», «Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащее флавоноиды» в рамках раздела «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» цикла повышения квалификации «Фармация».

мислота (с. 1)
мислота Румк. 10

УТВЕРЖДАЮ



Директор по производству и технологиям

ЗАО «Эвалар»

Важенин В.А.

« 02 » 04 2019 г.

АКТ

внедрения результатов научно-исследовательской работы

Я, нижеподписавшийся: Мельников Олег Михайлович, начальник отдела контроля качества ЗАО «Эвалар», удостоверяю, что в ходе выполнения диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук разработан проект НД.

1. **Наименование предложения:** проект НД «Щавеля кислого трава».
2. **Авторы предложения:** доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России Федосеева Л.М., аспирант кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России Кутателадзе Г.Р.
3. **Где внедрено:** используется на фармацевтическом предприятии ЗАО «Эвалар» для входного контроля растительного сырья, в рамках разработки лекарственного препарата.
4. **Эффективность внедрения:** расширение номенклатуры лекарственных препаратов и использование дополнительных источников лекарственного растительного сырья, содержащих комплекс биологически активных соединений.

Ответственный за внедрение:

Начальник ОКК

Мельников О.М.

**Акционерное общество «Органика»**

654034, Россия, Кемеровская область, г. Новокузнецк, шоссе Кузнецкое, 3

ИНН 4221000630, ОГРН 1024201820466

телефон: (3843)994222 - приемная, факс (3843) 994200, www.organica-nk.ru, e-mail: root@organica.su

Лицензия на осуществление фармацевтической деятельности № 00175-ЛС от 17.02.2016 г.

Исх. № _____ от « _____ » _____ 2019 г.

28.02.2019**Акт апробации**

Предмет апробации: «Методика спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в щавеля кислого траве».

Кем предложено, адрес: Федосеевой Л.М., доктором фармацевтических наук, профессором кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России; Кутателадзе Г.Р., аспирантом кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 656038, Алтайский край, г. Барнаул, проспект Ленина, д.40.

Цель апробации; воспроизведение предлагаемой методики в условиях лаборатории с целью включения в проект нормативного документа на щавеля кислого траву.

Результат апробации: апробация предлагаемой методики определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин методом дифференциальной спектрофотометрии, в основу которого положена реакция комплексообразования флавоноидов с алюминия хлорида раствором спиртовым 5% в щавеля кислого траве показала, что методика воспроизводима и может быть использована для контроля качества указанного объекта.

Закключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества лекарственного растительного сырья «Щавеля кислого трава». Методика может быть рекомендована для включения в проект нормативного документа.

Начальник ЦБ

Технический директор



Сорокин И.А.

Гусс Ф.В.

**Акционерное общество «Органика»**

654034, Россия, Кемеровская область, г. Новокузнецк, шоссе Кузнецкое, 3
ИНН 4221000630, ОГРН 1024201820466

телефон: (3843)994222 - приемная, факс (3843) 994200, www.organica-nk.ru, e-mail: root@organica.su
Лицензия на осуществление фармацевтической деятельности № 00175-ЛС от 17.02.2016 г.

Исх. № _____ от « ____ » _____ 2019 г

28.02.2019

Акт апробации

Предмет апробации: «Методика спектрофотометрического определения суммы дубильных веществ в пересчёте на галловую кислоту в щавеля кислого траве».

Кем предложено, адрес: Федосеевой Л.М., доктором фармацевтических наук, профессором кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России; Кутателадзе Г.Р., аспирантом кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 656038, Алтайский край, г. Барнаул, проспект Ленина, д.40.

Цель апробации; воспроизведение предлагаемой методики в условиях лаборатории с целью включения в проект нормативного документа на щавеля кислого траву.

Результат апробации: апробация предлагаемой методики определения суммы дубильных веществ в пересчёте на галловую кислоту методом спектрофотометрии, в основу которого положена реакция комплексообразования дубильных веществ с железом - тартратным реактивом, в щавеля кислого траве показала, что методика воспроизводима и может быть использована для контроля качества указанного объекта.

Заключение: представленные материалы имеют практическую значимость для контроля качества лекарственного растительного сырья «Щавеля кислого трава». Методика может быть рекомендована для включения в проект нормативного документа.

Начальник ЦЗД.с.к.м.

Технический директор



Сорокин И.А.

Гусс Ф.В.