

На правах рукописи

КУТАТЕЛАДЗЕ ГЕОРГИЙ РОДИОНОВИЧ

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

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь - 2020

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Федосеева Людмила Михайловна - доктор фармацевтических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Попова Ольга Ивановна – доктор фармацевтических наук, профессор, Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, профессор кафедры;

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

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск

Защита диссертации состоится «__» _____ 2020 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, д.2, тел. (342) 233-55-10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, д. 46) и на сайте (<http://www.pfa.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного
совета, кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 [Орловская, 2011].

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.

В народной медицине щавель кислый применяют как кровоостанавливающее, желчегонное, противоаллергическое, противовоспалительное, антибактериальное и витаминное средство [Vasas, 2015; Jerezano, 2016; Schmuck, 2015]. Листья и молодые стебли, собранные до цветения, используют в качестве пищевого продукта [Ceccanti, 2018].

Экстракт щавеля кислого входит в состав комплексного растительного препарата «Синупрет» (Bionogica, Германия) для лечения заболеваний придаточных пазух носа, как компонент, отвечающий за секретолитическое, противоотечное и антибактериальное действие. Обнаружены антипролиферативная, противоопухолевая, гастропротективная, антиоксидантная, противовирусная и антимикробная активности [Bae, 2012; Gescher, 2009, 2011; Derksen, 2014; Porteka, 2016; Lajter, 2013; Orban-Gyaraia, 2017].

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 (Z. Kucekova, 2011; J.-Y. Bae, 2012; K. Gescher, 2011; A. Derksen, 2014; O. Orban-Gyaraia, 2017).

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

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».

Методология 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 К₁).

Разработаны и валидированы методики количественного определения флавоноидов и дубильных веществ в щавеля кислого траве методом спектрофотометрии (акты апробации методик АО «Органика» от 28.02.2019 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.

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». 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 ФС «Щавеля кислого трава» в план разработки проектов ФС.

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 05.04.2019 г.), кафедры фармации НГИУВ – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (акт внедрения от 08.04.2019 г.); на фармацевтическом предприятии ЗАО «Эвалар» (акт внедрения от 02.04.2019 г.)

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 15.11.2016 г.).

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты фитохимического, фармакогностического исследования щавеля кислого травы;
- результаты определения острой токсичности и специфической активности настоя травы щавеля кислого.

Степень достоверности и апробация 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.

Личный вклад автора. 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.

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 травы.

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 травы щавеля кислого.

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

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

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектом исследования послужило воздушно-сухое сырье - щавеля кислого трава, заготовленная в фазы бутонизации, цветения и плодоношения. Заготовку проводили в период с 2016 по 2018 гг. в пяти районах Алтайского края (Калманском, Первомайском, Курьинском, Змеиногорском, Топчихинском) и окрестностях г. Барнаула.

Макроскопический анализ сырья проводили по методикам, описанным в общей фармакопейной статье ОФС.1.5.1.0002.15 ГФ РФ.

Микроскопический анализ проводили 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 РФ. 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.

Для идентификации БАС применяли качественные реакции и физико-химические методы: ТСХ (хроматографические пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-В»), ВЭЖХ («МилиХром А-02» с УФ-детектором).

Количественное определение БАС проводили химическими и спектрофотометрическими («Schimadzu UV-mini 1240», Япония) методами. Количественное содержание органических кислот определяли алкалометрически, содержание аскорбиновой кислоты – титрованием 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия; полисахаридов и суммы липофильных веществ – гравиметрически; фенольных соединений (флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества, катехины, антрацепроизводные, кумарины), аминокислот, каротиноидов и витамина К₁ – спектрофотометрически.

Для исследований применяли стандартные образцы (СО) ЗАО «Вектон», ООО «Фитопанацея», «Sigma-Aldrich»: рутин, гиперозид, ориентин, кверцетин, изорамнетин, апигенин, кверцетрин, кемпферол, эпигаллокатехингаллат, кофейная кислота, п-кумаровая кислота, феруловая кислота, ресвератрол, галловая кислота, танин, эллаговая кислота, фисцион, реин, хризофаноловая кислота, 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, щавелевая кислота, яблочная кислота, янтарная кислота, винная кислота, лимонная кислота, аскорбиновая кислота, β – каротин, α – токоферола, витамин К₁ (филлохинон) и др.

Эксперименты на животных выполняли в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (г. Страсбург, 1986 г.) и Приказом Минздрава России от 01.04.2016 №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Изучение острой токсичности щавеля кислого травы проводили на белых мышах обоего пола, массой около 20 г. Настой 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 ч, 24 ч, 48 ч в сравнении с животными контрольной группы.

Противовоспалительную активность исследовали на моделях острого и хронического воспаления согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2012 г.). Для каждого исследования использовали 30 крыс линии Wistar обоего пола массой тела 200-250 г, которые были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой.

Противовоспалительную активность при остром экссудативном воспалении исследовали на модели острого воспаления «карагенинового отека».

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.

Острое экссудативное воспаление индуцировали субплантарным введением 0,1 мл раствора карагенина 1%. 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 замеряли объем конечностей животных контрольной группы

Противовоспалительную активность оценивали по наличию антиэкссудативного эффекта – способности снижать степень отека конечности, индуцированного флогистиком, выраженный в процентах по отношению к контролю.

Активность настоя при хроническом пролиферативном воспалении изучали на модели воспалительной «хлопчатобумажной гранулемы». Наркотизированным животным в асептических условиях имплантировали стерильные хлопчатобумажные шарики. Животным

опытной группы в течении 14 дней внутрижелудочно зондом вводили настой травы щавеля кислого в дозе 100 мг/кг, группы сравнения – ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг/кг. Животные контрольной группы получали эквивалентное настою количество воды очищенной.

Массу грануляционно–фиброзной ткани определяли по разнице между массами гранулемы и марлевого имплантата.

Антиоксидантную активность настоя оценивали скрининговым методом *in vitro* по способности БАС ингибировать супероксидрадикал в реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде. Для сравнения использовали настой травы горца птичьего.

Статистическую обработку результатов эксперимента осуществляли согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» и ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами» Государственной фармакопеи (ГФ) с использованием ПО «Microsoft Excel», статистического пакета «Statistica 7.0».

Фитохимическое исследование щавеля кислого травы

В результате проведенных качественных реакций установили наличие в сырье флавоноидов, гидролизуемых и конденсированных дубильных веществ, антраценпроизводных производных 1,8-диоксиантрохинона, кумаринов, аминокислот, органических кислот и аскорбиновой кислоты, углеводов, тритерпеновых сапонинов и липофильных соединений.

Дальнейшую идентификацию БАС осуществляли физико – химическими методами: тонкослойной хроматографией (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографией в сочетании со спектрофотометрией (ВЭЖХ-УФ).

В ходе анализа методом ТСХ для каждой группы БАС экспериментально подобрали оптимальные хроматографические системы. По совпадению значений R_f и характеру интенсивности окраски по сравнению с аналогичными показателями СО в исследуемом виде сырья идентифицировали: в системе этилацетат – кислота уксусная концентрированная – вода очищенная (7:1:2) - *флавоноиды (кверцетин и его гликозиды – рутин и гиперозид)*; в системе БУВ (10:3:7) - *дубильные вещества (галловую кислоту, эллаговую кислоту, эпигаллокатехин галлат)*; в системе бензол - ацетон - вода очищенная (4:1:2) - *антраценпроизводные (фисцион и реин)*; в системе БУВ (12:3:5) - *аминокислоты (глутамин, аспарагиновую кислоту, α - аланин, аспарагин, валин и β – аланин)*; в системе спирт этиловый 95% - раствор аммиака 25% (16:4,5) - *органические кислоты (щавелевую, яблочную и лимонную)*; в системе этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20) - *аскорбиновую кислоту*; в системе спирт н-бутиловый – ацетон – вода очищенная (4:5:1) - *моносахариды (глюкозу, ксилозу и галактозу)*; в системе гексан – хлороформ (3:1) - *β – каротин, α – токоферол*; в системе бензол – петролейный эфир (1:1) - *витамин K_1* .

Далее методом ВЭЖХ исследовали фенольные соединения. 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. Полученные извлечения исследовали на хроматографе «МилиХром А-02» с УФ-детектором («ЭкоНова», Новосибирск, Россия).

Условия хроматографирования: хроматографическая колонка ProntoSIL 120-5C18AQ, 2,0×75мм. 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».

Соединения идентифицировали по временам удерживания (τ , мин) и спектральным характеристикам (λ_{\max}) путём сравнения с аналогичными показателями СО и литературными данными.

В спиртовом извлечении травы щавеля кислого идентифицированы: 1 - фисцион (τ - 9,3 мин; λ_{\max} = 220, 288, 330 нм), 2 - эмодин (τ - 10,2 мин; λ_{\max} = 222, 290, 325), 3 – реин (τ - 11,2 мин; λ_{\max} = 225, 310), 4 - кемпферол-7-О-рамнозид (τ - 13,6 мин; λ_{\max} = 205, 255, 355), 5 - гиперозид (τ - 14,7 мин; λ_{\max} = 202, 255, 340), 6 - рутин (τ - 15,3 мин; λ_{\max} - 204, 255, 355), 7 - кемпферол-3-О-рамнозид (τ - 15,6 мин; λ_{\max} = 200, 252, 355), 8 – кверцетрин (τ - 16,4 мин; λ_{\max} = 208, 259, 355) (рисунок 1, 2).

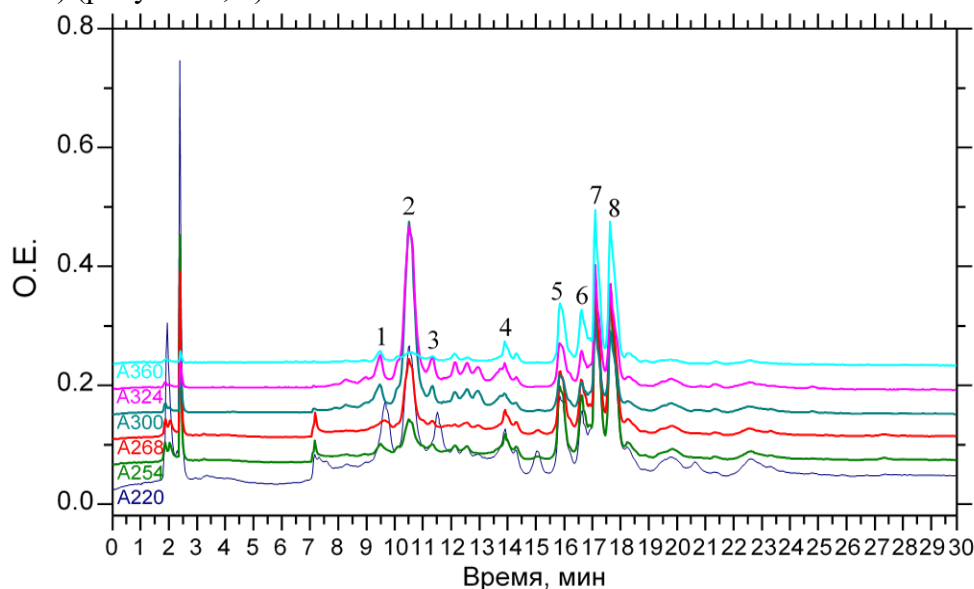


Рисунок 1 – Хроматограмма спиртового извлечения травы щавеля кислого

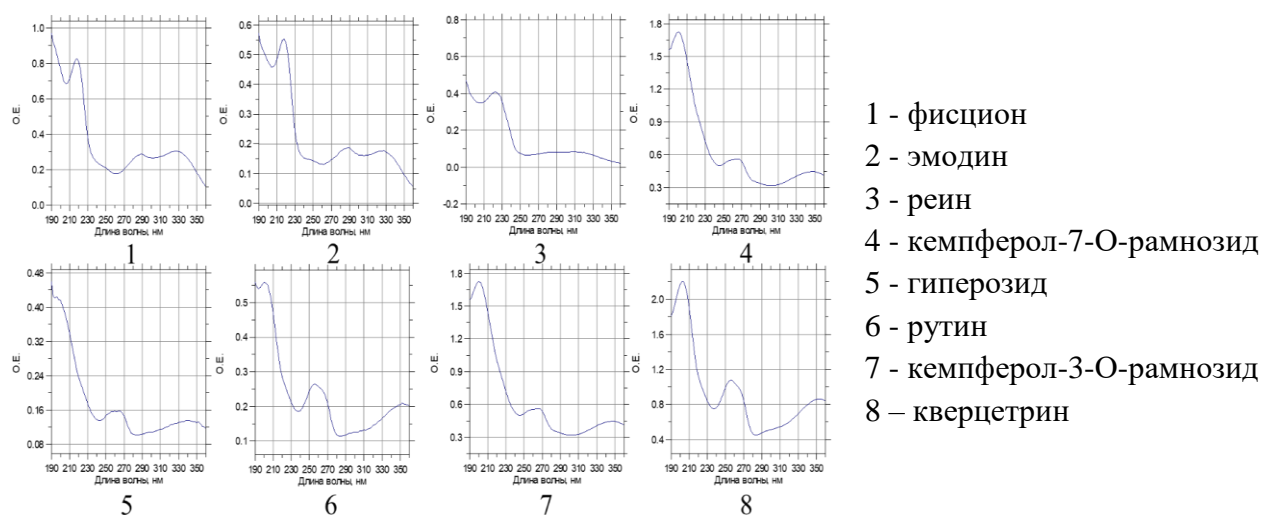


Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений спиртового извлечения травы щавеля кислого

Для дальнейшей идентификации фенольные соединения разделяли на фракции путем последовательной обработки спиртового извлечения щавеля кислого травы эфиром диэтиловым, этилацетатом, спиртом *n*-бутиловым. Для изучения гликозидов фенольных соединений осуществляли кислотный гидролиз спиртового извлечения смесью спирт этиловый 95% - вода очищенная - хлористоводородная кислота концентрированная (25:20:5) (рисунок 3).



Рисунок 3 – Схема разделения на фракции и гидролиза фенольных соединений щавеля кислого травы

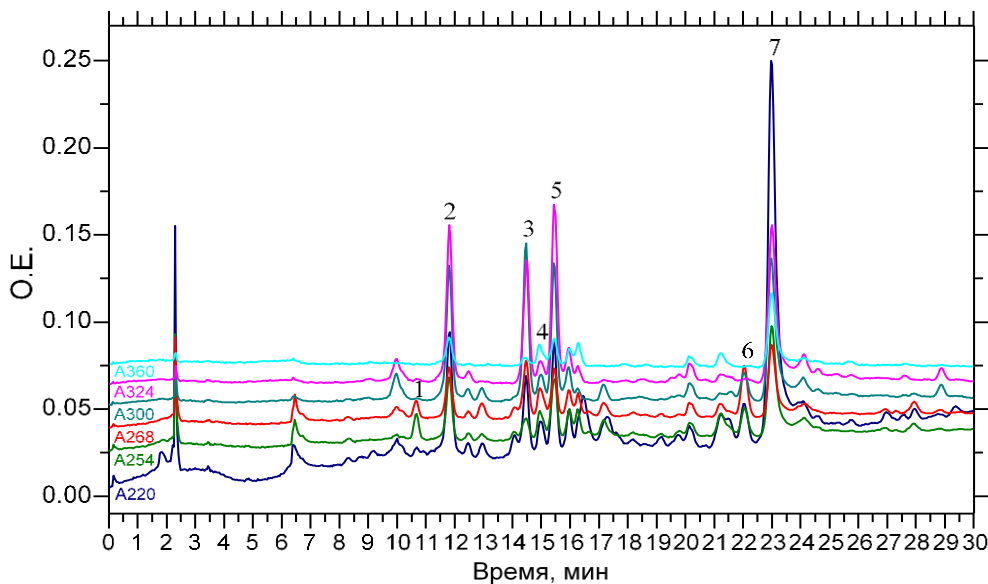


Рисунок 4 – Хроматограмма эфирной фракции спиртового извлечения травы щавеля кислого

Соединения эфирной фракции: 1 – производное катехина (τ - 10,6 мин; λ_{\max} = 260 нм), 2 – кофейная кислота (τ - 11,8 мин; λ_{\max} = 215, 290, 320 нм), 3 – производное катехина (τ - 13,0 мин; λ_{\max} = 260 нм), 4 – производное *p*-кумаровой кислоты (τ - 14,5 мин; λ_{\max} = 230, 310 нм), 5 – пирокатехин (τ - 15,0 мин; λ_{\max} = 280 нм), 6 – производное катехина (τ - 21,9 мин; λ_{\max} = 220, 280 нм), 7 – эллаготанин (τ - 23 мин; λ_{\max} = 220, 310 нм) (рисунок 4).

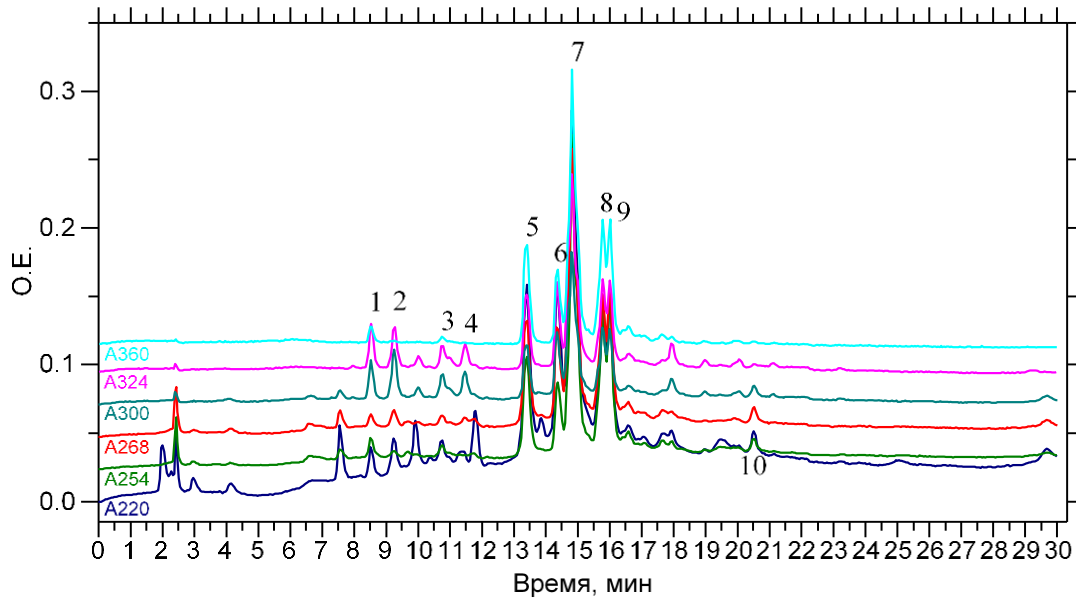


Рисунок 5 – Хроматограмма этилацетатной фракции спиртового извлечения травы щавеля кислого

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

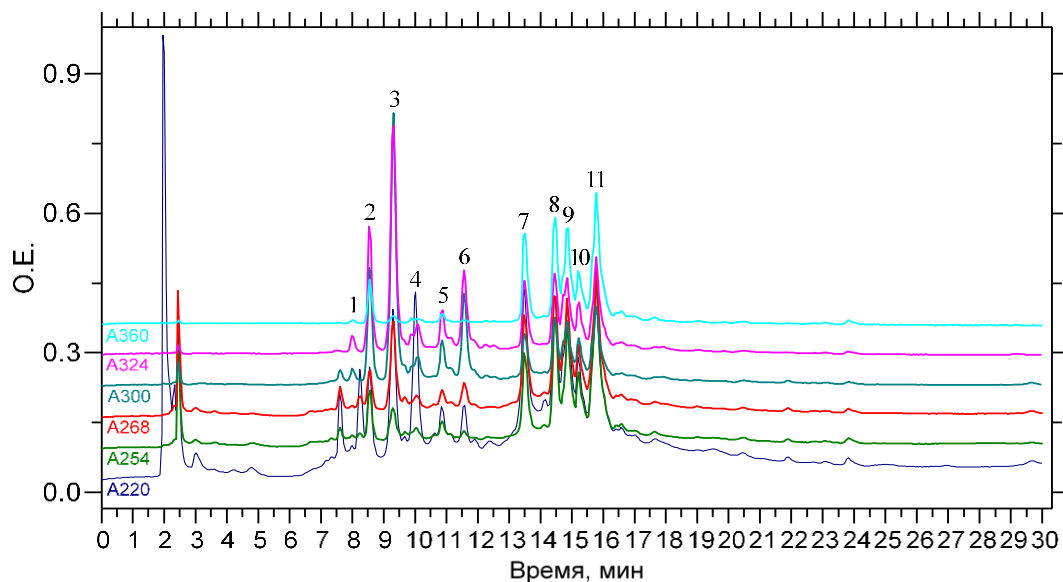


Рисунок 6 – Хроматограмма бутанольной фракции спиртового извлечения травы щавеля кислого

Соединения бутанольной фракции: 1, 2 – производные хризацина (τ - 8,1 мин; λ_{max} = 215, 275 нм; τ - 8,5 мин; λ_{max} = 220, 279 нм), 3 – ресвератрол (τ - 9,3 мин;

$\lambda_{\max} = 219, 320$ нм), 4 – производное п-кумаровой кислоты ($\tau - 10,1$ мин; $\lambda_{\max} = 210, 229, 310$ нм), 5 – производное хризанина ($\tau - 10,9$ мин; $\lambda_{\max} = 220, 285, 319$ нм), 6, 7 – производные п-кумаровой кислоты ($\tau - 11,5$ мин; $\lambda_{\max} = 310$ нм; $\tau - 13,6$ мин; $\lambda_{\max} = 229, 310$ нм), 8, 9 – производные кемпферола ($\tau - 14,5$ мин; $\lambda_{\max} = 268, 349$ нм; $\tau - 15,1$ мин; $\lambda_{\max} = 268, 349$ нм), 10 – рутин ($\tau - 15,4$ мин; $\lambda_{\max} = 204, 255, 355$ нм), 11 – производное кверцетина ($\tau - 15,8$ мин; $\lambda_{\max} = 205, 256, 353$ нм) (рисунок 6).

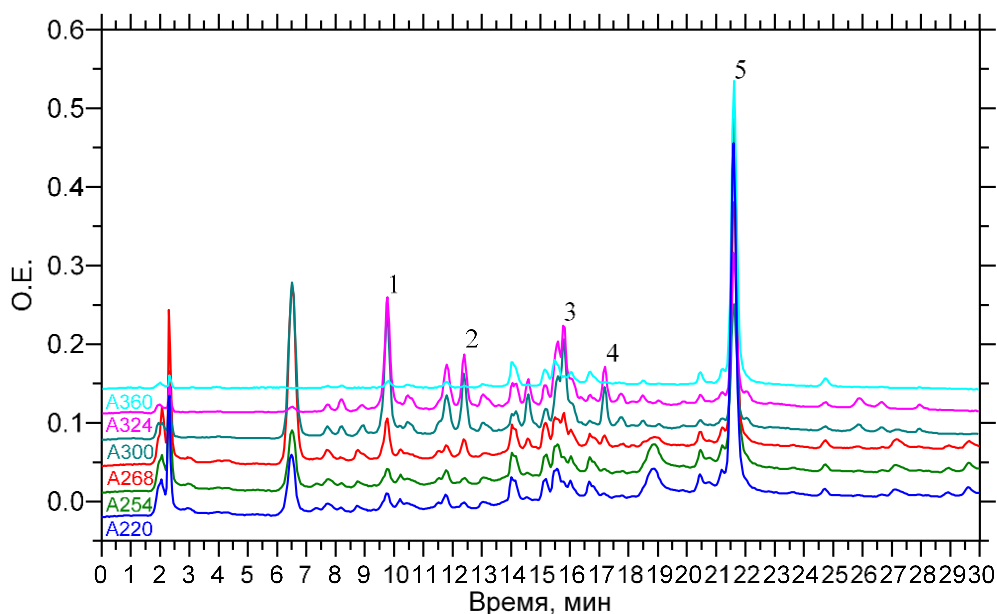


Рисунок 7 – Хроматограмма гидролизата спиртового извлечения щавеля кислого травы

В ходе кислотного гидролиза выделены: 1 – производное п-кумаровой кислоты ($\tau - 9,8$ мин; $\lambda_{\max} = 210, 230, 310$ нм), 2 – п-кумаровая кислота ($\tau - 12,4$ мин; $\lambda_{\max} = 200, 220$ нм, 310 нм), 3 – производное п-кумаровой кислоты ($\tau - 15,7$ мин; $\lambda_{\max} = 200, 225$ нм, 310 нм), 4 – галловая кислота ($\tau - 17,0$ мин; $\lambda_{\max} = 215, 270$ нм), 5 – кверцетин ($\tau - 21,6$ мин; $\lambda_{\max} = 202, 255$ нм), 6 – кемпферол ($\tau - 24,7$ мин; $\lambda_{\max} = 204, 266$ нм) (рисунок 7).

Методом ВЭЖХ исследовали состав органических кислот. Получали водные извлечения из щавеля кислого травы в соотношении 1:10 при нагревании на водяной бане в течение 15 мин. Полученные извлечения исследовали на хроматографе «МилиХром А-02» с УФ-детектором («ЭкоНова», Новосибирск, Россия).

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».

Идентификацию органических кислот проводили по временам удерживания (τ , мин) по сравнению с временами удерживания СО органических кислот.

В ходе исследования на хроматограмме появилось 5 пиков: пик 1 – щавелевая кислота ($\tau - 2,2$ мин), пик 2 – винная кислота ($\tau - 2,6$ мин), пик 3 – аскорбиновая кислота ($\tau - 3,2$ мин), пик 4 – лимонная кислота ($\tau - 3,8$ мин), пик 5 – янтарная кислота ($\tau - 5,7$ мин).

Далее проводили количественное определение БАС в щавеля кислого траве химическими и спектрофотометрическими методами (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты определения количественного содержания групп БАС в щавеля кислого траве, заготовленной в 2016 – 2018 гг. (n = 5; P = 95%; t_p = 2,78)

| Группа БАС | Метод количественного определения | Год заготовки | | |
|---|-----------------------------------|---------------|------------|------------|
| | | 2016 | 2017 | 2018 |
| Флавоноиды (в пересчете на рутин), % | Дифф.СФМ | 0,63±0,02 | 0,63±0,01 | 0,59±0,02 |
| Фенолокислоты (в пересчете на феруловую кислоту), % | СФМ | 0,45±0,01 | 0,40±0,01 | 0,61±0,01 |
| Дубильные вещества (в пересчете на галловую кислоту), % | СФМ | 3,84±0,10 | 5,61±0,09 | 4,78±0,09 |
| Катехины (в пересчете на эпигаллокатехин галлат), % | СФМ | 1,02±0,03 | 2,12±0,07 | 1,56±0,04 |
| Антраценпроизводные (в пересчете на эмодин), % | СФМ | 0,31±0,004 | 0,45±0,01 | 0,49±0,01 |
| Кумарины (в пересчете на кумарин), % | СФМ | 0,48±0,01 | 0,37±0,01 | 0,46±0,01 |
| Аминокислоты (в пересчете на глутамин), % | СФМ | 7,56±0,01 | 8,16±0,01 | 7,83±0,01 |
| Органические кислоты (в пересчете на щавелевую кислоту), % | Алкалиметрия | 1,06±0,01 | 2,13±0,02 | 0,93±0,02 |
| Аскорбиновая кислота, % | Титрование 2,6-ДХФИФН | 4,70±0,11 | 3,91±0,01 | 4,15±0,01 |
| Полисахариды, % | Гравиметрия | 1,34±0,02 | 1,41±0,02 | 1,27±0,02 |
| Сумма липофильных веществ, % | Гравиметрия | 4,68±0,26 | 5,25±0,34 | 4,43±0,52 |
| Хлорофиллы, мг% | СФМ | 6,79±0,02 | 8,98±0,03 | 5,94±0,02 |
| Каротиноиды (в пересчете на β-каротин), мг% | СФМ | 3,18±0,02 | 6,38±0,03 | 4,46±0,02 |
| Витамин К ₁ , мг% | СФМ | 27,45±0,16 | 30,25±0,21 | 26,67±0,12 |

Количественное содержание флавоноидов определяли методом дифференциальной СФМ. Разрабатывали методику, изучали влияние условий экстракции, подбирали оптимальные условия для проведения реакции комплексообразования.

Установлено, что наиболее полное извлечение флавоноидов из щавеля кислого травы достигается при трехкратной экстракции спиртом этиловым 70% на водяной бане при соотношении «сырье - экстрагент» - 1:30 в течении 30 мин со степенью измельчения сырья не более 2,0 мм.

Оптимальные условия для реакции комплексообразования: соотношение «аликвота извлечения : алюминия хлорида раствор спиртовой 5%» - 1:2,5, появление устойчивой окраски раствора через 40 мин.

Для количественного определения дубильных веществ использовали метод СФМ окрашенных продуктов реакции с железо-тартратным реактивом. Методику модифицировали: подбирали оптимальные условия экстракции дубильных веществ из сырья, параметры факторов, влияющих на комплексообразование дубильных веществ с железо-тартратным реактивом.

В результате установлено, 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 мин со степенью измельчения сырья не более 2,0 мм.

Оптимальные условия комплексообразования: соотношение «аликвота : железо – тартратный реактив» - 1:2, появление устойчивой окраски раствора через 20 мин.

Методики количественного определения флавоноидов и дубильных веществ в щавеля кислого траве специфичны, линейны, величины показателей прецизионности и правильности не превышают рекомендуемых значений валидности методики.

Результаты количественного определения БАС представлены в таблице 1.

Сумма флавоноидов в пересчете на рутин в щавеля кислого траве составила от 0,59 до 0,63%.

Методом спектрофотометрии установили, что щавеля кислого трава содержит от 3,84 до 5,61% дубильных веществ в пересчёте на галловую кислоту.

Количественное определение суммы фенолокислот, катехинов, антраценпроизводных, кумаринов, аминокислот щавеля кислого травы проводили методом спектрофотометрии. Сумма фенолокислот в пересчете на феруловую кислоту – от 0,40 до 0,61%, сумма катехинов в пересчете на эпигаллокатехин галлат – от 1,02 до 2,12%, сумма антраценпроизводных в пересчете на эмодин - от 0,31 до 0,49%, сумма кумаринов в пересчете на кумарин – от 0,37 до 0,48%, сумма аминокислот в пересчете на глутамин – от 7,56 до 8,16%.

Для определения количественного содержания органических кислот использовали метод алкалометрии, аскорбиновой кислоты – титрование 2,6 – ДХФИФН. Сумма органических кислот в пересчете на щавелевую кислоту в щавеля кислого траве – от 0,93 до 2,13%; аскорбиновой кислоты - от 3,91 до 4,70%.

Количественное содержание полисахаридов, установленное методом гравиметрии 1,27 – 1,41%

Количественное определение суммы липофильных веществ осуществляли методом гравиметрии. Содержание хлорофиллов, каротиноидов и витамина К₁ устанавливали методом СФМ. Сумма липофильных веществ 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 К₁ - от 26,67 до 30,25 мг%.

Изучение острой токсичности и специфической активности настоя травы щавеля кислого

Доказана практическая безвредность настоя травы щавеля кислого. Введение настоя в дозах от 1000 мг/кг до 2500 мг/кг не вызывало гибели лабораторных животных. Дальнейшее увеличение дозы нецелесообразно, поскольку в дозе 2500 мг/кг токсичность отсутствует.

В ходе изучения специфической активности настоя травы щавеля кислого установлено наличие противовоспалительной активности при остром и хроническом воспалении. Курсовое введение настоя в дозе 100 мг/кг животным опытной группы

ослабляло формирование отёка при остром воспалении. Антиэкссудативный эффект через 60 мин после инъекирования флогистика составил 32,7%, что в 2,8 раз больше антиэкссудативного эффекта, показанного ацетилсалициловой кислотой.

В эксперименте по изучению активности при хроническом воспалении величина гранулематозной ткани меньше по сравнению с контрольной группой в 1,7 раза, что свидетельствует об угнетении пролиферации на 56,7%. Ацетилсалициловая кислота оказала противовоспалительную активность равную 78%, что в 1,4 раза больше активности, проявленной настоем травы щавеля кислого.

Результаты скринингового исследования методом *in vitro* показали наличие антиоксидантной активности настоя травы щавеля кислого, в 1,4 раза превышающей активность настоя травы горца птичьего.

Стандартизация щавеля кислого травы

Для разработки проекта НД «Щавеля кислого трава» устанавливали показатели подлинности и доброкачественности сырья.

Морфологические (макроскопические) признаки щавеля кислого травы. 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.

Анатомо – диагностические (микроскопические) признаки щавеля кислого травы.

Лист. Клетки верхней и нижней эпидермы листовой пластинки извилистостенные, имеются устьица анизоцитного типа и железки с многоклеточной головкой, и многочисленные друзы оксалата кальция. По жилке на нижней стороне листа простые одноклеточные сосочковидные волоски (рисунок 8).

Стебель. Стебель вторичного пучкового типа строения. Имеется эндодерма, представленная крахмалоносным влагалищем. Сердцевина состоит из паренхимы с друзами оксалата кальция (рисунок 9).

Цветки. Клетки эпидермы чашелистиков пестичного цветка извилистостенные, с устьицами аномоцитного типа (верхняя эпидерма); прямостенные, с железками 4-х клеточной головкой и сосочковидными выростами по краям чашелистика (нижняя эпидерма). При основании, вдоль жилок наблюдаются друзы оксалата кальция. Верхняя и нижняя эпидерма чашелистиков тычиночного цветка в центре и при основании чашелистика образована прямостенными или слабоизвилистыми клетками, устьица аномоцитного типа. Ближе к краю чашелистика клетки эпидермы с сильно извилистыми стенками. На нижней эпидерме имеются железки с 4-х клеточной головкой (рисунок 10, 11).

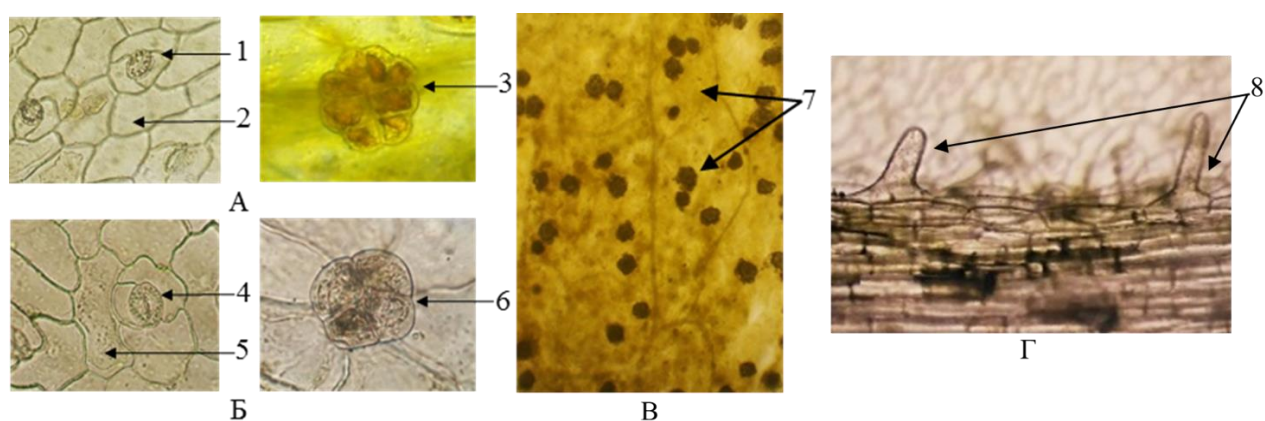


Рисунок 8 – Анатомио – диагностические признаки листовой пластинки. Эпидерма листовой пластинки (увл. x400): А – верхняя, Б, В – нижняя: 1, 4 – анизокитный тип устьичного комплекса, 2, 5 – клетки эпидермы, 3 – железка с 8-и клеточной головкой, 6 - железка с 4-х клеточной головкой, 7 – друзы оксалата кальция; Г - над главной жилкой: 8 – простой одноклеточный волосок

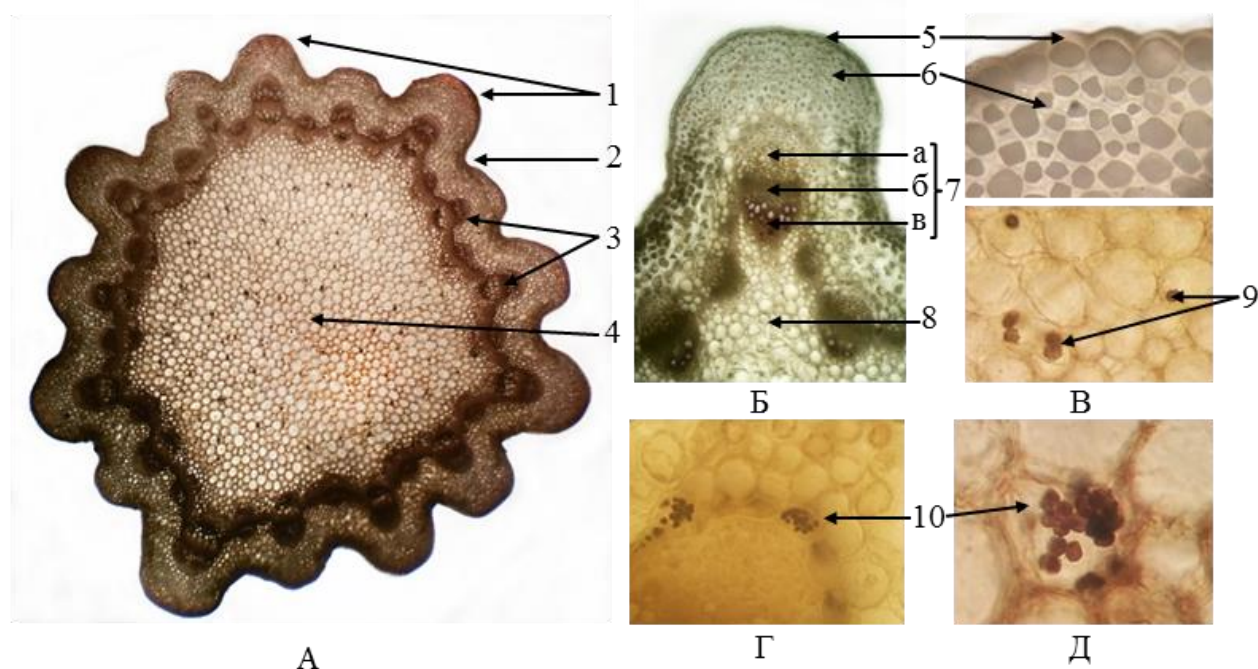


Рисунок 9 – Анатомио – диагностические признаки стебля: А (увл. x24): 1 – ребра; 2 – межреберье; 3 – проводящие пучки; 4 – сердцевина; Б (увл. x100), В (увл. x400): 5 – эпидерма; 6 – уголкоая колленхима; 7 – проводящий пучок: а – флоэма; б – камбий, в – ксилема, 8 – основная паренхима, 9 – друзы оксалата кальция; Г (увл. x400), Д (увл. x630): 10 – крахмальные зерна.

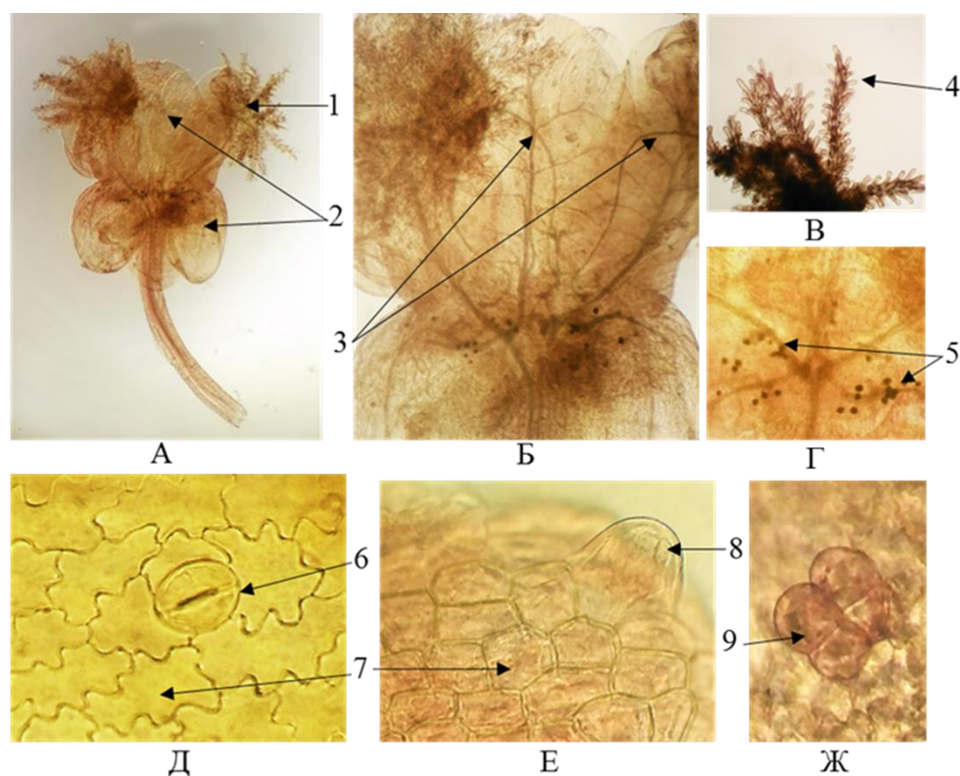


Рисунок 10 - Анатомио – диагностические признаки пестичного цветка (А – увл. x100, Б - Г – увл. x400): 1 – кистевидные рыльца, 2 – чашелистики, 3 – нитевидные столбики, 4 – сосочковидные выросты, 5 – друзы оксалата кальция; верхняя (Д) и нижняя (Е, Ж) эпидерма чашелистиков пестичного цветка (увл. x400): 6 – аномоцитный тип устьичного комплекса, 7 – клетки эпидермы, 8 – сосочковидный вырост эпидермы, 9 – железка с 4-х клеточной головкой.

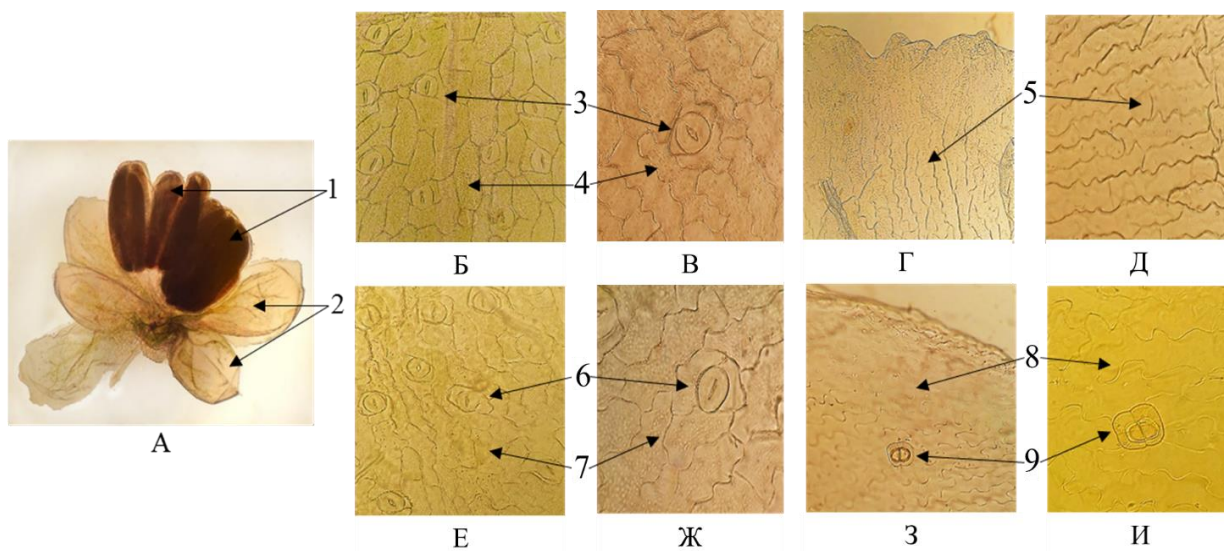


Рисунок 11 - Анатомио - диагностические признаки тычиночного цветка (А): верхняя (Б - Д) и нижняя (Е - И) эпидерма чашелистиков (А - увл. x100, Г, Е, З – увл. x400; Б, В, Д, Ж, И - увл. x630): 1 – тычинки, 2 – чашелистики, 3,6 – аномоцитный тип устьичного комплекса, 4,5,7,8 – клетки эпидермы, 9 – железка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

На основании проведенных исследований установлены и внесены проект ФС *показатели доброкачественности щавеля кислого травы*: 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%.

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 ФС «Щавеля кислого трава» в план разработки проектов ФС.

Определены показатели доброкачественности в зависимости от района заготовки ЛРС. Установлен оптимальный срок заготовки щавеля кислого травы – фаза цветения (июль). Срок годности щавеля кислого травы – 2,5 года (срок наблюдения).

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 сердцевинки 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: 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%; полисахаридов 1,27 – 1,41%; 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;

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, установленные 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».

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 ФС «Щавеля кислого трава» в план разработки проектов ФС.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. 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.
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.
3. **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.**
4. 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 - Барнаул: 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.
5. 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.
6. **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).**
7. 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> (дата обращения 25.08.2019).
8. 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).*
 9. Кутателадзе, Г. Р. Определение количественного содержания катехинов в щавеля кислого траве, 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).*
 - 10. 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.***
 11. 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).*
 12. 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.)*
 13. 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.).*

14. 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.
15. 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).
16. 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.).
17. 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).
18. 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).

Список условных обозначений и сокращений

2,6-ДХФИФН - 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия

АГМУ - Алтайский государственный медицинский университет

БАС - биологически активные соединения

БУВ - спирт n- бутиловый - уксусная кислота ледяная - вода

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография

ГФ РФ - Государственная Фармакопея Российской Федерации

Дифф.СФМ - дифференциальная спектрофотометрия

ЛРС - лекарственное растительное сырьё

НД - нормативная документация

РФ – Российская Федерация

СО - стандартный образец

СФМ - спектрофотометрия

ТСХ - тонкослойная хроматография

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

ФС – фармакопейная статья

Кутателадзе Георгий Родионович (Россия)

Фармакогностическое изучение и стандартизация щавеля кислого травы, произрастающего на территории Алтайского края

Проведено комплексное фитохимическое изучение щавеля кислого травы. Установлено, что комплекс биологически активных соединений щавеля кислого травы включает простые фенолы, стильбены, флавоноиды, фенолокислоты, дубильные вещества, антраценпроизводные, кумарины, аминокислоты, органические кислоты, аскорбиновую кислоту, углеводы, сапонины, липофильные соединения. Показана целесообразность стандартизации по количественному содержанию флавоноидов в пересчете на рутин методом дифференциальной спектрофотометрии; содержанию дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту методом спектрофотометрии. Методики количественного определения флавоноидов и дубильных веществ валидированы. Проведены исследования по определению острой токсичности, антиоксидантной активности в опыте *in vitro*, противовоспалительной активности при остром и хроническом воспалении. Установлены показатели подлинности и доброкачественности ЛРС. Разработан проект фармакопейной статьи «Щавеля кислого трава».

Kutateladze Georgii Rodionovich (Russia)

Pharmacognostic study and standardization of the common sorrel herb that grows on the Altai Territory

A comprehensive phytochemical study of common sorrel herba was carried out. It has been established that the biologically active compounds complex of sorrel sour grass includes simple phenols, stilbenes, flavonoids, phenolic acids, tannins, anthracene derivatives, coumarins, amino acids, organic acids, ascorbic acid, carbohydrates, saponins, lipophilic compounds. The expediency of standardizing the quantitative content of flavonoids in terms of rutin by differential spectrophotometry is shown; the content of tannins in terms of gallic acid by spectrophotometry. Methods for the quantitative determination of flavonoids and tannins are validated. Studies have been conducted to determine acute toxicity, antioxidant activity *in vitro* experiment, and anti-inflammatory activity in acute and chronic inflammation. The verification indicators and quality indicators of PRM are established. The project of the pharmacopoeial monograph "Rumex acetosa herba" has been developed.