

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



ЗАЙЦЕВА НАДЕЖДА ВЯЧЕСЛАВОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И
СТАНДАРТИЗАЦИЯ КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО
(*RÚMEX CONFÉRTUS* WILLD.)**

14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук,

доцент Е.В. Авдеева

Самара – 2014

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

БАС – биологически активные соединения

ВФС – временная фармакопейная статья

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГСО – Государственный стандартный образец (вещества)

ГФ – Государственная фармакопея

ДСК – диазотированная сульфаниловая кислота (в насыщенном растворе натрия карбоната)

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

НД – нормативная документация

ЛР – лекарственное растение

ЛП – лекарственный препарат

ЛРС – лекарственное растительное сырье

РСО – рабочий стандартный образец

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ-спектр – ультрафиолетовый спектр

ФС – фармакопейная статья

ФСП – фармакопейная статья предприятия

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	13
1.1. Общая характеристика семейств Гречишных.....	14
1.2. Общая характеристика видов рода Щавель.....	16
1.3. Ботаническое описание, распространение, химический состав, стандартизация и использование щавеля конского в научной медицине.....	22
1.3.1. Ботаническое описание и фармакогностическая характеристика производящего растения и сырья – корней щавеля конского.....	22
1.3.2. Ареал произрастания щавеля конского.....	23
1.3.3. Заготовка и первичная обработка корней щавеля конского.....	24
1.3.4. Химический состав корней щавеля конского.....	25
1.3.5. Фитохимический анализ и подходы к стандартизации корней щавеля конского.....	27
1.3.6. Фармакологическая активность лекарственных препаратов щавеля конского.....	33
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	40
2.1. Объекты исследования.....	41
2.2. Методы исследования.....	41
2.2.1. Исследование анатомического строения корней щавеля конского.....	41
2.2.2. Метод колоночной хроматографии, ВЭЖХ.....	42
2.2.3. Метод тонкослойной хроматографии.....	43
2.2.4. Метод спектрометрии.....	44
2.2.5. ¹ H-ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия.....	44
2.2.6. Химические методы, использованные для идентификации групп БАС и индивидуальных соединений, выделенных из корней щавеля конского.....	44
ГЛАВА 3. АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО.....	48
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО.....	57
4.1. Препаративное разделение и очистка веществ;	

установление структуры и изучение физико-химических свойств выделенных соединений.....	57
4.2. Исследование химического состава методом ВЭЖХ-анализа.....	67

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО.....71

5.1. Качественный анализ корней щавеля конского.....	72
5.1.1. Разработка методики качественного анализа корней щавеля конского (на наличие антраценпроизводных).....	74
5.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского.....	76
5.2.1. Разработка методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского.....	79

ГЛАВА 6. ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО.....88

6.1. Анализ ассортимента слабительных средств растительного происхождения на современном фармацевтическом рынке.....	88
6.2. Разработка технологии получения густого экстракта из корней щавеля конского и его стандартизация.....	91
6.3. Изучение фармакологических свойств и токсичности водных и водно- спиртовых извлечений из корней щавеля конского.....	97

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	121

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Лекарственное растительное сырье, содержащее антраценпроизводные, было и остается в центре внимания исследователей, занимающихся разработкой слабительных лекарственных средств. В этом ряду традиционно рассматриваются сенна остролистная (*Senna acutifolia*, семейство Бобовые - *Fabaceae*), крушина слабительная (*Rhámnus cathártica*, семейство Крушиновые - *Rhamnáceae*) и, в меньшей мере, - ревень пальчатый (*Rhéum palmátum*, семейство Гречишные - *Polygonáceae*) и щавель конский (*Rúmex confértus*, семейство Гречишные – *Polygonaceae*).

Популярность лекарственных растительных препаратов объясняется целым рядом преимуществ, характерных для фитопрепаратов, особенно при лечении хронических заболеваний, в том числе при терапии желудочно-кишечных патологий (Киселева Т.Л. и др., 2008; Куркин В.А., 2007; Самылина И.А. и др., 2003; 2010). Одним из лекарственных растений, потенциал которого с позиций современной медицины и фармации раскрыт далеко не в полной мере, является щавель конский. Так, накопился ряд вопросов относительно полноты и доказательности сведений по химическому составу и решения проблемы стандартизации сырья данного растения. Кроме того, сдерживающим фактором для более широкого и рационального применения щавеля конского в научной фармации и медицине помимо недостаточной изученности химического состава и связанного с этим отсутствия обоснованных подходов к объективной оценке качества лекарственного растительного сырья (ЛРС), являются также неполные данные по зависимости «химический состав – фармакологическая активность», противоречивые показания к применению и ряд других нерешенных вопросов. Поэтому, на наш взгляд, перспективными и первоочередными направлениями исследований являются углубленное изучение данного растения как сырьевого источника биологических активных соединений (БАС), решение вопросов стандартизации,

обоснование рационального использования ЛРС «Щавеля конского корня» для получения лекарственных средств.

Актуально в этой связи и совершенствование нормативной документации (НД), особенно в части отражения в ней фитохимических параметров качества корней щавеля конского. В частности, в ВФС 42-1077-81 и других видах утвержденной НД отсутствуют разделы качественной и количественной оценки содержания БАС в обсуждаемом ЛРС, а описанные в литературе методики являются громоздкими и имеют ряд недостатков (анализ не нативной гаммы антрагликозидов, а продуктов их гидролиза, потери анализируемых веществ в ходе пробоподготовки, неточность, не оптимальный выбор вещества-стандарта и другие проблемы).

Таким образом, данные изучения химического состава и решение указанных аналитических проблем для изучаемого сырья и разрабатываемых лекарственных препаратов на его основе позволит с позиций современных требований к фармакопейному анализу (объективность, унификация методик, использование веществ-стандартов) гарантировать качество ЛРС «Щавеля конского корня» и соответствующих фитопрепаратов, а также сделает более рациональным использование растения в научной медицине и фармации.

Цель и задачи исследования: фармакогностическое исследование и совершенствование методов стандартизации корней щавеля конского (*Rútex confértus* Willd., сем. Гречишные - *Polygonaceae*).

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Изучение химического состава корней щавеля конского.
2. Анатомо-гистологическое исследование корней щавеля конского для выявления диагностических признаков данного вида ЛРС.
3. Разработка новых подходов к стандартизации корней щавеля конского с позиции определения ведущей группы БАС.
4. Разработка методик качественного анализа корней щавеля конского (на наличие антраценпроизводных).

5. Разработка методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского.
6. Изучение слабительных свойств и токсичности водных и водно-спиртовых извлечений корней щавеля конского и обоснование получения экстракционного препарата «Щавеля экстракт густой»; изучение его параметров качества.
7. Разработка проекта ФС «Щавеля конского корни» для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации XII издания.

Научная новизна. В результате изучения химического состава корней щавеля конского (*Rútex confértus* Willd.) выделены и идентифицированы с использованием УФ-, ^1H -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также результатов химических превращений 8 индивидуальных соединений: 8-О- β -D-глюкозид эмодина, эмодин, хризофанеин, хризофанол, фисцион (антрахиноны), 8-О- β -D-глюкопиранозид неподина (непозид), неподин, 8-О- β -D-глюкопиранозид торахризона (производные нафталина). Установлено, что доминирующими компонентами сырья данного растения являются эмодин и 8-О- β -D-глюкопиранозид эмодина. Для неподина и непозида, выделенных ранее из корней щавеля конского, впервые приведены данные ^1H -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а 8-О- β -D-глюкопиранозид торахризона впервые описан для корней щавеля конского.

Показана целесообразность проведения стандартизации сырья по антраценпроизводным (ведущая группа БАС) с использованием 8-О- β -D-глюкозида эмодина в качестве вещества-стандарта. Обоснованы аналитические подходы, заключающиеся в обнаружении диагностически значимого (из числа доминирующих) антраценпроизводного 8-О- β -D-глюкозида эмодина в корнях щавеля конского с использованием ТСХ-анализа и спектроскопии (качественный анализ), и оценки содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на указанное вещество-стандарт методом дифференциальной спектрометрии (количественное определение).

При изучении диагностических анатомо-гистологических признаков ЛРС впервые описаны склереиды, находящиеся на продольном срезе коровой части корня щавеля конского, которые важно отличать от лубяных волокон. С использованием гистохимической реакции с щелочными реагентами выявлены особенности локализации антраценпроизводных: в основной паренхиме вторичной коры и паренхиме сердцевинных лучей.

На основании результатов морфолого-анатомических, фитохимических, аналитических исследований и данных изучения нормируемых параметров качества ЛРС разработан проект ФС «Щавеля конского корня», который принят ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации XII издания.

Практическая значимость. Разработаны методики качественного анализа корней щавеля конского с использованием ТСХ и спектроскопии. В основе методики ТСХ-анализа лежит обнаружение в предложенных условиях диагностически значимого антрахинона - 8-О- β -D-глюкозида эмодина. Кроме того, в целях дополнительной идентификации и оценки доброкачественности ЛРС предложен анализ электронного спектра в области от 190 до 700 нм щелочно-аммиачного раствора спирто-водного извлечения из корней щавеля конского, для которого характерен основной максимум поглощения при 520 нм $\pm$ 2 нм (антраценпроизводные). В плане совершенствования подходов к стандартизации также разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского с использованием дифференциальной спектрометрии (аналитическая длина волны – 520 нм) и 8-О- β -D-глюкозида эмодина в качестве вещества-стандарта, что исключило стадии пробоподготовки и последующих превращений (с потерями) анализируемых веществ в ранее используемых методиках. В результате в проект ФС «Щавеля конского корня» введены новые разделы «Качественные реакции» и «Количественное определение» и предложена соответствующая

формулировка в разделе «Числовые показатели»: содержание суммы антраценпроизводных не менее 4,0%.

В результате технологических исследований получен ряд фитосубстанций с использованием в качестве экстрагента спирта этилового в различных концентрациях и воды; для них изучена слабительная активность с позиций установления дозозависимого эффекта (в т.ч. в сравнительном аспекте с некоторыми другими официальными растениями, содержащими антрагликозиды) и безопасности. В результате выбор сделан в пользу использования в качестве экстрагента спирта этилового 40%, найдена эффективная минимальная доза (25 мг/кг) для развития статистически значимого слабительного эффекта в эксперименте; итогом данного фрагмента работы явилась разработка лекарственного препарата «Щавеля экстракт густой» (который может представлять в дальнейшем интерес в плане создания на его основе таблетированных и капсулированных лекарственных форм); для него предложен состав, способ получения и изучены параметры качества.

Оформлено рационализаторское предложение «Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье – корнях щавеля конского» (2012 г.), а также получено положительное решение на выдачу патента РФ на изобретение (2014 г.).

Разработанные методики качественного и количественного анализа корней щавеля конского внедрены в учебный и научный процесс кафедр фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, фармацевтической технологии и химии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России. Результаты диссертационных исследований включены в методические материалы практических занятий и лекций для студентов, интернов и аспирантов в ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, а также используются в работе ГБУ здравоохранения «Центр контроля качества

лекарственных средств Самарской области» и ЗАО «Самаралектравы (акты внедрения от 12.02.2014 г. и 19.12.2013 г., соответственно).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Результаты анатомо-гистологического исследования корней щавеля конского.
2. Результаты изучения химического состава корней щавеля конского и разработка способа получения 8-О-β-D-глюкозида эмодина (доминирующего антрагликозида, предложенного в качестве вещества-стандарта).
3. Результаты исследований по разработке подходов к стандартизации ЛРС «Щавеля конского корня».
4. Методики качественного анализа ЛРС «Щавеля конского корня» с использованием ТСХ и спектроскопии.
5. Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозид эмодина в ЛРС «Щавеля конского корня» с использованием дифференциальной спектрометрии.
6. Данные изучения специфической фармакологической активности и токсичности различных экстракционных препаратов корней щавеля конского (отличные по используемому экстрагенту и способам получения) и обоснование перспектив разработки нового слабительного средства «Щавеля экстракт густой».
7. Данные по разработке нормативной документации (НД) на сырье – ФС «Щавеля конского корня» для включения в XII издание Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Связь задач исследования с планами научных работ.
Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства

здравоохранения Российской Федерации по теме: «Комплексные исследования по проблеме создания новых лекарственных препаратов природного и синтетического происхождения» (№ Государственной регистрации 01200900658), а также соответствует тематике Проблемной комиссии по химико-фармацевтическим наукам Университета.

Апробация работы и публикации. Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на II Международной научно-практической конференции «Молодежь и наука: модернизация и инновационное развитие страны» (Пенза, 2011 г.), на Всероссийских конгрессах «Экология и здоровье человека» (Самара, 2011, 2012, 2013 гг.), на научно-практической конференции «Аспирантские чтения» (Самара, 2012, 2013 гг.), III Международной виртуальной Интернет-конференции «Биотехнология. Взгляд в будущее» (2014г.).

Основное содержание диссертации опубликовано в 16 научных работах, из них 7 статей в журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 120 страницах машинописного текста, содержит 15 таблиц, 23 рисунка. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, четырех глав, отражающих результаты собственных экспериментальных исследований, их обсуждение, общих выводов, приложения и списка литературы, включающего 145 источников, из которых 37 на иностранных языках.

Во *введении* обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, отмечена новизна и практическая значимость полученных результатов, а также изложены положения, выносимые на защиту. *Глава 1* содержит аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по современному состоянию исследований щавеля конского, в котором обобщены и систематизированы сведения по изучению химического состава растения, фармакологической активности, применению в медицинской практике и другим вопросам. В *главе 2* представлены

характеристика объектов и методов исследования. Приведены методики химического, физического и физико-химического изучения лекарственного сырья и индивидуальных веществ, а также технологические способы получения экстракционных препаратов на основе изучаемого вида ЛРС и методики фармакологического исследования. В *главе 3* обсуждаются результаты анатомо-морфологического исследования корней щавеля конского и обоснование специфических анатомо-гистологических признаков корней разных анатомических зон и стадий развития. В *главе 4* приведены результаты исследования химического состава корней щавеля конского (выделение, очистка и установление структуры индивидуальных веществ) и способ получения диагностически значимого 8-O- β -D-глюкозида эмодина, предложенного в качестве вещества-стандарта. В *главе 5* рассматриваются результаты исследований по совершенствованию методов стандартизации корней щавеля конского. В *главе 6* дано обоснование целесообразности расширения номенклатуры отечественных (эффективных и безопасных) лекарственных средств растительного происхождения путем разработки густого экстракта корней щавеля и рассмотрения его с позиций как самостоятельного слабительного фитопрепарата (по результатам фармакологических исследований), так и в качестве лекарственной субстанции для создания на последующих этапах твердых лекарственных форм. В приложение вынесены материалы по разработке НД на сырье - проекта ФС «Щавеля конского корни» и акты внедрения.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Общая характеристика семейства Гречишных

Семейство гречишных (*Polygonaceae*) насчитывает более 30 родов и 700 видов. Его представители распространены практически по всему земному шару, и особенно - в северной и умеренной зоне. Растения семейства гречишных произрастают в разных экологических условиях. Обычно это однолетние или многолетние травы, реже встречаются такие жизненные формы, как кустарники и деревья.

Как правило, у представителей данного семейства листья цельные, очередные, реже – мутовчатые, разделены на доли [3, 13, 20, 24, 25, 45, 61, 94, 108, 116, 137]. Кроме того, наличие сросшихся прилистников – раструбов, является характерной чертой данного семейства. Цветки обычно мелкие, собраны в верхушечных соцветиях, в основном обоеполые, имеют 3-членный, реже 2-х или 5-членный план строения. Околоцветник простой, состоит из 3-6 зеленых или белых долей, которые сохраняются и видоизменяются при плодах. Тычинки в количестве 6-9 расположены в два круга - во внутреннем они могут исчезать, а в наружном - их число удваивается.

Обычно гинецей состоит из 3-х, реже из 2-4-х плодолистиков со свободными или немного сросшимися столбиками. Характерная верхняя, одногнездная завязь с одним базальным семязачатком, расположенным на ясно выраженной ножке, соответствующей редуцированной центральной колонке [20, 38, 39, 61, 64, 68, 72, 91, 104, 106, 109, 137, 143].

Для представителей семейства гречишных существуют ветро- и насекомоопыление. Вариантом приспособленности к ветроопылению является известный для некоторых видов щавеля факт расположения цветков

на длинных цветоножках и наличие крупных перистых рылец, которые способны хорошо улавливать пыльцу [3, 21, 68, 78, 80, 92, 93, 109, 118].

У оснований тычинок нектарники выделяют нектар, который привлекает насекомых; иногда в цветках имеются нектароносные диски. Опылителями, главным образом, являются пчелы и мухи.

Перекрестному опылению у некоторых гречишных способствует явление разностолбчатости. У некоторых видов семейства есть цветки двух типов: короткостолбчатые - тычинки длиннее столбиков; длинностолбчатые - тычинки короче столбиков, при этом созревание тычинок и рылец происходит в одном цветке в разное время [19, 44, 49, 83, 84, 104].

Следует отметить, что гречишные могут размножаться и семенным, и вегетативным способом.

Пыльцевые зерна семейства различны, так как основные происходят от трехборозднопоровых, толстостенных зерен. В развитии пыльцевых зерен различают два направления. Ветроопыляемый род (щавель, ревень) имеет тонкостенные пыльцевые зерна, борозды на них редуцированы до тонких желобков. При этом, противоположную линию развития можно наблюдать у энтомофильных родов (род горец): наружная оболочка у пыльцевого зерна сложена вертикальными гребнями, борозды отсутствуют, при этом число пор увеличивается [3, 38, 39, 44, 62, 63, 87, 137].

Ореховидный плод с числом граней, которые соответствуют количеству плодолистиков; семена в основном с прямым или согнутым зародышем, окруженным выраженным эндоспермом. Многие виды щавеля имеют три внутренние доли околоцветника, которые значительно разрастаются к началу плодоношения, окружая плод (без прирастания). Для гречишных характерно обильное цветение и плодоношение. Плоды распространяются ветром; хорошо плавают, т.к. на околоцветнике развиваются желвачки (особые вздутия) из губчатой паренхимной ткани. Также плоды гречишных могут распространяться животными, например, плоды сорных растений (щавель

малый и спорыш) разносятся вместе с грязью на лапах животных [3, 21, 49, 65, 71, 107, 118].

В зависимости от строения эндосперма, расположению околоцветника (циклическое и нециклическое) семейство подразделяется на три подсемейства: 1) щавелевые (*Rumicoideae*) с циклическим цветком и неруминированным эндоспермом; 2) гречишные (*Polygonoideae*) с нециклическим цветком и неруминированным эндоспермом; 3) кокколобовые (*Coccoloboideae*) чаще с нециклическим околоцветником и руминированным эндоспермом [3, 25, 38, 68, 106, 137].

Наиболее нас интересующее подсемейство щавелевых включает весьма различные по распространению и морфологии роды – эриогонум (*Eriogonum*) из западных районов Северной Америки и Мексики, эндемичный калифорнийский род птеростегия (*Pterostegia*), арктоальпийские монотипные роды оксирия (*Oxyria*) и кенигия (*Koenigia*), встречающиеся в тундрах северного полушария и в альпийском поясе горных хребтов Азии и Европы, монотипный и, по-видимому, очень древний род эмекс (*Emex*), имеющий дизъюнктивный ареал (Южная Европа, Южная Африка и Австралия), центрально-азиатский род ревень (*Rheum*) и распространенный на всех континентах род щавель (*Rumex*) [19, 49, 61, 82, 93, 137].

Представители семейства отличаются тем, что во всех частях растений присутствуют дубильные вещества (особенно подземные органы), которые применяют в качестве вяжущих средств.

Известны гречишные и своими пищевыми свойствами. Около 4000 лет назад в культуру была введена гречиха посевная, родом из Гималаев. Из ее плодов получают высококалорийный продукт, в котором содержатся ценные для организма человека жиры, белки, углеводы, а также органические кислоты и витамины. Промышленным способом из травы гречихи посевной получают рутин для лечения атеросклероза и гипертонии [38, 64, 70, 91, 108].

Среди растений семейства имеются сильные медоносы: гречиха, горец змеиный (*Polygonum bistorta*) и другие. У гречишного меда темно-коричневый цвет с тонким вкусом [19, 68, 83, 94, 116, 145].

Из-за съедобных черешков прикорневых листьев некоторые виды ревеня введены в культуру. Молодые листья щавелей, которые содержат витамины А и С, а также богаты железом и калием, употребляют в пищу. Примечательно, что из-за высокого содержания дубильных веществ и щавелевой кислоты в ряде гречишных, они плохо поедаются скотом. [61, 62, 82, 83, 143].

Среди представителей семейства есть и красильные растения, например, желтую краску можно получить из корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.) [3, 62, 64, 116, 144]. Также многие виды данного семейства используют в качестве декоративных растений [3, 25, 64, 64, 68, 136].

1.2. Общая характеристика видов рода Щавель

Щавель (*Rumex*) — род, объединяющий порядка 150—200 видов одно- и многолетних трав и полукустарников семейства Гречишные (*Polygonaceae*). Представители рода (большой частью - сорняки) широко распространены в Евразии, Африке, Северной и Южной Америке; в России (в основном в Европейской части) произрастает около 70 видов [19, 38, 63, 64, 79, 82, 83, 116, 137, 143]. Растения рода щавель могут накапливать в цельных органах щавелевую кислоту и ее соли, главным образом, щавелевокислый калий. Уровень накопления щавелевой кислоты и оксалатов в растении довольно вариабелен и зависит от географических факторов. Суммарное содержание оксалатов и щавелевой кислоты в различных органах щавелей главным образом в корнях и корневищах, а содержание легкой кислоты — в надземной части, особенно в листьях. О.И. Кос и Л.В. Бензель изучили в сравнительном аспекте содержание щавелевой кислоты и ее солей в 8 видах рода щавель. Наиболее высокое содержание оксалатов отмечено для подземных органов щавеля водяного (до 16,53%), щ. пирамидального (до

13,53%) и щ. конского (до 12,95%). Рекордсменом по содержанию щавелевой кислоты являются подземные органы щавеля кислого (до 19,04%). Так, в водные настои и отвары переходит до 65–76% легкой оксалатной кислоты и ее солей, содержащихся в исходном сырье [53].

Широко известны и находят применение как лекарственные растения и овощные культуры следующие виды рода Щавель:

- *Rumex confertus* Willd. — Щавель конский, или Щавель густой (Лягушачья кислица, Кислица конская, Огнёвка грыжная);
- *Rumex acetosa* L. — Щавель кислый, или Щавель обыкновенный;
- *Rumex crispus* L. — Щавель курчавый;
- *Rumex thyrsifloms* Fringerh — Щавель пирамидальный;
- *Rumex longifolius* DC. — Щавель длиннолистный;
- *Rumex aquaticus* L. — Щавель водяной;
- *Rumex hydrolapathum* Huds. — Щавель воднощавелевый.



Щавель конский - *Rumex confertus*

Willd. Многолетнее травянистое растение, достигающее высоты 150 см. У растения короткое многоголовое корневище и крупный стержневой неразветвленный корень. В верхней части прямостоячий стебель разветвлен и имеет продольные бороздки. Большие продолговато-яйцевидной формы нижние листья очередные, около основания тупые. Снизу и по жилкам

листья опушенные короткими волосками с длинными сверху желобчатыми черешками. У растения мелкие, зеленовато-желтые цветки, собранные в узкометельчатое соцветие, которые расположены в верхней части стебля.

Плод - трехгранный светло-коричневый орешек. Цветет щавель конский в июне – июле [4, 9, 13, 29, 43, 47, 51].

Щавель конский (*Rumex confertus* Willd.) относится к растениям евроазиатского типа ареала. Он широко встречается в низменных районах Центральной, Западной и Южной Европы. В западноевропейской флоре его заменяют более распространенные виды растений из группы конских щавелей. Изучаемый объект, кроме того, распространен в странах Восточной Европы и Азии, также в Европейской части России, на Южном Урале, в Западной и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке России, в Китае. В Северной и Центральной Америке встречается как сорное растение [47, 60, 61].

Замечено, что щавель конский встречается в дикой природе и антропогенных местах, преимущественно в лесной и лесостепной зонах, на влажных лугах, вдоль полей [47, 61].

Щавель кислый (обыкновенный) – *Rumex acetosa*. Многолетнее двудомное травянистое растение с прямостоячим стеблем до 1 м высотой, заканчивающимся метельчатым соцветием [60, 62, 77, 78, 90, 91]. Прикорневые листья длинночерешковые со стреловидным основанием до 20 см в длину, цельнокрайние с выраженной центральной жилкой; вкус кислый. Стеблевые листья почти сидячие, очередные. Однополые розовые цветки собраны в цилиндрические метёлки. Внутренние листочки околоцветника разрастаются при плоде. Семянки длиной до 2 мм, заострённые, трёхгранные, темно-коричневые, гладкие и блестящие; имеют острые, светлые рёбра с небольшой каёмкой, грани выпуклые [4, 5, 60, 61].

Щавель курчавый (*Rumex crispus* L.). При основании имеет клиновидные листья, по краю волнистые; облиственное соцветие; желвачков от одного до трех [59, 60, 62, 98 101].

Щавель пирамидальный (*Rumex thyrsifloms* Fringerh). При основании имеет листья стреловидной формы; соцветие примамидальное; желвачков нет [59, 60, 62, 98 101].

Щавель длиннолистный (*Rumex longifolius* DC.). При основании листья округлые, остальные имеют продолговато-яйцевидную форму. Соцветие узкометельчатое, густое с многочисленными листьями при основании; желвачков нет [59, 60, 62, 98 101].

Щавель водяной (*Rumex aquaticus* L.) имеет продолговато-яйцевидной формы листья, которые слабо сердцевидные при основании, а снизу голые. Соцветие узкометельчатое; желвачков нет [59, 60, 62, 98 101].

Щавель воднощавелевый (*Rumex hydrolapathum* Huds.) имеет при основании широколанцетные клиновидные листья, соцветие облиственное, раскидистое, желвачков – 3 [59, 60, 62, 98 101].

Опыт применения видов рода Щавель в народной медицине (историческая справка). Щавель конский давно и успешно применяется в медицинской практике многих народов. Лечебная ценность растения была известна еще Древней Греции и Римской империи, о нем упоминали в своих трудах такие известные врачи и философы как Гиппократ, Диоскорид и Теофраст (в основном как о слабительном средстве). Признанный арабский целитель Мухаммед Хусейн в работе «Махзан-ул Адвия» (1777 г.) отмечал, что щавель эффективен при желтухе, а также растение возбуждает аппетит. По мнению великого средневекового арабского ученого Авиценны, лекарство из корней щавеля конского хорошо помогало при камнях в мочевом пузыре и при язвах кишечника [75]. В средневековой армянской медицине щавель конский ценился как средство для лечения кожных заболеваний. Персы называли щавели дикими свеклами, употребляли корни растения для улучшения работы пищеварительного тракта; также корни считали полезными для селезенки [24, 30, 40, 41, 75].

В период позднего Средневековья растение применяли как антисептик и слабительное средство. В Бразилии отвар корней использовали при

увеличении лимфатических узлов (местно) и как противоцинготное средство (внутрь). В Индии сок корней щавеля конского применяли при зубной боли, а порошок при воспалении десен, также использовали как средство для чистки зубов. Соком, выжатым из свежесобранных и очищенных подземных органов конского щавеля, в Тибете лечили кожные заболевания. В традиционной медицине народов Таджикистана и Средней Азии сок из листьев растения использовали при изжоге, желтухе, для полосканий ротовой полости при ангинах и кровоточивости десен. При гастритах и язве желудка принимали отвар из высушенных плодов, а жареные — при колитах, энтероколитах и дизентерии. Листья щавеля прикладывали к ранам, абсцессам и опухолям, что способствовало их скорейшему заживлению. В отваре из соцветий купали детей с кожными заболеваниями и высыпаниями [25, 43, 46, 47, 75].

Сведения о применении корней щавеля шпинатного *Rumex patientia* L. и щавеля альпийского *Rumex alpina* L. под названием *Radix Rhei monachorum* («ревень монахов») содержатся травниках XIX в. [59]. В европейских странах настойками из конского щавеля лечили язвы на коже, колиты и геморрой [4, 8, 60, 61, 86].

В армянской медицине использовался отвар из семян щавеля водяного при заболеваниях сердца. При зубной боли использовали выжатый сок из щавеля курчавого [59, 60, 69].

В китайской медицине отвар корня применяют в качестве слабительного, сырой измельченный корень или отжатый из него сок - наружно при заболеваниях кожи. В Германии отвар корня применяется при раздражении зева, гортани, катаре верхних дыхательных путей, при кашле, насморке, фронтите, головной боли (в виде растираний свежим соком или в виде экстракта); также свежим соком натирали суставы при воспалениях [24, 39, 50, 78, 79].

В народной отечественной медицине спектр применения щавеля конского также разнообразен (и это получило продолжение по ряду

направлений в научной медицине: сырье входит в состав сбора М.Н. Здренко и используется для приготовления некоторых экстракционных лекарственных форм); так, известно, что корни и плоды стимулируют мышцы толстого кишечника, способствуя выведению фекальных масс; плоды оказывают вяжущее, бактерицидное и противовоспалительное действие; свежие листья – поливитаминное и ранозаживляющее действие [59, 60, 66, 70, 85]. В виде отвара и экстракта растение применяют при лечении колитов, энтероколитов, при запорах на почве атонии кишечника, геморрое и трещинах заднего прохода. Отвар из плодов щавеля конского рекомендуют при диспепсиях и дизентерии. Настой соцветий принимают при поносе, дизентерии. Также замечено, что зависимости от дозы корни растения оказывают вяжущее (закрепляющее) или слабительное действие, а при длительном применении возможно привыкание к фитосубстанциям. В этой связи следует согласиться с рекомендациями народной медицины в отношении приема препаратов щавеля конского в составе комплексной терапии или в качестве вспомогательного средства в смеси с лекарственными растениями в виде сборов.

Кроме того, водные извлечения из конского щавеля используют при цинге, язвенных стоматитах, гингивитах. Есть рекомендации и по использованию корней в виде порошка при малокровии [46, 47, 57, 61, 96]. Помимо этого, растение обладает противочинготным, противогнилостным и кровоостанавливающим действием. Отвар плодов щавеля конского применяют в виде компрессов при язвах, гнойных ранах и ожогах, листья свежие прикладывают к гнойным ранам. Примечательно, что плоды применяют для лечения туберкулеза и кожных болезней [47, 55, 61, 101].

Щавель кислый стимулирует деятельность печени и образование желчи, также усиливает деятельность кишечника, останавливает различные кровотечения, обладает «кровоочистительным» и противочинготным действием. Отвар корней применяют в качестве вяжущего средства при кровавых поносах, сильных аллергических реакциях, при цинге и как

противоядие при некоторых отравлениях [59, 60, 63, 69, 70, 98]. Отвар корней в качестве желчегонного назначают при болезнях печени и желчного пузыря. Свежий щавель и щавелевый сок употребляют для поднятия аппетита, как мочегонное и кровоочистительное средство. Кроме того, он обладает антисептическим и фитонцидным действием. Отвар травы применяют как внутреннее и наружное средство при различных кожных заболеваниях. Настой листьев используют при кровоточивости десен, для полоскания горла при ангине, в виде примочек при хронических, долго незаживающих ранах и трофических язвах [66, 67, 77, 99, 100, 101, 102].

1.3. Ботаническое описание, распространение, химический состав, стандартизация и использование щавеля конского в научной медицине

Наиболее перспективным с позиций современной медицины и фармации представляется используемый в настоящее время щавель конский, корни которого имеют статус официального вида сырья. Получение новых данных по химическому составу, накопление сведений о результатах использования препаратов щавеля конского в медицинской практике, современные инструментальные методы исследования создают дополнительные возможности для расширения спектра представлений об этом ценном растении и путях рационального его использования. Текущая ситуация и накопленные мировой наукой и практикой данные (как отправная точка в собственных исследованиях обсуждаемого растения) нуждаются в отдельном рассмотрении по далее выделенным направлениям.

1.3.1 Ботаническое описание и фармакогностическая характеристика производящего растения и сырья – корней щавеля конского

Морфологическое описание. Щавель конский - многолетнее травянистое растение [59, 60]. Побеги прямостоящие, чаще одиночные,

высотой 1,5 м. Стебли голые, бороздчатые, толщиной до 2 см. Розеточные и нижние стеблевые листья удлинненно-треугольно-яйцевидные с сердцевидным основанием, длиной до 25 см, шириной до 13 см; верхние стеблевые яйцевидно-ланцетовидной формы, меньшего размера. Все листья черешковые; при основании черешков образуется пленчатый раструб, охватывающий стебель. Пластинки листьев снизу, особенно по жилкам, короткоопушенные. Соцветия почти безлистное, узкоцилиндрическое, густое. Цветки с пленчатым зеленоватым шестираздельными околоцветниками; наружные листочки их мельче внутренних, тычинок - 6. Пестик с верхней связью и тремя столбиками. Плоды – коричневые орешки, овальные, длиной до 10 мм, заключенные в три доли околоцветника. На спинке одной из долей обычно развит бугорок (желвачок) [59, 60, 82, 83, 92, 94].

Корневая система. Корневище короткое, толстое, многоглавое с толстым слабо разветвленным стержневым корнем [45, 46, 59].

Микроскопия корней щавеля конского. На поперечном срезе корня заметны волокна желтого цвета с сильно утолщенными стенками и заметной слоистостью. Волокна располагаются одиночно или рядами. Каменистые клетки желтые с бурым содержимым, имеют округлую, эллиптическую или неправильную форму. Древесные сосуды пористые, сетчатые, крупные. В клетках паренхимы имеются многочисленные друзы и мелкие крахмальные зерна [18, 60, 98].

1.3.2. Ареал произрастания щавеля конского

Щавель конский относится к евро-азиатским видам, распространен повсеместно в Европейской части территории бывшего СССР, кроме северных районов [45, 46, 60]. Северная граница ареала начинается от побережья Финского залива и далее проходит через Ярославль, Киров, верховья Вятки и пересекает Урал. Изолированные местонахождения

находятся в юго-восточной, западной части Кольского полуострова, в низовьях Северной Двины [6, 7, 8, 9, 16, 123, 135].

Восточная граница захватывает западные районы Кемеровской области, поворачивает на юго-запад, проходит близ Бийска к Усть-Каменогорска. В Казахстане растение распространено только в северных районах. Южная граница пролегает в пределах северной части Семипалатинской и Восточно-Казахстанской областей (отдельные местонахождения отмечены и южнее, по берегу Балхаша), далее - через Мойынты, р. Сарысу (кроме опустыненных районы Казахского мелкосопочника), идет южнее Джезказгана, доходя почти до с. Иргиз и далее на юго-запад до северного берега Аральского моря, Гурьева и Астрахани [4, 7, 60, 61, 89].

Щавель конский не произрастает в центральных степных районах Калмыцкой АССР и Ставропольского края. Наблюдается в предгорных районах Азербайджана, Северного Кавказа и Грузии. В Закавказье граница ареала растения выходит к Черному морю южнее Сухуми. Изолированные участки произрастания отмечаются в Талышских горах. Единичные местонахождения обнаружены в приенисейской Сибири, на Лене, в долине Сырдарьи и на Ангаре, Джунгарской котловине, в Забайкалье [44, 46, 61, 109].

1.3.3. Заготовка и первичная обработка корней щавеля конского

Корни заготавливают осенью, в начале отмирания надземных частей (август - сентябрь) или рано весной, в период отрастания растения (апрель - начало мая) [89]. Выкапывают лопатами, отряхивают от земли, собранное сырье очищают от надземных частей и сразу моют в холодной воде. Толстые корни после обсыхания разрезают вдоль и удаляют их отмершие и поврежденные участки. Сушат под навесами или на чердаках с хорошей вентиляцией, разложив на бумаге или ткани тонким слоем, периодически переворачивая. Можно использовать искусственную сушку: в сушилках при

температуре 50-60 °С. Сушку прекращают, если толстые корни при сгибании ломаются. Выход сухого сырья от массы свежесобранного составляет 30-35% [60, 62, 89, 90].

Хранение ЛРС осуществляют в упакованном виде на стеллажах, в сухих и хорошо проветриваемых помещениях, Срок годности сырья: 3 года [2, 89].

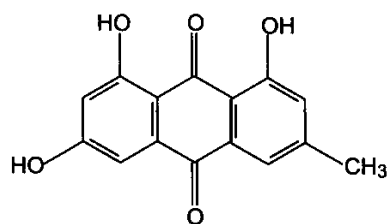
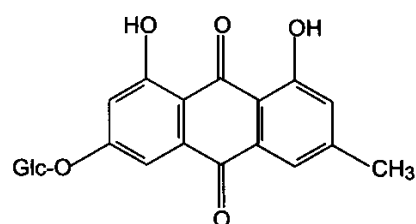
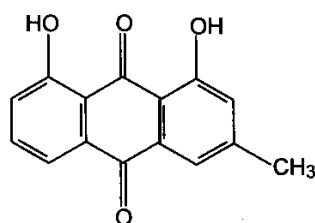
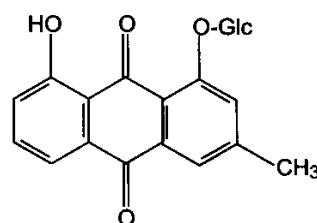
Качество сырья регламентируется ВФС 42-1077-81.

1.3.4. Химический состав корней щавеля конского

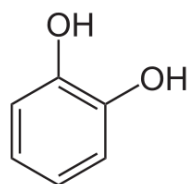
Лечебные свойства щавеля конского обусловлены высоким содержанием в сырье комплекса биологически активных соединений (БАС): антраценпроизводных, флавоноидов, дубильных веществ, смол, крахмала, макро- и микроэлементов. Важное значение, с точки зрения проявления фармакологического эффекта (слабительное действие), а также стандартизации, имеют антраценпроизводные [12, 46, 47, 48, 58, 59, 60, 62, 63, 100, 116, 146].

Антраценпроизводные – группа природных соединений, в основе которых лежит ядро антрацена [56, 58, 104, 138, 139]. О роли производных антрацена в растениях не существует единого мнения. Некоторые ученые считают, что гидроксиметилантрахиноны защищают растения от паразитов. По мнению других исследователей, они стимулируют накопление полисахаридов. Однако более вероятно предположение, что антрахиноны играют важную роль в окислительно-восстановительных процессах, протекающих в растительных организмах.

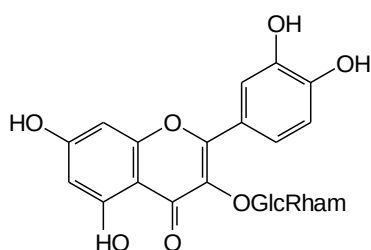
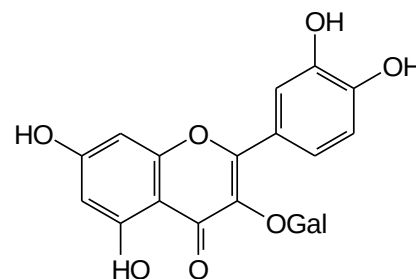
По данным Куркина В.А. [59, 60], корни щавеля конского содержат антраценпроизводные реум-эмодин и хризофанол и соответствующие антрагликозиды на их основе – глюко-реум-эмодин, хризофанеин и другие около 4 %.

*Реум-эмодин**Глюко-реум-эмодин**Хризофанол**Хризофанеин*

Вторая группа БАС представлена дубильными веществами пирокатехиновой группы (содержание: 12-15%).

*Пирокатехин*

Сырье содержит в заметных количествах флавоноиды – гиперозид, рутин, катехины и лейкоантоцианидины.

*Рутин**Гиперозид*

К сопутствующим веществам относятся кофейная кислота, филлохинон, каротиноиды, аскорбиновая кислота, эфирное масло, смолы, органические

соединения железа. Все части растения содержат в себе большое количество кальция [47, 58, 59, 60, 63].

1.3.5. Фитохимический анализ и подходы к стандартизации корней щавеля конского

Обзор путей решения проблемы стандартизации ЛРС, содержащего антрагликозиды, для понимания существующих подходов и дальнейших усилий для разработки точных и объективных методик анализа изучаемого растения, показал, что, к сожалению, большая часть методов количественного определения антраценпроизводных не ориентирована на анализ нативной гаммы БАС. Подавляющая часть предложенных методик предусматривает предварительный гидролиз гликозидов нагреванием с 5-10 % серной, соляной, либо ледяной уксусной кислотой; выделившийся агликон затем экстрагируют органическим растворителем, а далее определяют разными методами [15, 26, 27].

С 50-х годов довольно распространенным колориметрическим методом был метод Аутерхоффа, который в последствие был включен в фармакопею ЧССР. Методика имела то преимущество, что позволяла избежать неполного извлечения агликонов из сырья после гидролиза. По данному методу гидролиз антрагликозидов и последующую экстракцию агликонов проводили с помощью уксусной кислоты [60].

В Государственную фармакопею СССР X издания [30] включен модифицированный метод Аутергофа. Он предполагал использование при экстракции и гидролизе смеси соляной кислоты и уксусной, что в свою очередь приводило к завешенным результатам по содержанию антраценпроизводных по сравнению с другими методами.

Широко применяется метод, вошедший в некоторые зарубежные фармакопеи, таких как Европейская, Великобритании, Франции, основанный на извлечении антрагликозидов из сырья водой при нагревании.

Этот же подход используется и в ГФ СССР XI издания для анализа листьев сенны: получают водное извлечение (извлекаются преимущественно

гликозиды), обрабатывают диэтиловым эфиром, который отбрасывается (при этом теряется часть антрахинонов-агликонов), затем проводят реакцию Борнтрегера с последующим переводом образовавшихся антрахинонов-агликонов в органическую фазу (эфирный слой); к эфирному извлечению прибавляются щелочно-аммиачный раствор и после протекания реакции измеряют оптическую плотность раствора при 523 нм; определяют «сумму агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту» (не менее 1,35%), причем с использованием калибровочного графика, построенному по растворам кобальта хлорида с различной концентрацией [31].

Данный подход, на наш взгляд, на современном этапе нельзя считать удовлетворительным, поскольку уже начиная с этапа экстрагирования нет ориентировки на полную нативную гамму антраценпроизводных (тут важно заметить, что по ряду данных, слабительное действие препаратов сенны связано не только с наличием обсуждаемого класса БАС, но и с производными нафтохинонов), и потом многостадийный процесс с большим числом операций и использованием небезопасного органического растворителя, заканчивающийся измерениями без использования вещества-стандарта.

В этом контексте заслуживает внимания усовершенствованный метод Аутеркоффа, основанный на извлечении сразу из сырья агликонов при нагревании со смесью уксусной кислоты (лед.) и эфира с последующей реэкстракцией антрахинонов щелочно-аммиачным раствором [26, 27]. Данный подход лежит в основе количественного анализа «производных антрацена в пересчете на истизин» колориметрическим методом для коры крушины (не менее 4.5%). При этом используются два летучих яда (ледяная уксусная кислота, диэтиловый эфир), много операций, пересчет на истизин по калибровочному графику. Есть и ряд других примеров воплощения обсуждаемого подхода.

Используются в целях количественного анализа антраценпроизводных и другие методы, широко применяемые в фармакогностическом и, в частности, в фитохимическом анализе [26, 27, 35, 59].

С ретроспективной точки зрения заслуживает упоминания гравиметрический (весовой) метод количественного определения, основанный на извлечении анализируемых веществ, их очистке, высушивании до постоянной массы и взвешивании. Как известно, метод не точен, громоздок и в настоящее время применяется мало.

Учитывая наличие в молекулах антраценпроизводных фенольных гидроксильных групп, которые придают соединениям кислые свойства (слабые), возможно осуществить титрование в неводных средах. В частности, используются для усиления кислотных свойств такие неводные растворители, как диметилсульфоксид, диметилформамид, пиридин, ацетон; точку эквивалентности определяют потенциометрически.

Использование полярографического метода возможно (и, как правило, оправдано для индивидуальных соединений), из-за наличия хиноидной группировки в антрахинонах, благодаря чему соединения могут восстанавливаться в среде протонных растворителей.

Конечно, как и в анализе практически любого класса соединений на сегодняшний день, используются хроматографические методы, в частности, ВЭЖХ-анализ (мы в своей работе также к нему обращались) или сочетание хроматографии и других аналитических методов; в этом плане для анализа антраценпроизводных наибольшее распространение получил хроматоспектрофотометрический метод.

Хроматографические методы вполне себя оправдали и в плане качественного анализа, тем более, что антраценпроизводные являются окрашенными соединениями и их обнаружение в видимом свете на хроматографических пластинках (и в других вариантах хроматографии) не составляет труда. Характерной является и флуоресценция в УФ-свете для антрахинонов: восстановленные формы соединений имеют зеленовато-

голубой цвет флуоресценции, а окисленные - светятся желтым, оранжевым, красно-оранжевым цветом). В качестве реагентов используются соединения с основными свойствами.

Реакции со щелочью, гидроксидом аммония и с карбонатом натрия имеют существенное самостоятельное значение и широко используются как для проведения пробирочных реакций, так и для гистохимических целей, экспресс-анализа сырья на наличие антраценпроизводных, на отдельных этапах количественного определения, а также для предварительного определения наличия и местоположения гидроксильных групп (а также карбоксильных) в молекуле антрахинонов. Аналитическим эффектом реакции является развитие вишнево-красной окраски, хотя есть и некоторые другие варианты. Данная реакция (в варианте использования гидроксида аммония) лежит и в основе широко известной и давно используемой реакции Борнтрегера [60, 61, 62, 63]. Помимо указанных в целях качественного анализа нашли применение и реакции с диазореактивом и с солями металлов (в частности, с ацетатом магния) с развитием разнообразной цветовой гаммы в зависимости от положения ароматических гидроксильных групп.

Показательной является реакция сублимации: сырье нагревают до 200-210 °С, при этом антрахиноны возгоняются и в виде желтых или оранжевых кристаллов осаждаются на холодных стенках пробирки или часовом стекле, которым пробирка накрыта [60, 76].

Конечно, это далеко не полный перечень используемых подходов к качественной оценке антрагликозидов. Следует отдельно упомянуть системный труд нашей бывшей соотечественницы Музычкиной Р.А., которая в своей обширной монографии, посвященной антрахинонам привела системный анализ не только существующим подходам в обнаружении, выделении и анализе обсуждаемого класса соединений, но и проанализировала весь мировой опыт, а также результаты собственных систематических исследований по установлению структуры и физико-химическим свойствам всех известных антрахинонов [133].

Интересны исследования зарубежных ученых в направлении решения вопросов анализа антрацентпроизводных, причем, на наш взгляд, основные работы в указанном направлении выполнены в 70-80-х годах прошлого века, и касаются они и количественной, и качественной оценки изучаемого класса БАС как в плане определения суммы веществ, так и индивидуальных соединений.

Так, Lemmens L. предложил метод хроматографии в тонком слое на пластинках силикагеля с последующим опрыскиванием 30 % раствором диметилфармамида в ацетоне и денситометрией [130]. Rai P.P. разработал метод количественного определения антраценпроизводных с помощью ТСХ и денсиметрии [137]. Lemli J. и Cuveele J. предложили методику ТСХ на силикагеле для определения антрагликозидов в крушине, ревене, сенне в форме их нитрозо-диметиланилиновых производных с последующей денсиметрии [131]. Kaal M. и Ebel S. применяли методику ТСХ на силикагеле для разделения моно- и дигликозидов антрахинонов ревения [119, 121]. В последующих годах этими же авторами была предложена аналогичная методика для крушины [122]. Метод, по которому три основных активных веществ коры крушины разделяются ТСХ на силикагеле, далее элюируют спиртом этиловым и определяют спектрофотометрически, был предложен Kubiak M. [126, 127]. Bonati A. и Forni G.P. для определения антрахинонов разработали метод газожидкостной хроматографии высокого давления [123].

Эти работы и ряд других нашли отражение в европейских фармакопеях. В частности, в немецкую фармакопею включен метод перйодатонного окисления алоина до алоэ-эмолина, который далее переводят в щелочной раствор и спектрофотометрируют [68]. В фармакопее Швейцарии принят метод прямого спектрофотометрического определения алоина после его отделения с помощью ТСХ [114, 121, 125].

Традиционно интересным представляется мировой опыт в исследованиях по определению антраценпроизводных в биологических объектах/средах, что

во многом замыкается на поиске методов разделения и количественного определения соединений. Так, например, Labadie R.P. и Morrien M.B.M. предложили методику разделения антрагликозидов двухмерной тонкослойной хроматографией с использованием специфических ферментов [128]. Baars A.J. с коллегами [109, 112] описали газохроматографический метод определения слабительного дантрона в моче и кале крыс. Ученые Vyth A. и Kamp P.E. [140] определяли производные антрахинона в лекарственных препаратах и моче после окислительного гидролиза методом хроматографии в тонком слое.

Впервые в Российской Федерации В.А. Куркин и А.А. Шмыгарева из коры крушины ломкой выделили антрагликозиды франгулин А и франгулин В, идентификация которых осуществлялась с помощью УФ-, ^1H -ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов химических превращений [107, 108]. Также ими были разработаны методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сырье «Крушины ломкой кора» и «Жостера слабительного плоды» с использованием стандартного образца франгулина А, а также методического подхода, исключающего многостадийность [54, 107, 108].

Состояние отечественной нормативной документации на ЛРС «Щавеля конского корни». Существующая ВФС 42-1077-81, регламентирующая качество ЛРС «Корни щавеля конского», не удовлетворяет современным требованиям, предъявляемым к нормативной документации на растительное сырье. Данный НД предусматривает стандартизацию сырья только по общим числовым показателям, а именно, влага, зола, содержание примесей. Для объективной оценки качества необходимо внести ряд показателей.

По литературным данным, отечественными учеными ранее была предпринята попытка разработки проекта ФС на корни щавеля конского [86],

но пока практического выходы в виде утвержденной нормативной документации не существует (в данном документе, на наш взгляд, есть спорные аналитические вопросы). Также опубликована методика количественного определения антраценпроизводных в изучаемом виде ЛРС, которая является многоступенчатой и включает такие стадии, как кислотный гидролиз, многократную экстракцию сырья [36]. В данной методике используется фотоэлектроколориметрия, предусматривающая измерение оптической плотности при аналитической длине волны ≈ 510 нм.

В связи с вышеизложенным, с учетом всех сложившихся подходов в анализе антраценпроизводных, имеющимся отечественном и мировом опыте решения аналитических задач для достаточного круга растительных объектов, представляется актуальным предложить (на основе современных требований в фармацевтическом анализе и на основе полученных в результате диссертационных исследований данных по химическому составу) собственные подходы и методики качественного и количественного определения антраценпроизводных в таком широко известном, но малоизученном виде ЛРС, как корни щавеля конского.

1.3.6. Фармакологическая активность лекарственных препаратов щавеля конского

В контексте обсуждаемого класса соединений – антрахинонов в данном разделе акцент будет сделан на обсуждении слабительных свойств соединений, хотя, конечно, как отмечалось ранее, фармакологическая активность представителей рода щавель и, в частности, ш. конского, этим не ограничивается.

Для понимания места и роли лекарственных препаратов на основе антрагликозидов в лечении запоров необходимо очертить круг этой широко распространенной патологии с позиций причин возникновения, механизма развития, особенностей течения.

По литературным данным, в последнее время наблюдается тенденция к увеличению потребления слабительных средств во многих странах [76, 141, 145]. По материалам J. F. Riemann в западных странах запорами страдают около 50% населения, и из них 30% вынуждены принимать различные слабительные средства [97, 143]. Для России эта проблема не выглядит более оптимистично: в структуре заболеваний желудочно-кишечного тракта (на третьем месте наряду с заболеваниями бронхо-легочной системы среди причин смертности населения от хронических заболеваний) запоры составляют значительную часть, что способствует возникновению многих патологических процессов, в частности, трещин заднего прохода, геморроя, кровотечения и других. Запор может являться симптомом нервных, эндокринных, психических нарушений, а также результатом неполноценного питания [34, 52, 64, 70, 97, 143].

В соответствии с современной классификацией запоров по этиологическому признаку выделяют следующие формы: 1) алиментарный; 2) неврогенный; 3) психогенный; 4) эндокринный; 5) токсический; 6) запор, вызванный механическими препятствиями для прохождения кишечного содержимого; 7) запор на почве аноректальных поражений; 8) запор, обусловленный ослаблением соматической мускулатуры.

С клинической точки зрения целесообразно помимо этиологического фактора выявлять механизм развития запора, что позволяет подобрать адекватную терапию для каждого конкретного случая, в т.ч. рационально использовать слабительные средства на основе антрахинонов.

Следует отметить, что в настоящее время существует множество классификаций слабительных средств, в основу которых положены различные признаки, однако разработка унифицированных классификаций связана с большими трудностями. В первую очередь это обусловлено тем, что механизм действия целого ряда слабительных не может быть объяснен однозначно, к таковым, на наш взгляд, относятся и производные антрахинона и их метаболиты.

По М.Д. Машковскому, по механизму действия слабительные средства подразделяют на 2 группы: средства, вызывающие химическое раздражение рецепторов слизистой оболочки кишечника, и средства, вызывающие увеличение объема и разжижение содержимого кишечника [78, 79].

Ряд авторов, обсуждая механизм действия слабительных средств, выделяют в отдельную группу средства, химическим путем раздражающие рецепторы слизистой оболочки кишечника и рефлекторно усиливающие его перистальтику [59, 60, 76]. К ним относят растительные слабительные (корень ревеня, лист сенны, кора крушины, корень щавеля конского), содержащие антрагликозиды.

Существуют и классификации, в которых основанием является локализация точки приложения воздействия. Так, И.В. Маркова считает с практической точки зрения наиболее важной классификацию слабительных средств по локализации их эффекта в определенных отделах кишечника и с учетом скорости наступления эффекта [76]. О. Таубер также считает предпочтительной классификацию слабительных средств, в основу которой положено место действия препарата, и выделяет слабительные средства, действующие в толстом кишечнике, к которым также относит корень ревеня, листья алоэ, листья сенны и кору крушины [76, 136]. Есть и другие подходы.

С позиций фармакокинетики известно, что антрахиноны практически не всасываются в тонком кишечнике. Дальнейшие превращения соединений трактуются следующим образом: в толстом кишечнике под воздействием микроорганизмов происходит отщепление сахара от молекулы антрахинона и восстановление ее до свободного антрона или антранола, которые и являются действующими веществами [10, 11, 22, 73, 87, 103, 110]. По механизму действия, по мнению большинства авторов, они относятся к группе слабительных средств, вызывающих раздражение хеморецепторов слизистой оболочки кишечника. Антрахиноны оказывают свое действие непосредственно в толстом кишечнике (на секрецию и перистальтику желудка и тонкого кишечника они практически не влияют), вызывая выход

электролитов и воды вслед за ними в просвет кишечника, при этом сокращается время прохождения каловых масс и наблюдается их разжижение. Важно отметить, что в малых дозах препараты обладают вяжущими свойствами (преобладает действие дубильных веществ), в больших дозах проявляют слабительное действие (дозозависимый эффект), которое проявляется через 8-12 часов [10, 22, 28, 37].

К настоящему времени установлены отдельные аспекты зависимости силы эффекта от химической структуры. В частности, есть сведения, что увеличение количества гидроксильных групп снижает эффект слабительного действия [76, 97]. Антрахиноны в форме гликозидов являются полярными соединениями благодаря присутствию в их молекуле гидрофильных остатков сахаров, что может задерживать их прохождение через липофильные мембраны, что задерживает их в верхней части желудочного тракта.

С учетом всего ранее приведенного многообразия форм запоров и особенностей действия антрагликозидов, следует несколько выводов: медикаментозная терапия запоров представляет собой довольно сложную клиническую задачу, следует избегать длительного приема слабительных средств при хроническом запоре, а при назначении слабительных средств, содержащих антрагликозиды, необходимо исключить неврогенную, алиментарную, эндокринную и некоторые другие виды запора. Основной группой лиц, которым показаны препараты антрахинонов, являются преимущественно пожилые люди, у которых наблюдается сниженная моторика, а также некоторые формы проктогенного запора. Именно в подобных случаях предпочтителен прием слабительных, содержащие антраценпроизводные (сенна, крушина, щавель конский), которые усиливают моторику толстого кишечника [13, 72, 88, 115].

Также необходимо согласиться (с учетом содержания в изучаемом ЛРС полифенольного комплекса БАС) с практикой применения корней щавеля конского для лечения колитов, энтероколитов, дизентерии, геморроя, трещин заднего прохода, в качестве противовоспалительного и

кровоостанавливающего средства (при поносах, кровохаркании, кровоточащих язвах, геморрое и др.), а также для полосканий при воспалительных заболеваниях полости рта и глотки (ангина, стоматит и др.) [22, 24, 29, 36, 76, 97, 98].

Ограничения и противопоказания к применению корней щавеля конского. В связи с содержанием щавелевой кислоты не рекомендуют длительное применение корней щ. конского при подагре, почечнокаменной болезни и нарушениях солевого обмена. Особенно не следует применять препараты щавеля конского пациентам с оксалатными камнями в мочевыводящих путях. Доказано, что в отвары переходит 65-76% свободной щавелевой кислоты. Описан смертельный случай алиментарного отравления щавелем, которое проявилось в виде нарушения функций желудочно-кишечного тракта, тяжелой гипокалиемией, метаболическим синдромом и острой почечной недостаточностью. При патологическом исследовании были выявлены признаки центрально-долькового гепатонекроза, кристаллы оксалаты кальция в почках и печени. Также целесообразно исключать щавель при артритах, подагре и беременности [64, 65, 98].

Известна последовательность усиливающегося обеднения организма калием при приеме слабительных средств на основе антрахинонов [77, 78]. Так прием данных препаратов ведет к потере калия в кишечнике, далее к дефициту калия, что приводит к нарушению функций почек и сердца (рис. 1). В какой-то мере данный порочный круг можно отнести и к некоторым другим слабительным средствам.

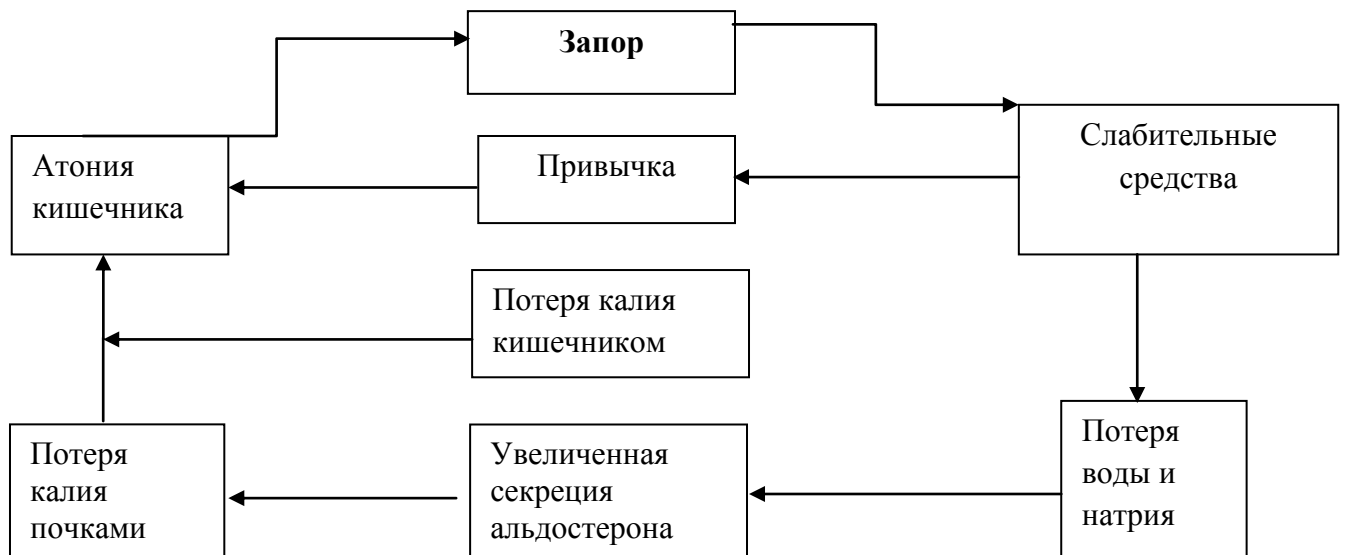


Рисунок 1 – Связь между потерей организмом электролитов, развитием запора и потреблением слабительных средств

С учетом всего вышеизложенного, на наш взгляд, особенно актуальным при разработке лекарственных препаратов на основе корней щавеля конского является установление минимальной эффективной слабительной дозы, а при использовании ЛРС растения в форме лекарственного сбора необходимо одновременное назначение в состав прописи не более одного растения, содержащего антраценпроизводные, а также других видов ЛРС с иными механизмами слабительного действия (жирные масла, эфирные масла, полисахариды).

Выводы к главе 1:

1. На основе литературных данных выявлена противоречивость химического состава корней щавеля конского, а также надземной части данного растения.
2. Методики качественного и количественного анализа, используемые для оценки качества корней щавеля конского, в том числе в зарубежных фармакопеях, не отвечают современным требованиям и являются многостадийными и громоздкими.
3. Существующая ВФС 42-1007-81 предусматривает стандартизацию сырья только по общим числовым показателям, таких как влага, зола, содержание примесей, что свидетельствует об актуальности исследований в данном направлении, причем с использованием современных инструментальных возможностей (ВЭЖХ, ТСХ, спектрофотометрия).
4. В рамках подготовки к изданию Государственной Фармакопеи Российской Федерации XII издания востребованными являются исследования по уточнению анатомо-диагностических характеристик корней щавеля конского с использованием цифровой микроскопии.
5. Принимая во внимание противоречивость данных относительно проявления фармакологической активности в зависимости от дозировки, актуальным на сегодняшний день при разработке лекарственных препаратов на основе корней щавеля конского является установление минимальной эффективной слабительной дозы.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

В ходе диссертационного исследования использовались образцы корней щавеля конского ручного сбора, которые заготавливались в период 2009-2013 гг. от культивируемых растений на фармакопейном участке Ботанического сада г. Самара, и от дикорастущих образцов, произрастающих на территории Самарской и Пензенской областей. Корни заготавливали осенью, в начале отмирания надземных частей (август - сентябрь) или весной, в период отрастания растения (начало апреля - начало мая), в соответствии с инструкцией по сбору и сушке данного вида ЛРС (выкопанные корни отряхиваются от земли, очищаются от надземных частей и сразу моются в холодной воде; толстые корни после обсыхания разрезаются вдоль и с них удаляются поврежденные и отмершие части; сушка производится тонким слоем на бумаге или ткани при периодическом переворачивании на чердаках с хорошей вентиляцией или под навесами либо в сушилках при температуре 50-60 °С до состояния ломкости). Выход сухого сырья составил 30-35% от массы свежесобранного, растительного материала.

Кроме того, в целях изучения динамики накопления изучаемых групп БАС, в небольших объемах производились заготовки сырья в течение всего вегетационного периода.

В аналитической части работы использовались индивидуальные соединения, выделенные из корней щавеля конского:

- ✓ 8-О-β-D-глюкозид эмолина
- ✓ эмодин
- ✓ хризофанеин
- ✓ хризофанол
- ✓ фисцион (антрахиноны)
- ✓ 8-О-β-D-глюкопиранозид неподина (непозид)
- ✓ неподин

✓ 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (производные нафталина)

В ходе фармакологических исследований в качестве препаратов сравнения помимо полученных на кафедре экстракционных препаратов – спирто-водные и водные извлечения на спирте этиловом 40% и 70 %, а также разрабатываемого экстракта густого (на спирте этиловом 40%) из корней щавеля конского, использовались аналогичные спирто-водные и водные извлечения из листьев сенны и коры крушины.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Исследование анатомического строения корней щавеля конского

Приготовление микропрепарата «Корни щавеля конского». Подготовку микропрепарата вели путем предварительного нагревания сырья в воде. В термостойкую колбу вместимостью 50 мл помещали до 10 г корней щавеля конского, заливали «до зеркала» водой очищенной и кипятили на водяной бане в течение 10 мин. Затем колбу охлаждали и сырье переносили в чашку Петри, заливали спирто-водно-глицериновой смесью (1:1:1). Далее выдерживали сырье при комнатной температуре в течение 2 ч для набухания [32, 33, 58, 59, 60, 61].

Просветление микропрепарата проводили двумя способами [33]:

– Несколько кусочков сырья помещали в колбу или пробирку, прибавляли 5 % раствор натрия гидроксида, разведенный водой (1:1), и кипятили в течение 1-2 мин. Затем содержимое выливали в чашку Петри (или фарфоровую чашку), жидкость сливали и сырье тщательно промывали водой очищенной (от интенсивно окрашенных антраценпроизводных). Из воды кусочки сырья вынимали скальпелем или лопаточкой, делали тонкие срезы и помещали на предметное стекло в каплю раствора хлоралгидрата или глицерина [32, 33, 59, 60, 61].

– Кусочки сырья кипятили в растворе хлоралгидрата, разведенного водой (1:1), в течение 5-10 мин. (до просветления). Просветленные кусочки сырья помещали на предметное стекло в каплю раствора хлоралгидрата или глицерина, разделяли скальпелем или препаровальной иглой на две части, одну из них осторожно переворачивали, делали тонкие срезы. Объекты для микроскопии накрывали покровным стеклом, слегка подогревали до удаления пузырьков воздуха и после охлаждения рассматривали с обеих сторон под микроскопом [32, 33, 58, 59, 60].

Анатомические исследования корней щавеля конского проводили с использованием световых микроскопов следующих марок: цифровой микроскоп Motic DM111 (возможность увеличения данного прибора представлена четырьмя окулярами: 4×10 ; 10×10 ; 40×10 ; 100×10), цифровой стереоскопический микроскоп Motic DM-39C-N9GO-A (возможность увеличения данного прибора представлена двумя окулярами: $\times 20$; $\times 40$).

2.2.2. Метод колоночной хроматографии, ВЭЖХ

Изучение химического состава корней щавеля конского на этапе препаративного разделения веществ проводилось с использованием колоночной хроматографии.

Измельченные (1 мм) корни щавеля конского (200,0 г) экстрагировали спиртом этиловым 70 % в соотношении 1:3 методом модифицированной мацерации. Для полного истощения сырья экстракцию проводили в три этапа, из которых первое и второе настаивание производили при комнатной температуре в течение двух суток, третья экстракция была термической – 30 минут на кипящей водяной бане с присоединенным обратным холодильником. Полученные извлечения объединили для последующего хроматографического разделения и очистки.

Для колоночной хроматографии использовали следующие сорбенты:

1. Полиамид «Woelm» (Германия).
2. Силикагель марки L 40/100 мкм и L 100/250 мкм (Чехия).
3. Сефадекс LH- 20 (Швеция).

Для элюирования веществ использовали смеси растворителей: хлороформ – спирт этиловый, спирт этиловый – вода в различных соотношениях. Эффективное разделение и очистка веществ достигались чередованием сорбентов и соответствующих систем растворителей [57, 58, 59, 60].

ВЭЖХ-анализ проводился на хроматографе «Миличром-5» (колонка Себсил, «Jasco») в изократическом режиме: стационарная фаза – «Separon C-18», подвижная фаза – смесь ацетонитрила и воды в различных соотношениях с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты, скорость потока – 0,1 мл/мин; детекция антраценпроизводных проводилась при аналитической длине волны $\lambda_{\max}$ 460 нм.

2.2.3. Метод тонкослойной хроматографии

Для тонкослойно-хромаграфического анализа спирто-водных извлечений из корней щавеля конского и выделенных соединений использовали пластинки «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» (Россия). Системы растворителей: 1-4, 7.

Бумажную хроматографию (БХ) сахаров и других компонентов осуществляли на бумаге FN-11, FN-15 в нисходящем токе растворителей. При этом использовали системы растворителей 5-7:

- 1) хлороформ-метанол-вода (26:14:3);
- 2) хлороформ-этанол-вода (26:16:3);
- 3) хлороформ-этанол (9:1);
- 4) хлороформ-этанол (19:1);
- 5) этилацетат-н-пропанол-вода (7:2:1);
- 6) 15% уксусная кислота;
- 7) н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2) и (4:1:5).

Обнаружение пятен проводили УФ-облучением (254 и 366 нм) до и после обработки хроматограмм 1% спиртовым раствором AlCl_3 (флавоноиды и антраценпроизводные), обработкой 1% спиртовым раствором FeCl_3 , растворами с основными свойствами (NaOH , Na_2CO_3), над парами аммиака

(антраценпроизводные); свежеприготовленным раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе натрия карбоната (фенольные соединения); 20% раствором кислоты серной с последующим нагреванием при 100-120 °С (стерины и др. терпеноиды) [32, 33, 59, 60].

2.2.4. Метод спектрометрии

Спектрометрическое исследование проводили для качественной и количественной оценки содержания суммы антраценпроизводных корней щавеля конского. Для этих целей использовали метод прямой и дифференциальной спектрометрии на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena) в кюветах с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служил спирт этиловый 40 %, 70 %, 95 % и вода.

Кроме того, спектроскопию (с использованием различных ионизирующих и комплексообразующих добавок) применяли для идентификации выделенных веществ в совокупности с данными результатов химических превращений, данных ¹H-ЯМР-, масс- и ИК-спектров [42, 54, 118].

2.2.5. ¹H-ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия

¹H-ЯМР - спектры получали на приборах «Bruker AM 300» (300 МГц). Масс-спектры электронного удара регистрировали на масс-спектрометре «Kratos MS-30» при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и варьировании температуры ионного источника от 100 до 250 °С.

Определение температуры плавления выделенных веществ осуществляли на блоке Кофлера.

2.2.6. Химические методы, использованные для идентификации групп БАС и индивидуальных соединений, выделенных из корней щавеля конского

Качественные реакции на антрагликозиды:

1) Реакция образования солей – фенолятов

А) Реакция на цельное сырье: при смачивании сырья - корней щавеля конского 1-2 каплями 10% раствора натрия гидроксида наблюдается кроваво-красное окрашивание [32, 33, 59, 60, 61].

Б) Реакция с водяным извлечением (1:10) из сырья: при добавлении к водному извлечению из корней щавеля конского нескольких капель 10% раствора натрия гидроксида образуется вишнево-красное окрашивание [32, 33, 59, 60, 61].

2) Реакция Борнтрегера

Порошок сырья в количестве до 1,0 г несколько минут кипятят с 12 мл 10% спиртового раствора гидроксида натрия, затем фильтруют. После охлаждения фильтрат подкисляют кислотой хлороводородной, разведенной до слабокислой реакции, далее прибавляют 12 мл диэтилового эфира. Эфирный слой окрашивается в желтый цвет. 7 мл эфирного извлечения взбалтывают с 7 мл раствора аммиака, который окрашивается в вишневый цвет (эмодины), а эфирный слой остается желтым (хризофанол) [32, 33, 59, 60, 61].

3) Реакция микровозгонки

При микровозгонке порошка корней щавеля конского (помещен в пробирку, накрытую часовым стеклом, дно которой нагревается на пламени спиртовки) на холодном часовом стекле и стенках пробирки образуется кристаллический желтый налет, который от прибавления 10 % спиртового раствора натрия гидроксида приобретает вишневое окрашивание [32, 33, 57, 58, 59].

4) Реакция комплексообразования

Реакция со спиртовым извлечением (1:10): при добавлении к спиртовому извлечению спиртового раствора магния ацетата появляется красно-оранжевая окраска, что свидетельствует о наличии 1,8-диоксипроизводных в спиртовом извлечении [32, 57, 59].

Кислотный гидролиз антрагликозидов:

0,05 г измельченного сырья нагревают с 7,5 мл кислоты уксусной ледяной на кипящей водяной бане в течение 20 мин. Полноту гидролиза контролируют методом ТСХ. Из охлажденной реакционной смеси отфильтровывают кристаллы агликона через взвешенный стеклянный фильтр, а в случае некристаллического агликона его извлекают из кислотного гидролизата хлороформом. Водный раствор упаривают в вакууме и используют для идентификации углеводов методом БХ.

Ферментативный гидролиз антрагликозидов:

5 мг 1-О-β-D-глюкопиранозида эмодина термостатируют в течение 24-48 часов с 1 мг β-глюкозидазы («Serva»). Из гидролизата агликон выпадает в осадок, его отделяют и анализируют методом ТСХ, масс-спектрометрии и другими методами, а в водном растворе методом БХ идентифицируют углевод (глюкоза).

Реакции на флавоноиды:

1) Цианидиновая реакция (проба Синода)

К 1-2 мг корней щавеля конского в 1 мл спирта прибавляют 5 капель концентрированной кислоты хлороводородной и 5-10 мг магния (цинка). Образуется красно-малиновое окрашивание (флавоноиды) [32, 33, 59].

Цианидиновая реакция по Брианту. К 2 мл водно-спиртового извлечения изучаемого сырья прибавляют 5-7 капель кислоты хлороводородной концентрированной и 10-15 г металлического магния. Появляется розовое окрашивание, указывающее на присутствие веществ флавоноидной природы. К окрашенному раствору прибавляют 1 мл бутанола и встряхивают пробирку. При этом органическая фаза приобретает розовое окрашивание, более слабое, чем окрашивание водной фазы, что говорит о преобладании гликозидов над агликонами [30, 31, 32, 59, 60].

2) Борно-лимонная реакция (реакция Вильсона-Таубека)

5-оксифлавоны и 5-оксифлавонолы, взаимодействуя с борной кислотой в присутствии лимонной кислоты (реактив Вильсона), образуют желтую

окраску с красноватой флюоресценцией в УФ-свете. При замене лимонной кислоты на щавелевую (реактив Таубека) в УФ-свете отмечается зеленая или желтая флюоресценция [30, 31, 32, 59, 60].

ГЛАВА 3. АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО

Как известно, одним из основных методов подтверждения подлинности лекарственного растительного сырья (ЛРС) является метод морфолого-анатомического анализа.

В описанных в литературе исследованиях по микроскопии корней щавеля конского отсутствует сравнительная характеристика морфолого-анатомических признаков корневища, главного, боковых и придаточных корней, из которых состоит лекарственное растительное сырье.

В целях разработки раздела «Микроскопия» в проекте ФС на корни щавеля конского нами проведено сравнительное анатомо-морфологическое изучение подземных органов щавеля конского.

Материалом исследования служили корни щавеля конского, собранные на территории Самарской и Пензенской областях (в т.ч. культивируемые в Ботаническом саду г. Самара на фармакопейном участке ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, 2009 – 2012 гг.). Пробоподготовку образцов корней проводили в соответствии с ГФ СССР XI издания. В процессе анализа весь заготовленный материал был разделен на три группы, при этом критерием разделения являлся диаметр сечения. В частности, к первой группе были отнесены относительно мелкие боковые корни диаметром 3-5 мм, ко второй – апикальная часть главного корня диаметром не более 7 мм. Третьей группой являлись базальные части центрального корня, достигающие в диаметре 21 мм.

Анатомо-гистологические исследования осуществлены в соответствии с методиками, описанными в литературе и приведенными в гл. 2. Для обнаружения диагностических признаков в тканях подземных органов растения использовали следующие гистохимические реакции:

- 1) с раствором сернокислого анилина на лигнифицированные оболочки (окрашиваются в желтый цвет);

2) с раствором Люголя на крахмал и крахмальные зерна (окрашиваются в синий, сине-фиолетовый цвет);

3) с 33% водным раствором натрия гидроксида на опробковевшие оболочки (суберин) (окрашиваются в красный цвет).

Исследование образцов корней позволило подтвердить, что анатомически корни щавеля конского имеют вторичное строение (рис. 2).

При исследовании анатомических признаков установлено, что корни на поперечном срезе имеет округлую форму. Корни состоят из тканей центрального цилиндра и первичной коры, с поверхности находится перидерма (пробка) (рис. 2).

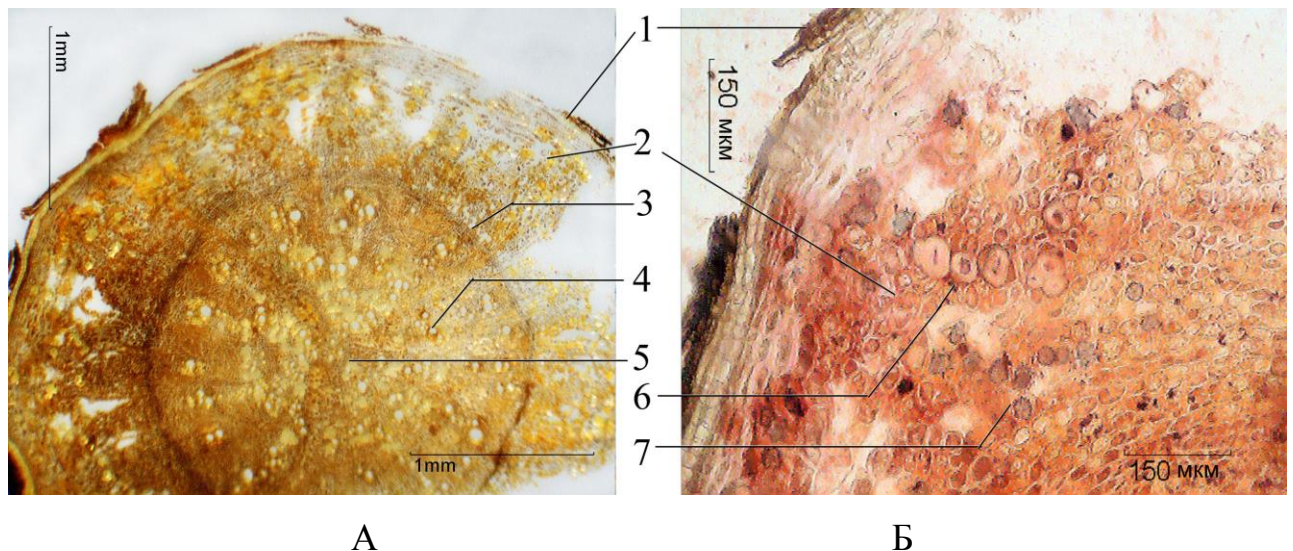


Рисунок 2 – **Корень щавеля конского диаметром 3-5 мм.** Поперечный срез. А – общий вид ($\times 20$); Б – фрагмент коры ($\times 100$). Окраска раствором щелочи.

Обозначения: 1 – пробка; 2 – паренхима коры; 3 – камбий; 4 – сосуды ксилемы; 5 – первичная ксилема; 6 – каменистые клетки; 7 – друзы.

Анализ корней диаметром 3-5 мм позволил выявить ряд диагностических признаков. Так, покровная ткань корней вторичного строения представлена пробкой (рис. 2). Пробковый слой состоит не только из старых слущивающихся слоев, но также имеет новые слои, состоящие из ровных 3-5 рядов клеток правильной прямоугольной формы.

В качестве основной гистохимической реакции на антраценпроизводные использована окраска 33 % раствором натрия гидроксида. Следует заметить, что пробка не окрашивается в красный цвет под воздействием реактива (рис.

2). Это дает основание предположить, что в покровных тканях не накапливаются антраценпроизводные.

Глубже, вслед за пробкой, располагается основная паренхима коровой части корня, отдельные клетки которой окрашены в красный цвет, что обусловлено наличием антраценпроизводных. Прямоугольные клетки коровой паренхимы имеют более или менее утолщенные клеточные стенки и неправильное очертание полостей. Они располагаются рядами от 8 до 10 (рис. 2).

В коровой паренхиме встречаются друзы оксалата кальция округлые по форме. Они многочисленны, как правило, собранные в небольшие группы (рис. 3).

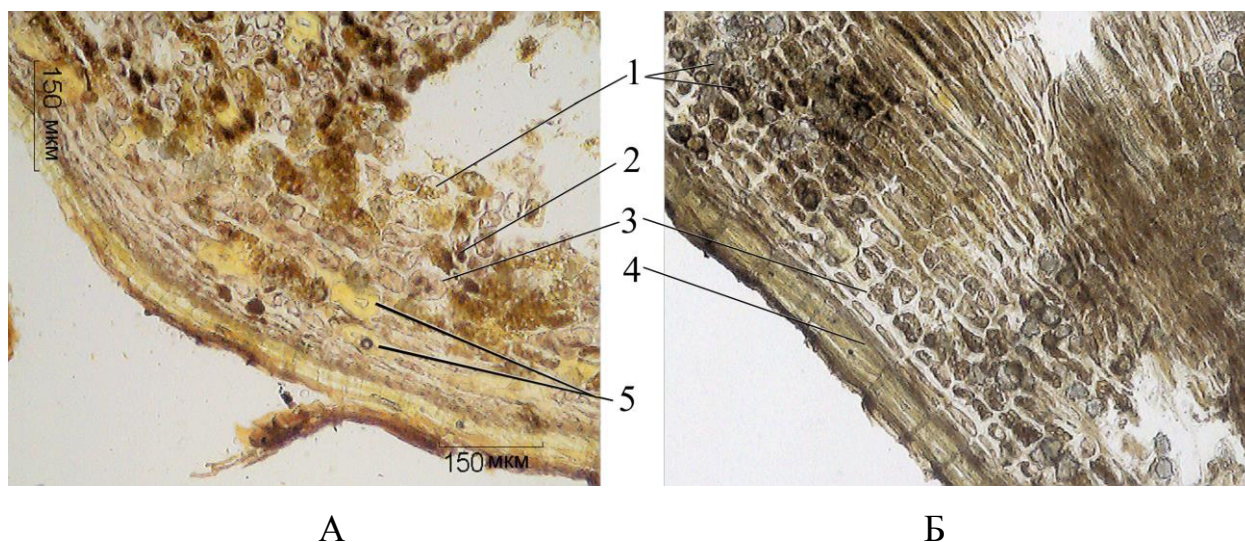


Рисунок 3 – **Кора корня щавеля конского диаметром 3-5 мм ($\times 100$)**

А – поперечный срез; Б – продольный срез.

Обозначения: 1 – друзы; 2 – паренхима коровой части; 3 – утолщенные стенки клеток; 4 – пробка

На продольном срезе коровой части хорошо видны элементы механической ткани – склереиды (рис. 4). Они представлены клетками округлой формы, нативно желтого цвета со щелевидным просветом посередине. В клеточных стенках склереид отсутствуют или изредка видны поровые каналы (рис. 4).

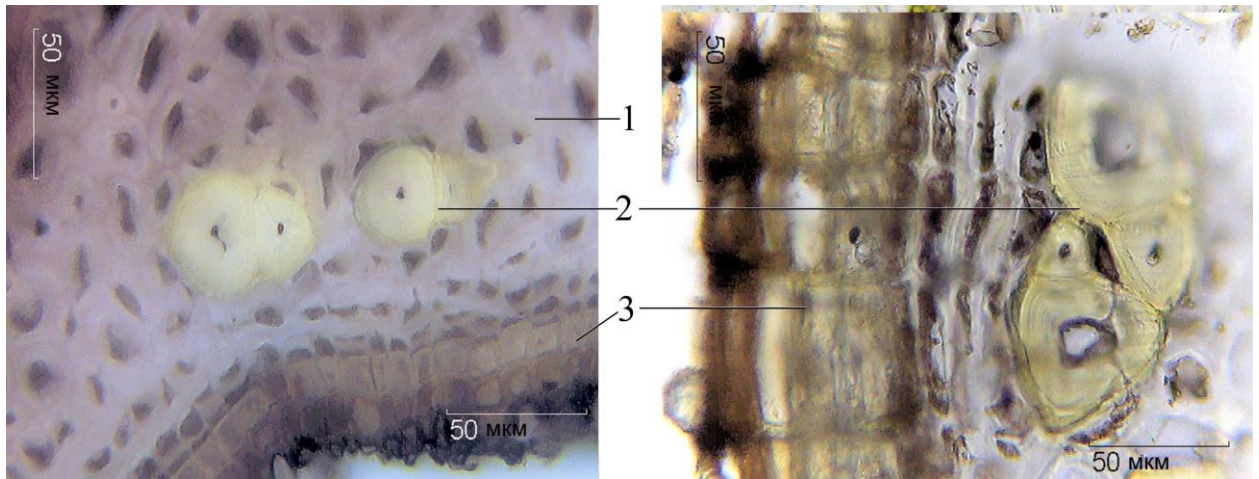
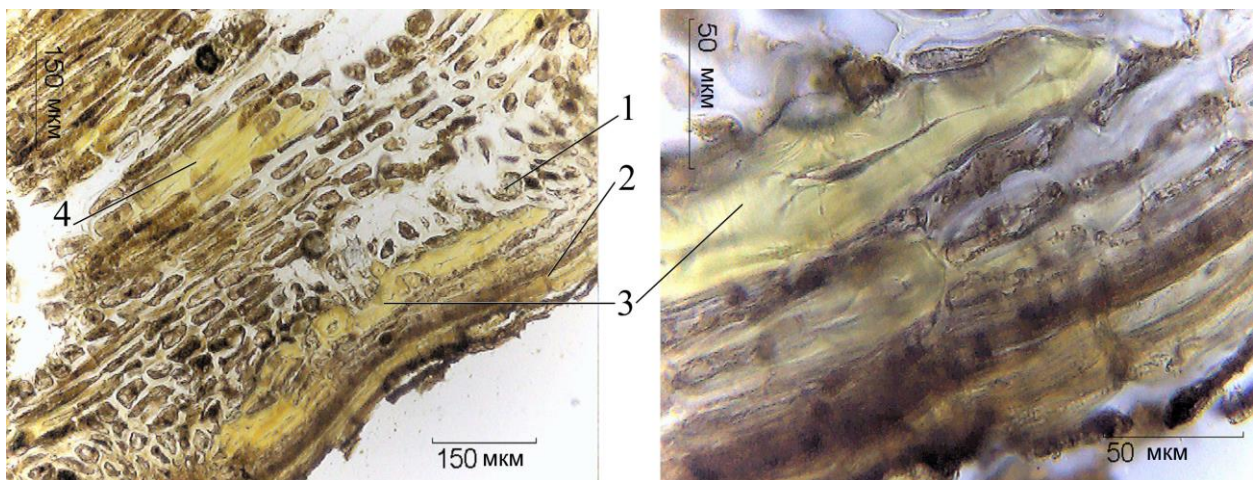


Рисунок 4 – **Склереиды корня щавеля конского.** Продольный срез ($\times 400$)
 Обозначения: 1 – паренхима коровой части; 2 – склереиды; 3 – пробка.

С точки зрения диагностики корней щавеля конского, важно отличать склереиды от лубяных волокон, которые локализуются во флоэме корня (рис. 5). Лубяные волокна в поперечном сечении напоминают склереиды, однако они имеют продолговатую, прозенхимную форму, что хорошо заметно на продольном срезе (рис. 5). Волокна исходно желтого цвета с утолщенными клеточными стенками располагаются как одиночно, так и группами (рис. 5).



А

Б

Рисунок 5 – **Коровая часть корня щавеля конского.** Продольный срез.

А – общий вид ($\times 100$); Б – паренхима коровой части ($\times 400$)

Обозначения: 1 – паренхима коровой части; 2 – пробка; 3 – склереиды; 4 – лубяные волокна.

Для корня вторичного строения характерно наличие камбиального кольца, ярко выделяющегося на поперечном срезе (рис. 2 и 6). К центру от камбия расположены элементы вторичной ксилемы, а к периферии вторичная флоэма. Во вторичной ксилеме хорошо заметны широкие первичные радиальные лучи паренхимы в количестве трех-четырех, достигающие центра корня, первичной ксилемы. В корнях щавеля конского насчитывается четыре луча паренхимы или сердцевинных луча.

Вторичная флоэма корня имеют разрывы, более широкие к периферии, равномерно располагающиеся по радиусу корня (рис. 2 и 6).

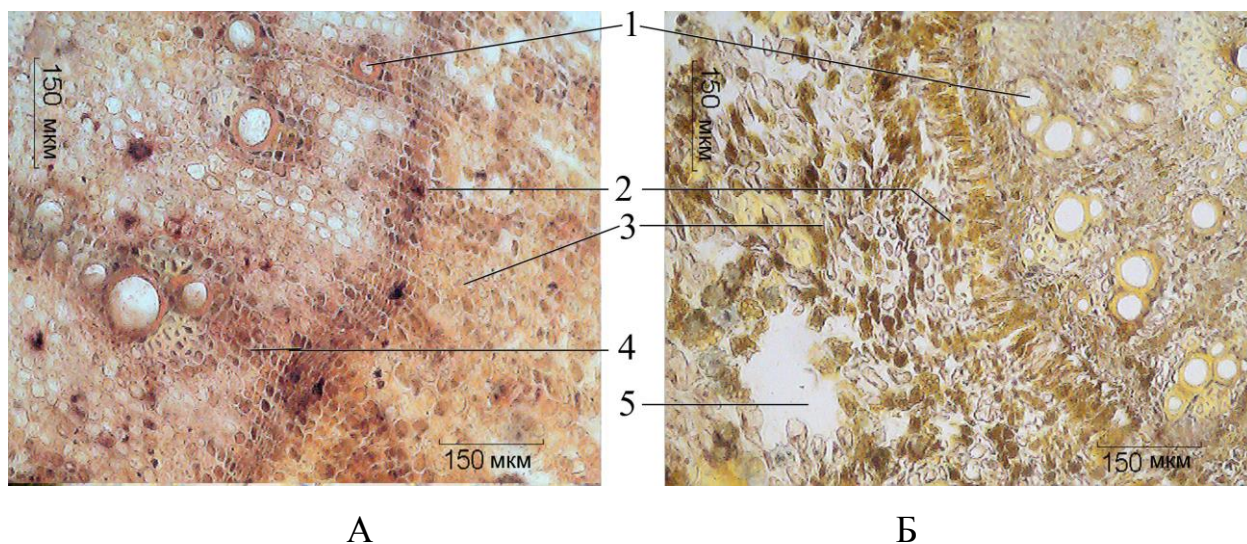


Рисунок 6 – **Ксилема корня щавеля конского диаметром 3-5 мм.**

Поперечный срез ($\times 100$).

А – окраска раствором щелочи; Б – окраска раствором сернокислого анилина.

Обозначения: 1 – сосуды ксилемы; 2 – камбиальное кольцо; 3 – вторичная флоэма; 4 – паренхима ксилемы; 5 – разрыв флоэмы.

Первичная флоэма разрушается по мере нарастания вторичных тканей, а первичная ксилема, представленная несколькими сосудами, сохраняется в центре корня (рис. 7).

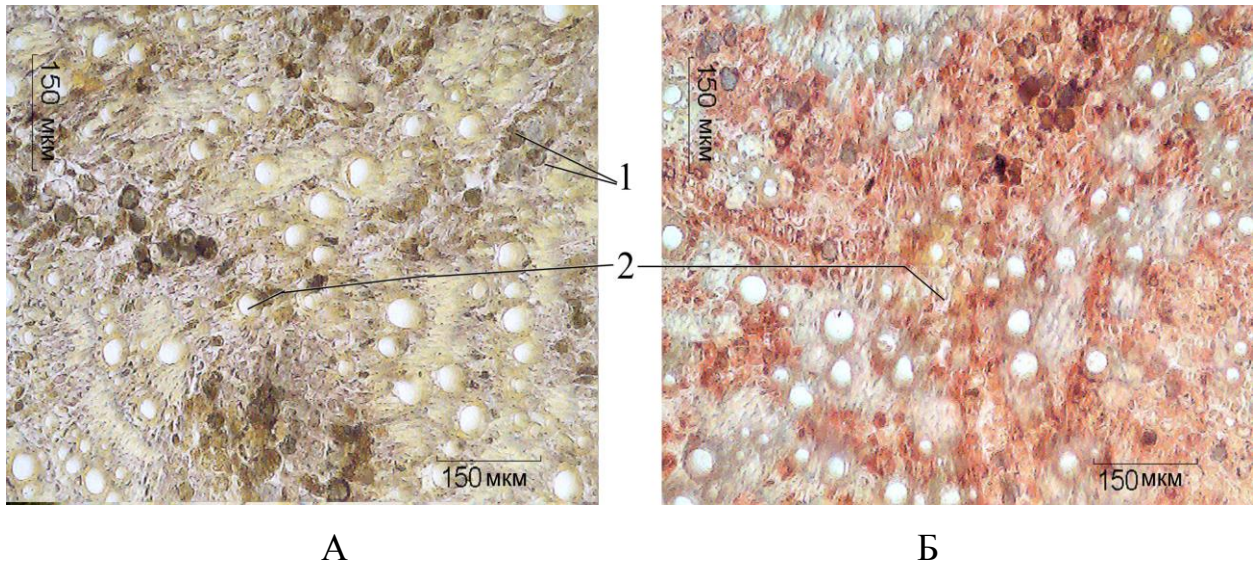


Рисунок 7 – **Первичная ксилема корня щавеля конского (×100).**
Поперечный срез.

А – окраска раствором сернокислого анилина; Б – окраска раствором щелочи.
Обозначения: 1 – друзы; 2 – первичная ксилема.

Сосуды проводящей системы крупные с лестничной и точечной (сетчатой) перфорацией (рис. 8).

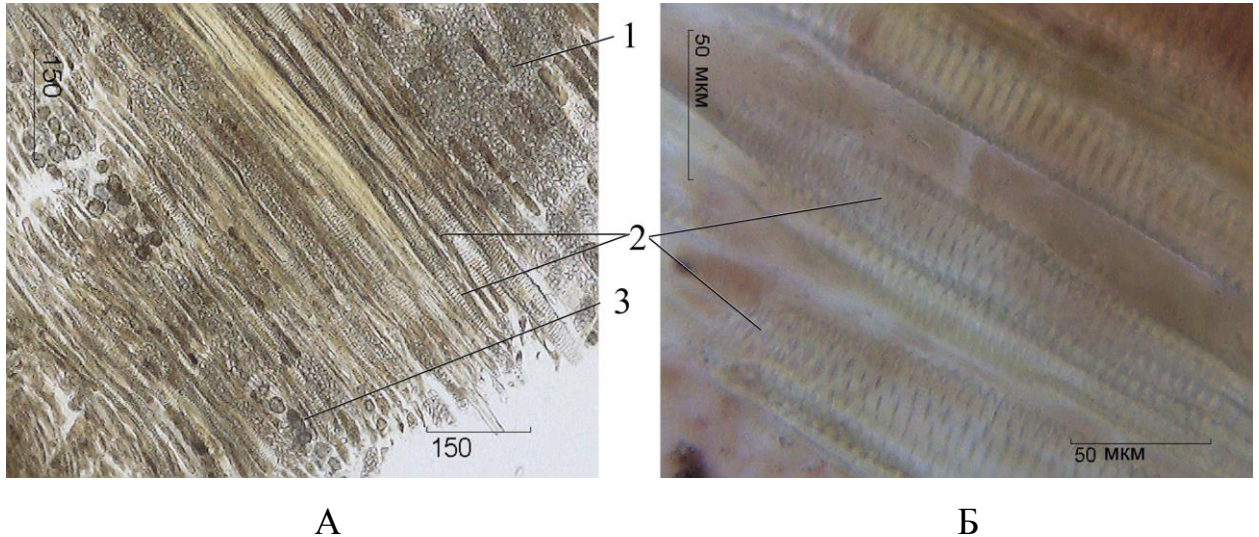
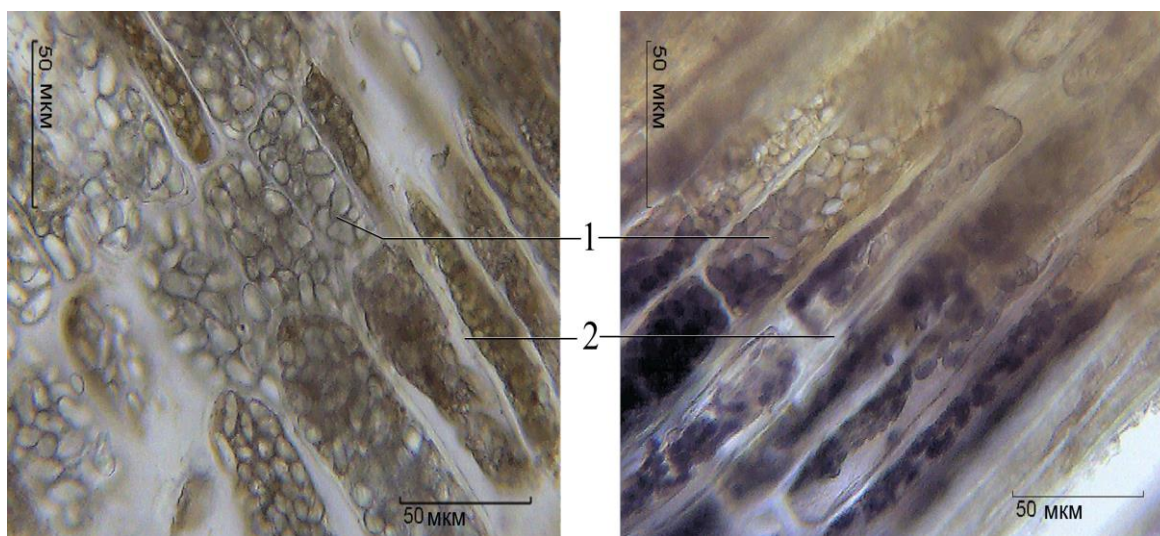


Рисунок 8 – **Ксилема корня щавеля конского диаметром 3-5 мм.**
Продольный срез.

А – общий вид (×100); Б – окраска раствором щелочи (×400) .
Обозначения: 1 – крахмальные зерна в клетках; 2 – проводящие сосуды; 3 – друзы.

В клетках паренхимы коровой части заметны многочисленные мелкие, длиной 19.4-22.2 мкм и шириной 8.3-11.1 мкм крахмальные зерна, окрашивающиеся раствором Люголя в сине-фиолетовый цвет (рис. 9).



А

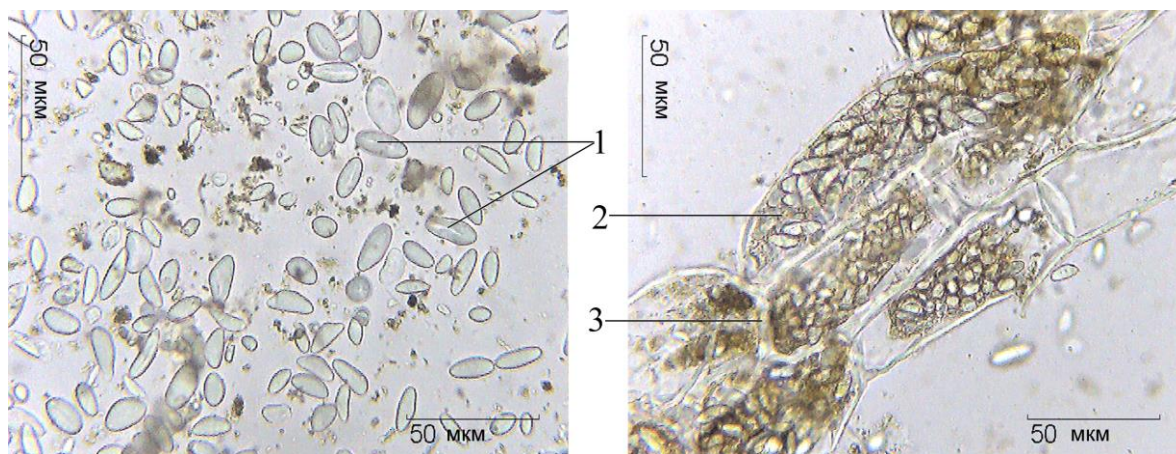
Б

Рисунок 9 – **Крахмальные зерна в клетках паренхимы корня щавеля конского (×400). Продольный срез.**

А – общий вид; Б – окраска раствором Люголя.

Обозначения: 1 – крахмальные зерна в клетках; 2 – клеточная стенка.

Форма крахмальных зерен – диагностический признак: для щавеля конского характерны зерна овальной или эллиптической формы со щелевидной трещиной посередине (рис.10).



А

Б

Рисунок 10 – **Крахмальные зерна корня щавеля конского (×400).**

А – микропрепарат «Мазок»; Б – фрагмент паренхимы коры, поперечный срез.

Обозначения: 1- крахмальные зерна с трещиной; 2- клетки с крахмальными зернами; 3- клеточная стенка.

При анализе корней большого диаметра (диаметром 7 мм–21 мм) выявлено строение, аналогичное строению более молодых корней (диаметр 3-5 мм) (рис.11).

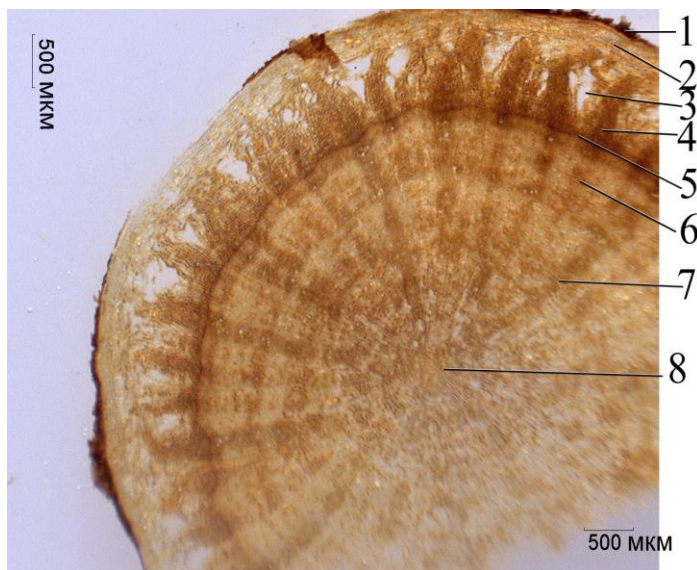


Рисунок 11 – **Корень щавеля конского диаметром 7 мм.** Поперечный срез (×20).
 Обозначения: 1- пробка; 2- паренхима коровой части; 3 – разрыв флоэмы; 4- область флоэмы; 5 – камбиальное кольцо; 6 – паренхима ксилемы; 7 – сердцевинный луч; 8 – первичная ксилема.

Таким образом, дополнительно к уже установленным (и включенным ранее в нормативную документацию) морфолого-анатомическим признакам, по результатам настоящих исследований следует считать диагностически значимыми склереиды, находящиеся на продольном срезе коровой части корня щавеля конского (их важно отличать от лубяных волокон) и особенности локализации антраценпроизводных: в основной паренхиме вторичной коры и паренхиме сердцевинных лучей (устанавливается гистохимической реакцией со щелочью).

Выявление всей совокупности признаков позволяет объективно установить не только родовую принадлежность производящего растения, но и видовую и, тем самым, исключить присутствие в сырье близкородственных видов (недопустимыми примесями являются щ. курчавый, щ. пирамидальный, щ. длиннолистный, щ. водяной, щ. воднощавелевый).

Выводы к главе 3:

1. Проведен сравнительный анатомо-гистологический анализ корней щавеля конского разных диаметров с использованием цифровой микроскопии, который позволил подтвердить имеющиеся данные об особенностях их строения, а также выявить дополнительные диагностические признаки.
2. Впервые описаны склереиды, находящиеся на продольном срезе коровой части корня щавеля конского, которые важно отличать от лубяных волокон.
3. С использованием гистохимической реакции с 33% раствором натрия гидроксида выявлены особенности локализации антраценпроизводных - в основной паренхиме вторичной коры и паренхиме сердцевинных лучей.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО

4.1. Препаративное разделение и очистка веществ; установление структуры и изучение физико-химических свойств выделенных соединений

С учетом сложного химического состава корней щавеля конского для выделения индивидуальных соединений, их разделения и очистки потребовалось сочетание различных хроматографических и экстракционных методов (рис. 12).

Препаративное разделение суммарных экстрактов осуществлялось с использованием невысоких слоев сорбента (в основном полиамид и силикагель). При этом использовались хлороформно-спиртовые и водно-спиртовые системы в различных соотношениях (гл. 2). Кристаллизация/перекристаллизация веществ проводилась с помощью спирта этилового, метилового, гексана, хлороформа и воды. Отсутствие примесей в получаемых соединениях контролировалось методами ТСХ и ВЭЖХ.

Измельченные до размера частиц 1,0 мм воздушно-сухие корни щавеля конского (заготовлены на фармакопейном участке Ботанического сада г. Самара) в количестве 200,0 г подвергали исчерпывающему экстрагированию спиртом этиловым 70 % в соотношении 1:3 методом модифицированной мацерации (гл.2, раздел 2.2.2). Полученные извлечения объединяли для последующего хроматографического разделения и очистки. Водно-спиртовые экстракты упаривали под вакуумом до густого остатка (около 50 мл). Сгущенный экстракт высушивали на силикагеле L 40/100 и полученный порошок (экстракт + силикагель) наносили на слой силикагеля, сформированный в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этанол в различных соотношениях (99:1; 98:2; 97:3; 95:5; 93:7; 90:10; 85:15; 80:20; 70:30; 60:40, 50:50).

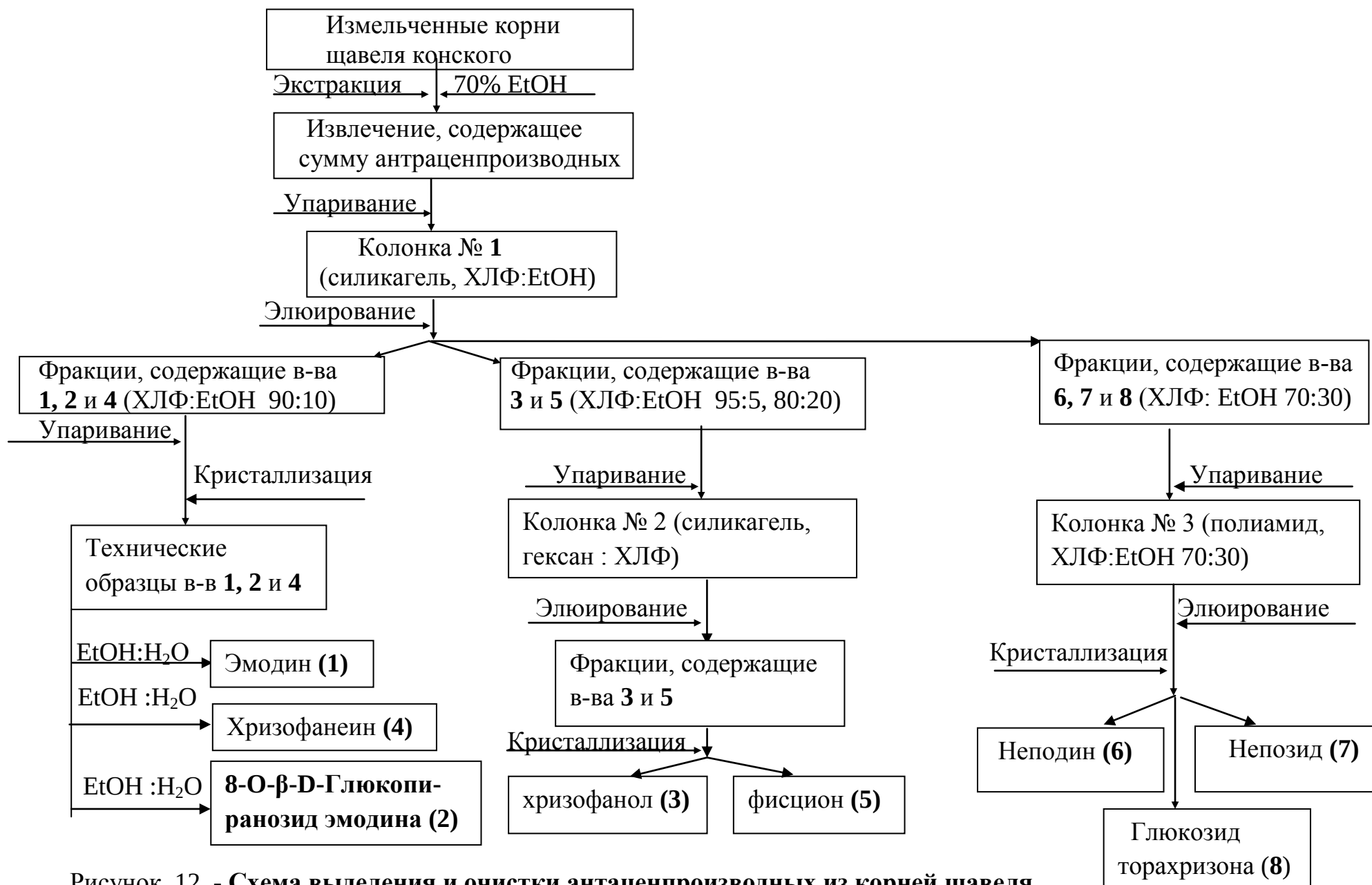
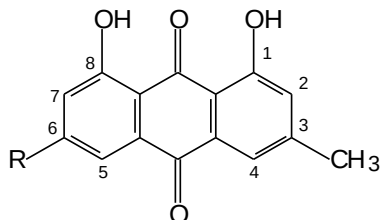


Рисунок 12 - Схема выделения и очистки антаценпроизводных из корней щавеля конского и получения 8-О-β-D-глюкозид эмодина

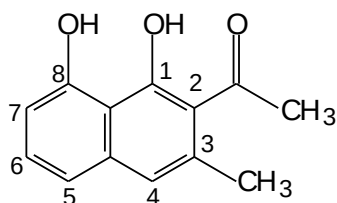
Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Silufol UV 254» и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системах хлороформ-этанол (9:1), хлороформ-метанол-вода (26:14:3), а также н-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2).

Соответствующие фракции, содержащие вещества **1**, **2** и **4**, были объединены, а выпавшие из них осадки отделены и затем перекристаллизованы из водного спирта (вещества **2** и **4**) или из смеси хлороформ-гексан (вещество **1**).

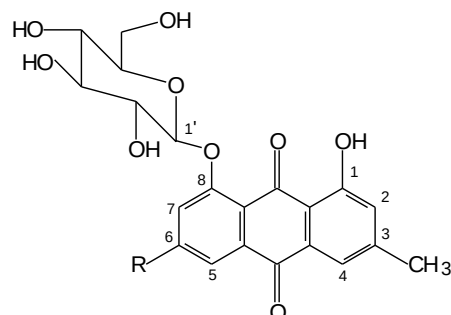
Фракции, содержащие вещества **3** и **5**, с целью их выделения подвергали рехроматографированию на колонке с силикагелем L 40/100 с использованием смеси гексана и хлороформа в градиентном режиме. Очистку веществ **6**, **7** и **8** осуществляли рехроматографией на колонке с полиамидом «Woelm» (Германия), элюируя смесями хлороформ - спирт в различных соотношениях.



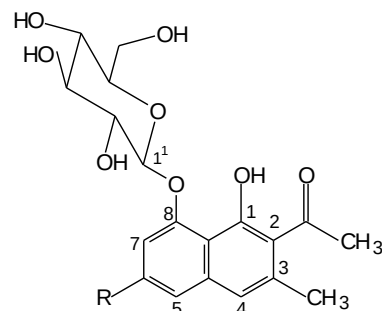
Эмодин (**1**): R = OH;
Хризофанол (**3**): R = H;
Фисцион (**5**): R = OCH₃



Неподин (**6**)



8-O-β-D-Глюкопиранозид эмодина (**2**):
R = OH; Хризофанеин (**4**): R = H



Непозид (**7**): R = H;
8-O-β-D-Глюкопиранозид торахризона (**8**):
R = OCH₃

Спектры ЯМР- ^1H получали на приборах «Bruker AM 300» (300 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

Эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон) (**1**). Игольчатые кристаллы оранжевого цвета состава $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$, Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): M+ 270 (100 %), 255 (3 %), 253 (8), 242 (7), 241 (23), 214 (4), 213 (17), т.пл. 254-255 оС (хлороформ-EtOH). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 222, 250, 268, 290, 439, 461 нм. Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.38 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-3), 6.55 (1H, д, J=2.5, H-7), 7.09 (2H, с, H-2 и H-4), 7.45 (1H, д, J=2.5, H-5), 11.19 (1H, уш. с, 6-ОН-группа), 11.92 и 12.00 (1H, с, ОН-группы при C-1 и C-8).

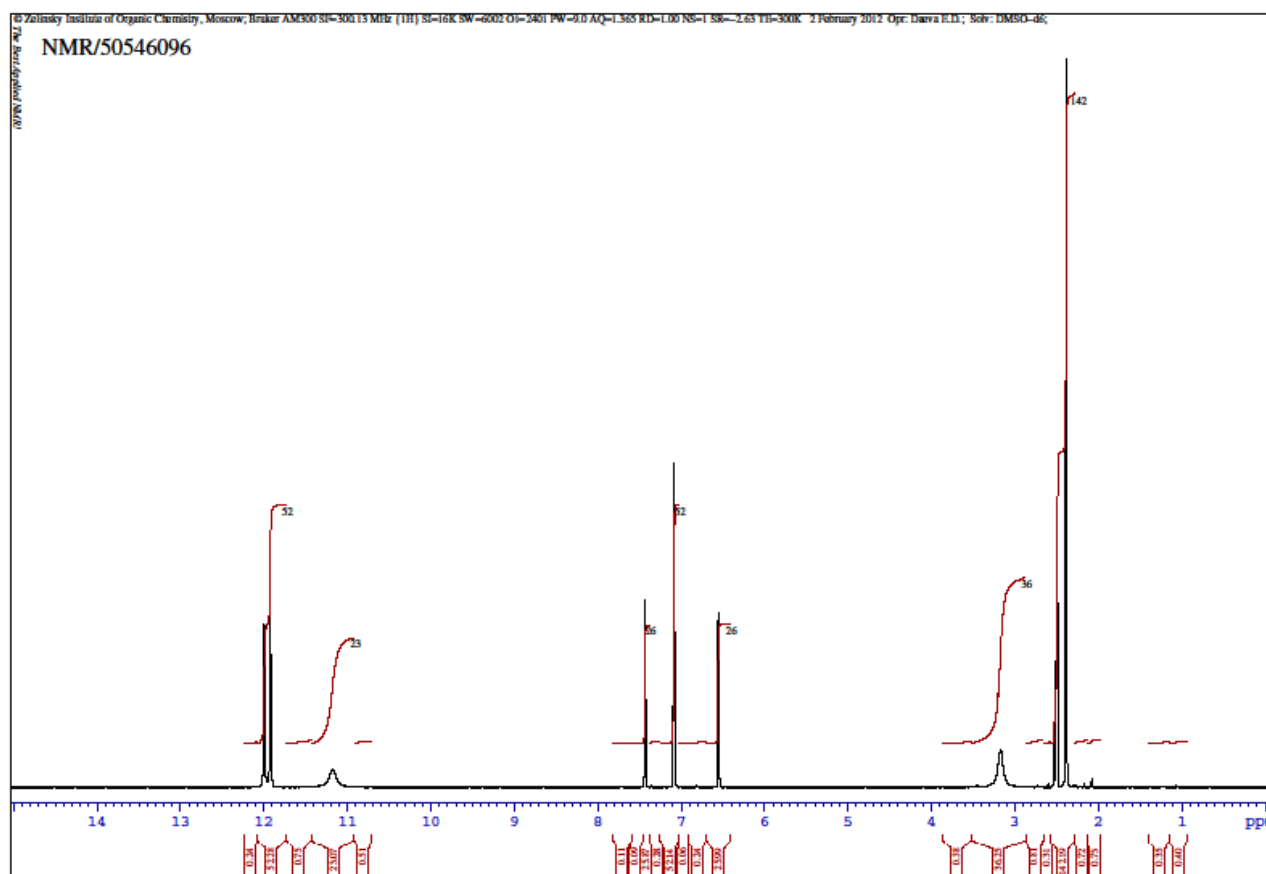


Рисунок 13 - ^1H -ЯМР спектр эмодина в дейтерированном ДМСО

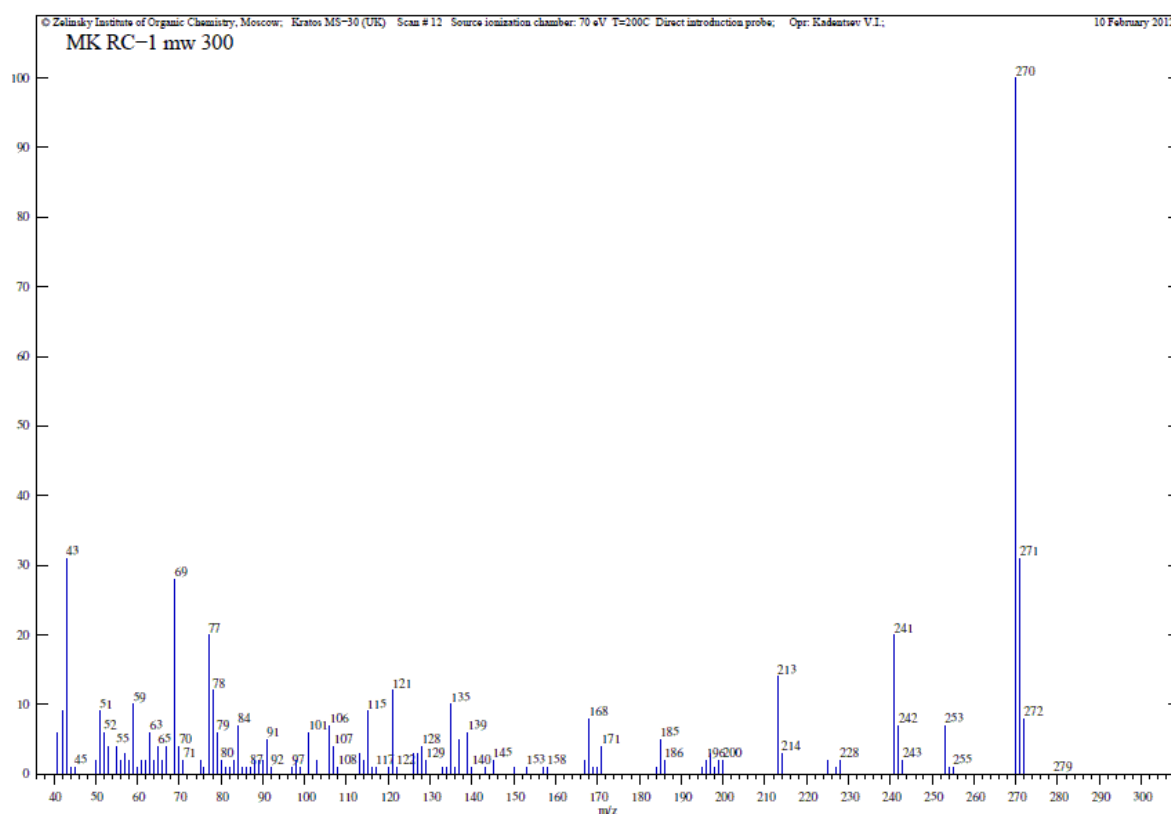


Рисунок 14 - Масс-спектр эмодина

8-О-β-D-глюкопиранозид эмодина (2). Кристаллы оранжевого цвета состава $C_{21}H_{20}O_{10}$, Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z , %): M^+ агликона 270 (30 %), 256 (100 %), т.пл. 189-192 °C (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 222, 272пл, 285, 422. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.41 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-3), 3.2-4.3 (6H глюкопиранозы), 5.13 (1H, д, $J = 7$, H-1¹ глюкопиранозы), 7.00 (1H, д, $J = 2.5$, H-7), 7.14 (1H, с, H-2), 7.28 (1H, д, $J = 2.5$, H-5), 7.45 (1H, с, H-4), 11.22 (1H, уш. с, 6-ОН-группа), 13.17 (1H, с, 1-ОН-группа). При кислотном и ферментативном гидролизе 8-О-β-D-глюкопиранозид эмодина расщепляется на глюкозу и агликон (1), идентифицированный как 1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон: M^+ агликона 270 (100 %).

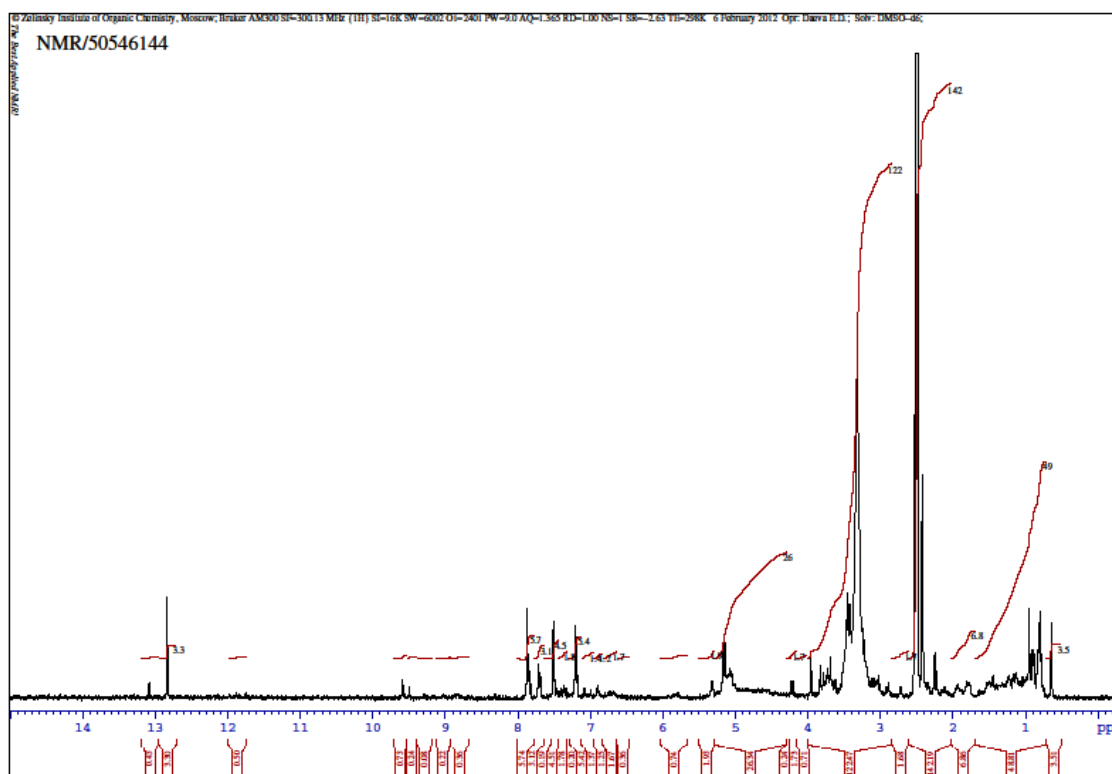


Рисунок 15 - ^1H -ЯМР спектр 8-О- β -D-глюкопиранозид эмодина в дейтерированном ДМСО

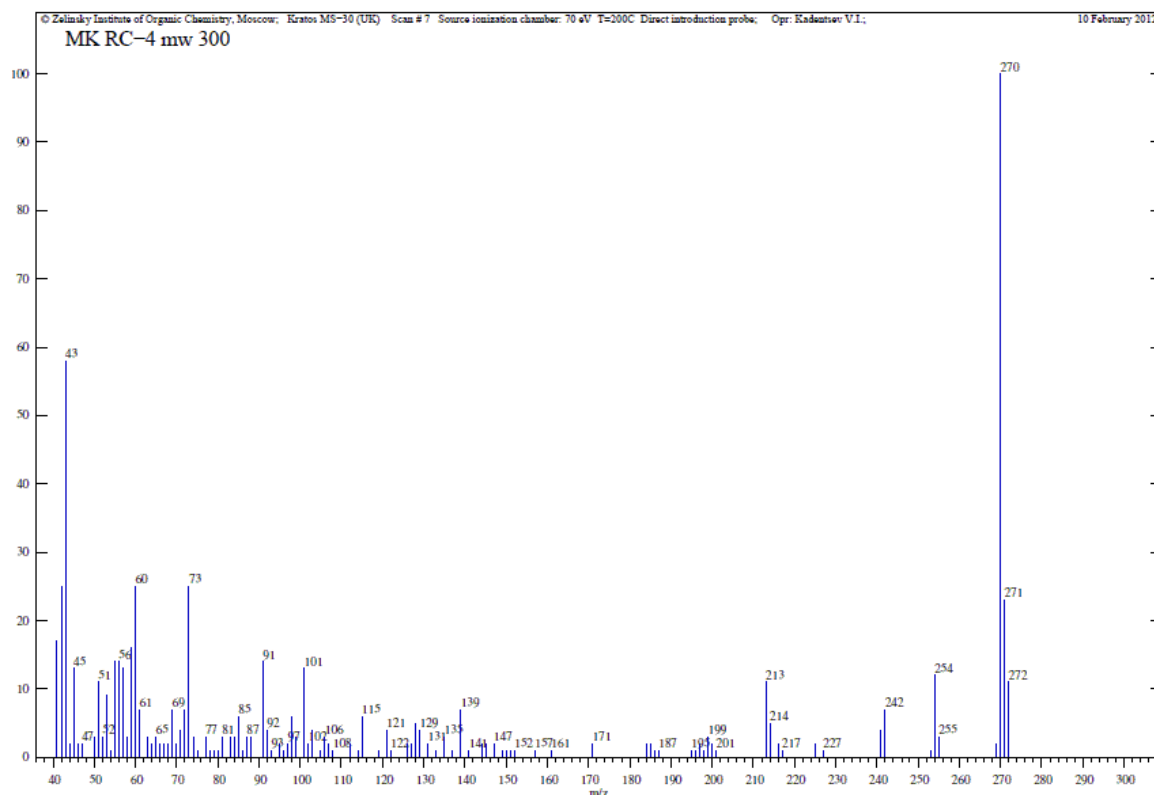


Рисунок 16 - Масс-спектр 8-О- β -D-глюкопиранозид эмодина

Хризифанол (1,8-дигидрокси-3-метилантрахинон) **(3)**. Игольчатые кристаллы оранжевого цвета состава $C_{15}H_{10}O_4$, Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): M^+ 254 (100 %), 237 (5), 231 (14), 226 (12), 201 (15), 197 (14), т.пл. 193-195 °C (хлороформ-EtOH). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 224, 257, 287, 430. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.43 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-3), 7.18 (1H, с, H-2), 7.35 (1H, дд, J = 1.0 и 7.5, H-7), 7.52 (1H, с, H-4), 7.67 (1H, дд, J = 1.0 и 7.5, H-5), 7.79 (1H, т, J = 7.5, H-6), 11.85 (1H, с, 5-ОН группы), 11.92 и 12.00 (1H, с, ОН группы при C-1 и C-8).

Хризифанеин - 8-О- β -D-глюкопиранозид хризифанола (4). Кристаллы оранжевого цвета состава $C_{21}H_{20}O_9$, Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): M^+ агликаона 254 (100 %), 236 (3), 226 (6), 201 (4), 197 (5), т.пл. 243-246 °C (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 222, 258, 284, 412. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.41 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-3), 3.2-4.3 (6H глюкопиранозы), 5.15 (1H, д, J = 7.2, H-1¹ глюкопиранозы), 7.16 (1H, с, H-2), 7.52 (1H, с, H-4), 7.72 (1H, дд, J = 1.0 и 7.5, H-7), 7.85 (1H, т, J = 7.5, H-6), 7.87 (1H, дд, J = 1.0 и 7.5, H-5), 12.80 (1H, с, 1-ОН-группа), 11.92 и 12.00 (1H, с, ОН-группа при C-1). При кислотном и ферментативном гидролизе 8-О- β -D-глюкопиранозид хризифанола расщепляется на глюкозу и агликон **(3)**, идентифицированный как 1,8-дигидрокси-3-метилантрахинон: M^+ агликаона 254 (100 %).

Фисцион (1,8-тригидрокси-6-метокси-3-метилантрахинон) **(5)**. кристаллы оранжевого цвета состава $C_{16}H_{12}O_5$, Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z, %): M^+ 284 (100 %), 256 (3), 241 (8), т.пл. 203-205 °C (хлороформ-EtOH). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 224, 256, 265, 288, 434. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.41 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-3), 3.93 (3H, с, ароматическая OCH_3 -группа при C-6), 6.82 (1H, д, J = 2.5, H-7), 7.09

(1H, с, Н-2), 7.14 (1H, д, $J = 2.5$, Н-5), 7.48 (1H, с, Н-4), 11.85 (1H, с, 5-ОН группы), 11.91 и 12.12 (1H, с, ОН группы при С-1 и С-8).

Неподин (1,8-дигидрокси-2-ацетил-3-метилнафталин) **(6)**. Кристаллы светло-желтого цвета состава $C_{13}H_{12}O_3$. Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z , %): M^+ 216 (100 %), 202 (18), 201 (70), 198 (34), 197 (18), 155 (23), 11 (46), т.пл. 162-164 °C (хлороформ-гексан). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 228, 266, 304, 320, 335. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.26 (3H, с, ароматическая CH_3 при С-3), 6.76 (1H, дд, $J = 1.0$ и 7.5, Н-7), 7.10 (1H, с, Н-4), 7.21 (1H, дд, $J = 1.0$ и 7.5, Н-5), 7.28 (1H, т, $J = 7.5$, Н-6).

Непозид (8-О- β -D-глюкопиранозид негодина) **(7)**. Бесцветные кристаллы состава $C_{19}H_{22}O_8$. Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z , %): M^+ агликона 216 (100 %), т.пл. 205-207 °C (хлороформ-EtOH). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 228, 266, 304, 320, 335. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.26 (3H, с, ароматическая CH_3 при С-3), 2.50 (3H, с, $COCH_3$ при С-2), 3.2-4.3 (6H глюкопиранозы), 5.09 (1H, д, $J = 7.2$, Н-1¹ глюкопиранозы), 6.76 (1H, дд, $J = 1.0$ и 7.5, Н-7), 7.21 (1H, с, Н-4), 7.28 (1H, т, $J = 7.5$, Н-6), 7.42 (1H, дд, $J = 1.0$ и 7.5, Н-5), 7.45 (1H, т, $J = 7.5$, Н-6), 9.52 (1H, с, ОН-группа при С-1).

8-О- β -D-глюкопиранозид торахризона (1,8-дигидрокси-6-метокси-2-ацетил-3-метилнафталин) **(8)**. Аморфное вещество светло-желтого цвета состава $C_{20}H_{24}O_{10}$. Масс-спектр (70 eV, 200 °C, m/z , %): M^+ агликона 246 (100 %). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 241, 266пл, 332пл, 344. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 2.25 (3H, с, ароматическая CH_3 при С-3), 2.53 (3H, с, $COCH_3$ при С-2), 4.3 (3H, с, ароматическая OCH_3 -группа при С-6), 3.1-4.5 (6H глюкопиранозы), 5.03 (1H, д, $J = 7$, Н-1¹ глюкопиранозы), 6.92 (1H, д, $J = 2$, Н-7), 7.06 (1H, с, Н-4), 6.70 (1H, д, $J = 2$, Н-5), 9.58 (1H, с, ОН-группа при С-1).

Гликозиды **2**, **4**, **7** и **8** расщепляется под воздействием кислотного гидролиза (2 % HCl, 100 °C, 2 часа) и β -глюкозидазы («Fluka», Венгрия) на глюкозу и агликоны, идентифицированные соответственно как эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон) (**1**), хризофанол (1,8-дигидрокси-3-метилантрахинон) (**3**), неподин (1,8-дигидрокси-2-ацетил-3-метилнафталин) (**6**) и торахризон (1,8-дигидрокси-6-метокси-2-ацетил-3-метилнафталин) (**8**). Во всех исследованных гликозидах (**2**, **4**, **7** и **8**) глюкоза присоединена в виде β -D-глюкопиранозильного остатка (характерный дублетный сигнал аномерного протона соответственно при 5.13, 5.15, 5.09 и 5.03 м.д. с J = 7,2 Гц). Отнесение β -D-глюкопиранозильного остатка к ОН-группе при C-8 сделано на основании данных сравнения результатов ЯМР-спектроскопии с литературными данными. Кроме того, в случае присоединения глюкозы к ОН-группе в положении C-6 молекулы эмодина в ЯМР-спектре обнаруживались бы 2 синглетных сигнала хелатированных ОН-групп (при C-1 и C-8).

Физико-химические и спектральные характеристики антрахиноновых агликонов **1**, **3** и **5** позволяют их идентифицировать как эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон) (**1**), хризофанол (1,8-дигидрокси-3-метилантрахинон) (**3**) и фисцион (1,8-тригидрокси-6-метокси-3-метилантрахинон) (**5**).

Таким образом, в результате изучения компонентного состава корней щавеля конского выделены и охарактеризованы с использованием ^1H -ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии антраценпроизводные – 8-O- β -D-глюкозид эмодина, эмодин, хризофанин, хризофанол, фисцион (антрахиноны), 8-O- β -D-глюкопиранозид неподина (непозид), неподин, 8-O- β -D-глюкопиранозид торахризона (производные нафталина).

Определено, что доминирующими компонентами сырья данного растения являются эмодин и 8-O- β -D-глюкопиранозид эмодина. Для

неподина и непозида, выделенных ранее из корней щавеля конского [56, 58, 82, 106], впервые приведены данные ^1H -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а 8-О- β -D-глюкопиранозид торахризона (**8**) впервые описан для корней щавеля конского. Интересно, что соединение **8** было выделено ранее из корней ревеня обыкновенного (*Polygonaceae*) и листьев некоторых видов кассии (*Fabaceae*), что, на наш взгляд, подтверждает мнение ученых относительно того, что гидроксипроизводные нафталина, к которым относятся также неподин (**6**) и непозид (**7**) участвуют в биосинтезе антраценпроизводных.

Основываясь на результатах исследования химического состава, нами предпринята попытка изучить возможности использования высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), в т.ч. для целей стандартизации корней щавеля конского.

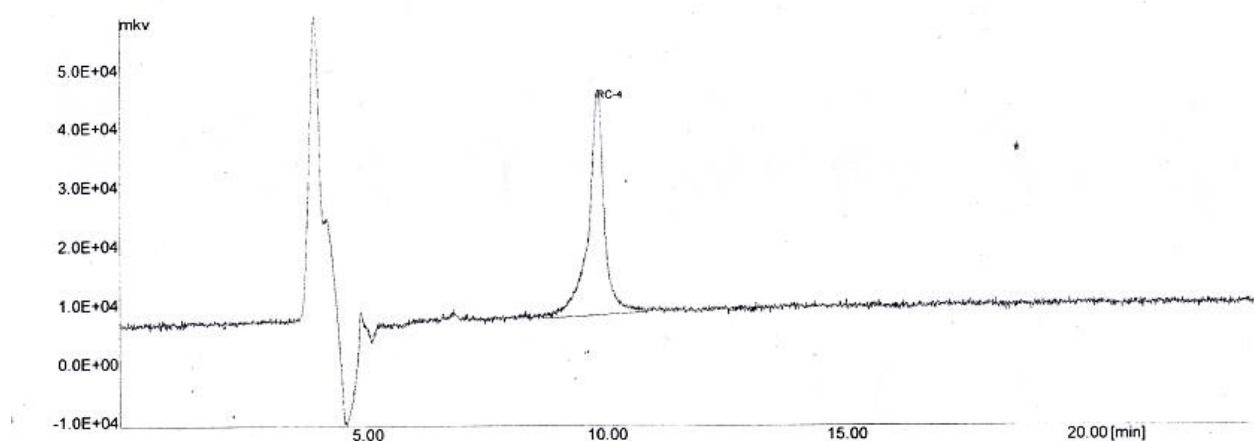
4.2. Исследование химического состава методом ВЭЖХ-анализа

Для сравнительного исследования компонентного состава водно-спиртовых извлечений из корней щавеля конского методом ВЭЖХ использовали индивидуальные вещества, выделенные из сырья растения, а именно: 8-О-β-D-глюкопиранозид эмодина, эмодин, хризофанеин, хризофанол, фисцион, а также производные нафталина - 8-О-β-D-глюкопиранозид неподина (непозид), неподин и 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (раздел 4.1.).

Для приготовления извлечения из корней щавеля конского сырье предварительно измельчили до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Из измельченного сырья делали извлечение следующим образом: около 1 г (точная навеска) измельченного воздушно-сухого сырья, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой и прибавляют 50 мл спирта этилового 70%. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 90 мин. Затем содержимое колбы отстаивают 10 мин., фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой в мерную колбу вместимостью 200 мл. Извлечение повторяют еще 2 раза вышеуказанным способом и после охлаждения фильтрата доводят объем раствора спиртом этиловым 70% до метки.

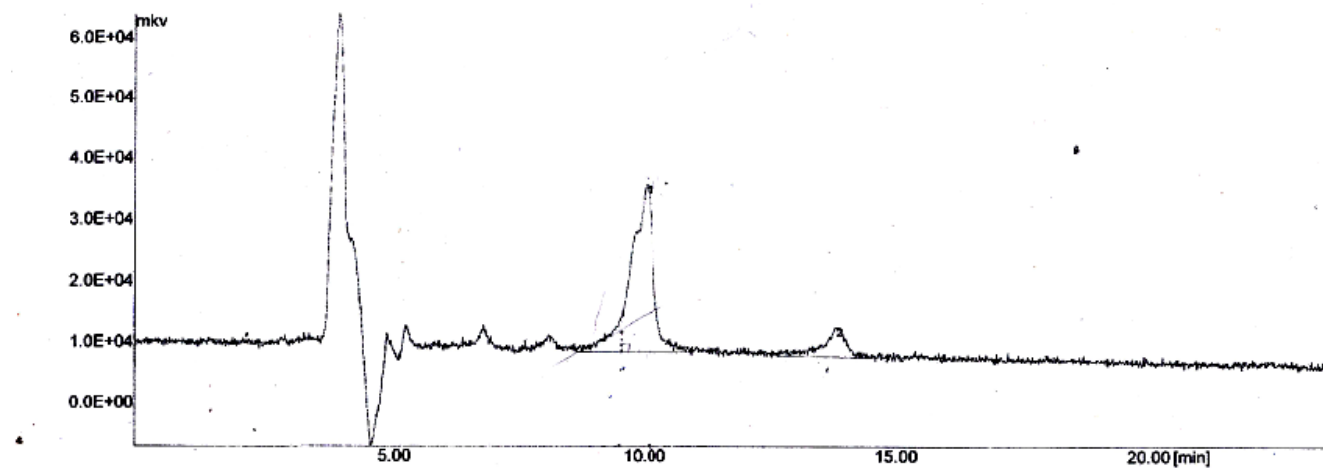
Водно-спиртовое извлечение исследовали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на хроматографе «Милихром-5» (колонка Себсил, «Jasco») в изократическом режиме: стационарная фаза – «Seraon C-18», подвижная фаза – смесь ацетонитрила и воды в различных соотношениях с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты, скорость потока – 0,1 мл/мин; детекция антраценпроизводных проводилась при аналитической длине волны $\lambda_{\max}$ 460 нм. В результате варьирования соотношения компонентов в системе растворителей для получения эффективного разделения анализируемых

веществ были подобраны следующие условия хроматографирования: на используемой хроматографической колонке при скорости потока – 0,1 мл/мин и температуре окружающей среды 20 °С соотношение элюентов ацетонитрила и воды должно составлять 4:6 с добавлением 1% ледяной уксусной кислоты, объем пробы- 2 мкл.



Name	R t	Area	Quantily
RC-4	9,88	996275,500	0,020 mG/L

Рисунок 17 – ВЭЖХ раствора 8-О-β-D-глюкозида эмодина

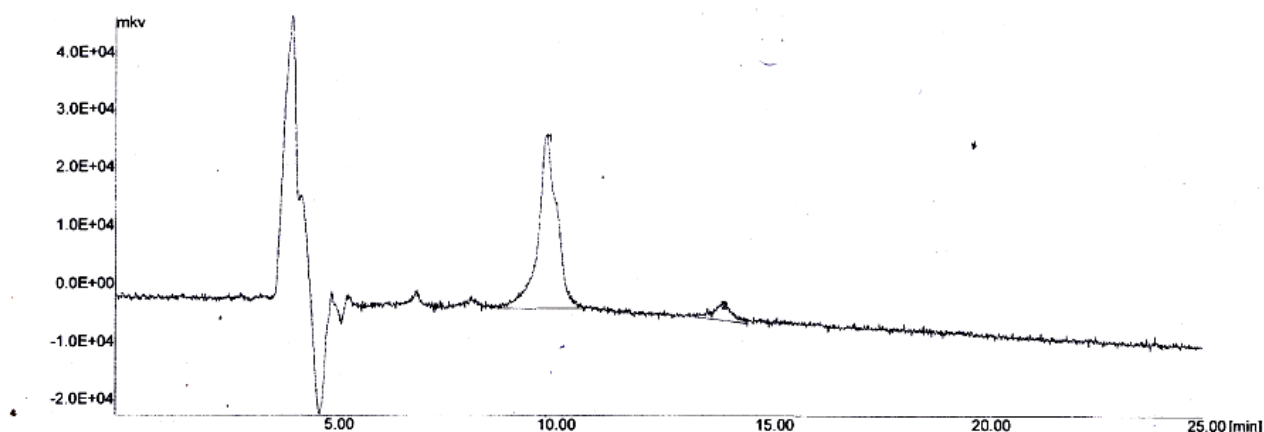


Name	R t	Area	Quantily
1	10,12	902629,750	0,000
2	13,92	162338,000	0,000

Рисунок 18 – ВЭЖХ водно-спиртового извлечения из корней щ. конского

Исследование показало, что доминирующим компонентом водно-спиртовых извлечений из корней щавеля конского является 8-O- β -D-глюкозид эмодина (рис. 17), R t которого практически совпадает с таковым на хроматограмме достоверно известного образца 8-O- β -D-глюкозида эмодина (рис. 17 и 18).

Для дополнительного доказательства соотнесения пика 1 на хроматограмме извлечения с 8-O- β -D-глюкозидом эмодина в вводимую в хроматограф пробу извлечения было добавлено в равном к нему соотношении анализируемое соединение, что привело к пропорциональному увеличению площади пика (рис. 19).



Name	R t	Area	Quantily
1	9,88	889647,000	0,020 mG/mL
2	13,88	88431,750	0,000

Рисунок 19 - ВЭЖХ РСО 8-O- β -D-глюкозидом эмодина и водно-спиртового извлечения из корней щавеля конского

Проведенные исследования показали возможность использования ВЭЖХ для целей качественного анализа сырья щавеля конского и экстракционных препаратов на основе обсуждаемых соединений, а доминирующий антрагликозид 8-O- β -D-глюкозид эмодина в качестве вещества-стандарта, в т.ч. в сложных, спорных случаях - для его количественного определения.

Выводы к главе 4:

1. Из корней щавеля конского методом адсорбционной колоночной хроматографии и последующей кристаллизации и перекристаллизации выделено 8 индивидуальных соединений: антраценпроизводные – 8-О-β-D-глюкозид эмодина, эмодин, хризофанеин, хризофанол, фисцион (антрахиноны), 8-О-β-D-глюкопиранозид неподина (непозид), непедин, 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (производные нафталина), для которых с использованием ¹H-ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии установлена структура и с использованием соответствующего набора методов изучены физико-химические характеристики.

2. Определено, что доминирующими компонентами сырья данного растения являются эмодин и 8-О-β-D-глюкопиранозид эмодина. Для неподина и непозида, выделенных ранее из корней щавеля конского, впервые приведены данные ¹H-ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона впервые описан для корней щавеля конского.

3. Показана возможность углубленного анализа корней щавеля конского методом ВЭЖХ при необходимости обнаружения (в сложных аналитических случаях) диагностически значимого антрагликозида (и одного из доминирующих) 8-О-β-D-глюкозид эмодина.

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ КОРНЕЙ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО

В комплексной оценке подлинности и качества ЛРС в настоящее время, наряду с определением внешних и микроскопических диагностических признаков, важное место занимает фитохимический анализ, что особенно актуально в случае анализа соответствующих лекарственных средств [53, 61].

Согласно современным требованиям ОФС 42-0013-03 «Правила приемки лекарственного растительного сырья и методы отбора проб», фитохимический анализ включает задачи качественного и количественного анализа ЛРС по содержанию ведущих групп БАС, обеспечивающих фармакологическую активность [81, 83].

При всей очевидной перспективности использования потенциала изучаемого растения сдерживающим фактором в его более широком применении является недостаточная степень изученности химического состава, отсутствие обоснованных подходов к объективной оценке качества сырья.

В нормативной документации (ВФС 42-1007-81) на корни щавеля конского не предусмотрено нормирование по действующим веществам [45, 55, 59].

Описанная в литературе методика количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского является многоэтапной и включает такие стадии, как кислотный гидролиз, многократную экстракцию сырья и обработка диэтиловым эфиром [36]. В обсуждаемой методике используется фотоэлектроколориметрия, предусматривающая измерение оптической плотности при аналитической длине волны около 510 нм, а расчет суммы содержания производных антрацена осуществляется на отсутствующий в сырье франгулин, причем с использованием построения калибровочного графика раствора кобальта хлорида.

В этой связи актуальной задачей представляется совершенствование подходов к стандартизации изучаемого вида ЛРС и разработка современной нормативной документации, и, в частности, введение разделов «Качественные реакции» и «Количественное определение», а также уточнение формулировки раздела «Числовые показатели».

5.1. Качественный анализ корней щавеля конского

С целью определения подлинности сырья «Щавеля конского корни» использовали ТСХ-анализ, основанный на обнаружении и идентификации одного из доминирующих антрахинонов - 8-О-β-D-глюкозида эмодина.

В ходе разработки методики были проведены исследования по выбору оптимальных условий хроматографирования, позволяющих эффективно разделить основные компоненты сырья и однозначно идентифицировать анализируемое соединение.

На предварительном этапе было проведено исследование по определению оптимальной хроматографической системы для разделения анализируемых веществ. Были апробированы несколько систем растворителей: хлороформ - спирт этиловый 95% - вода (26:16:3); н-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода 4:1:2 или 4:1:5 (верхняя фаза), а также ряд бинарных систем на основе хлороформа и спирта этилового в различных соотношениях (гл. 2, раздел 2.2.3). В качестве оптимальной системы растворителей для хроматографического разделения антраценпроизводных нами была рекомендована смесь н-бутанол - ледяная уксусная кислота-вода (4:1:5, верхняя фаза). Детекцию веществ осуществляли в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм и 366 нм), а также проявлением раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе натрия карбоната (рис. 18).

С использованием ТСХ-анализа в корнях щавеля конского в предложенных условиях хроматографического разделения на пластинках

«Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» при просмотре в видимом свете обнаруживается доминирующее пятно, имеющее розовую окраску с величиной R_f около 0,7 (хризофанол и эмодин), а также ярко-розовое доминирующее пятно с величиной R_f около 0,6, принадлежащее веществу антраценпроизводной природы, которое ранее нами идентифицировано как 8-О-β-D-глюкозид эмодина (раздел 4.1).

После обработки реактивом диазобензолсульфокислоты (ДСК) в насыщенном растворе карбоната натрия хроматографические пластинки нагревали при температуре 110 °С в течение 2 мин. в сушильном шкафу. При этом 8-О-β-D-глюкозид эмодина проявлялся в виде хорошо заметного пятна оранжево-красного цвета (рис. 20).

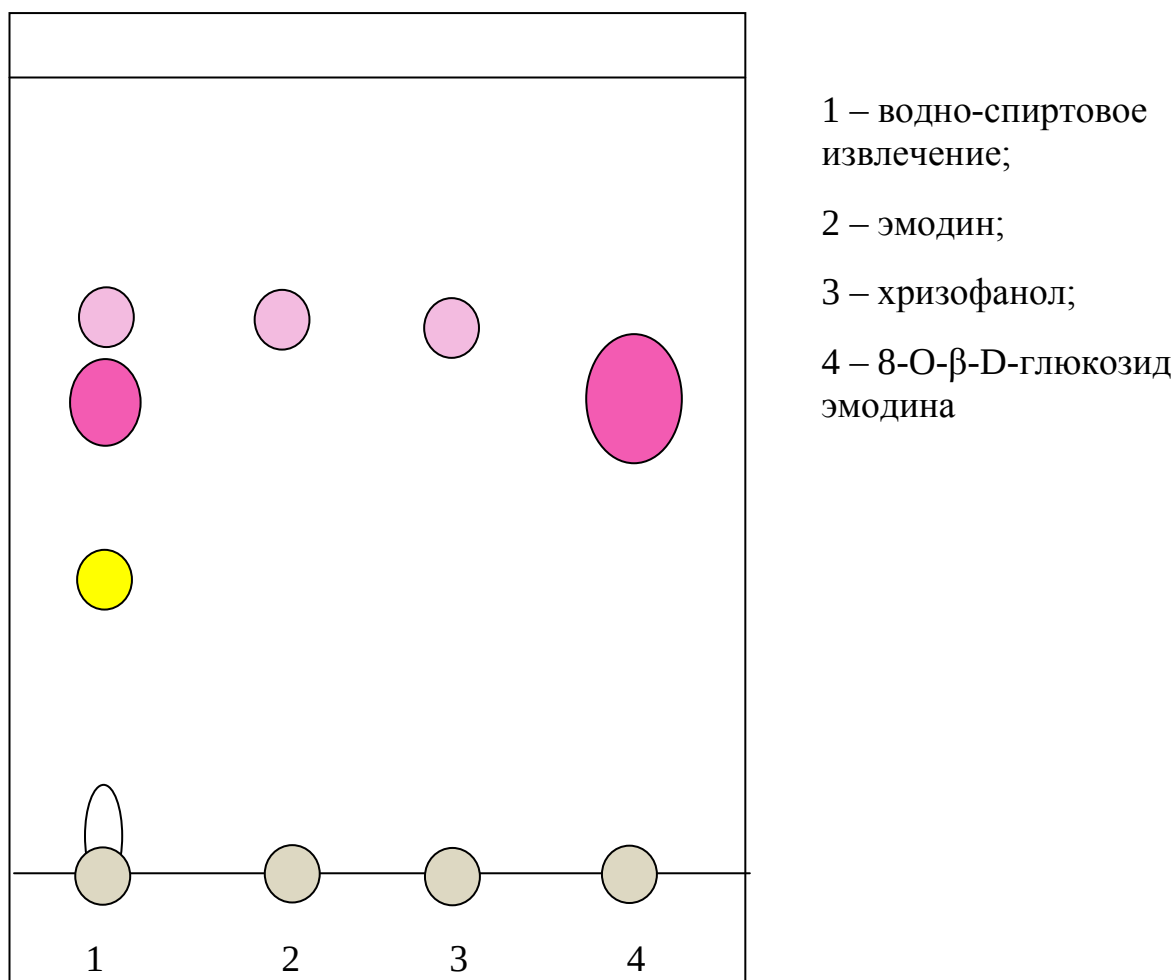


Рисунок 20 - Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения из корней щавеля конского

Также приобретали соответствующие желто-оранжево-красные окраски и другие соединения фенольной природы.

5.1.1. Разработка методики качественного анализа корней щавеля конского (на наличие антраценпроизводных)

В ходе хроматографического изучения веществ и определения оптимальных условий проведения тонкослойной хроматографии, позволяющих надежно идентифицировать анализируемое соединение, нами была разработана методика ТСХ-анализа корней щавеля конского (методика № 1). Кроме того, на том основании, что спектры поглощения антраценпроизводных являются характерными (как таковые, так и их щелочно-аммиачные растворы), а также с учетом определяющего вклада в кривые светопоглощения 8-О-β-D-глюкозид эмолина и его агликона (эмолина), спектр поглощения щелочно-аммиачного спирто-водного извлечения из ЛРС предложен в качестве подтверждающей качественной характеристики подлинности сырья (методика № 2).

Методика ТСХ-анализа корней щавеля конского. Около 1 г измельченных корней щавеля конского (с точностью до ±0,01 г) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта этилового 70%. Колбу присоединят к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса).

На линию старта пластинки «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» или «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» микропипеткой наносят 0,01 мл извлечения и 0,01 мл 0,1% раствора вещества-стандарта 8-О-β-D-глюкозида эмолина. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру со смесью растворителей: н-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода (4:1:5, верхняя фаза), далее хроматографируют восходящим способом. После того, как фронт растворителей пройдет примерно 7-8 см, пластинку вынимают и сушат на

воздухе около 5 мин. Затем просматривают в УФ- и видимом свете. При просмотре в видимом свете на уровне пятна О-β-D-глюкозида эмолина (величина R_f около 0,6) обнаруживается пятно розового цвета; допускается наличие других пятен. Аналогичная картина наблюдается и при просмотре в УФ-свете. Затем пластинку проявляют раствором диазобензолсульфокислоты в насыщенном растворе карбоната натрия и помещают в сушильный шкаф на 3 мин. при 105°C. На уровне пятна стандартного образца 8-О-β-D-глюкозида эмолина наблюдается доминирующее пятно оранжево-красного цвета с величиной R_f около 0,6 (8-О-β-D-глюкозид эмолина); допускается наличие других пятен.

Примечание: Подготовка пластинок. Пластины «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» или «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ» разрезают поперек линий накатки соответственно на 2 части размером 10 × 5 см и перед использованием в случае «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ» активируют в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 ч.

Проверка пригодности хроматографической системы. Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия: R_f доминирующего пятна (8-О-β-D-глюкозида эмолина) около 0,6.

Приготовление раствора диазобензолсульфокислоты. 0,01 г диазобензолсульфокислоты (ГФ Х, стр. 876) растворяют в 10 мл 10 % раствора натрия карбоната. Раствор используют свежеприготовленным.

Спектр поглощения. Исследование электронных спектров показало, что максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней щавеля конского в длинноволновой области спектра находится при 520 ± 2 нм (рис. 21). В электронном спектре щелочно-аммиачного раствора 8-О-β-D-глюкозида эмолина также наблюдается четкий максимум поглощения при 520 ± 2 нм (рис. 22), что указывает на определяющий вклад данного доминирующего соединения и близких к нему по структуре и спектральным характеристикам веществ в кривую светопоглощения при указанной аналитической длине волны. Данное обстоятельство было нами учтено при работе над проектом ФС на сырье (табл. 1).

Качественная реакция на сырье (гистологическая). При смачивании сырья 1-2 каплями 10% раствора натрия гидроксида наблюдается кроваво-красное окрашивание (антраценпроизводные) [30, 31, 32].

Таким образом, основываясь на результатах исследования компонентного состава антагликозидов корней щавеля конского, и в частности, на том факте, что доминирующим и диагностически значимым веществом данного сырья является 8-О-β-D-глюкозид эмодина, разработан комплекс методик качественного анализа ЛРС с использованием данного соединения в качестве вещества-стандарта.

5.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского

С целью разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных (с использованием метода дифференциальной спектрометрии) нами определены оптимальные условия экстракции антраценпроизводных в корнях щавеля конского: экстрагент – спирт этиловый 70%; соотношение «сырье : экстрагент» – 1:50; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 90 мин (табл. 1).

Таблица 1 - Влияние различных факторов на полноту извлечения суммы антраценпроизводных из корней щавеля конского

Концентрация спирта этилового, %	Соотношение сырье: экстрагент	Время экстракции, мин	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозид эмодина и абсолютно сухое сырье
40	1:50	90	3,17 ± 0,01
50	1:50	90	4,17 ± 0,02
60	1:50	90	4,65 ± 0,01
70	1:50	30	3,82 ± 0,01
70	1:50	45	3,91 ± 0,01

70	1:50	60	$4,83 \pm 0,03$
70	1:50	90	$4,94 \pm 0,02$
70	1:50	100	$4,07 \pm 0,01$
70	1:30	90	$4,61 \pm 0,03$
70	1:100	90	$4,75 \pm 0,01$
80	1:50	90	$4,70 \pm 0,02$
95	1:50	90	$4,49 \pm 0,02$

В ходе разработки методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского изучены спектры поглощения водно-спиртовых извлечений из данного сырья. Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena).

Как отмечалось, исследование электронных спектров показало, что максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней щавеля конского находится при длине волны 520 ± 2 нм (рис. 21). В видимой области спектра щелочно-аммиачного раствора 8-О-β-D-глюкозида эмолина также наблюдается четкий максимум поглощения при 520 ± 2 нм (рис. 22). Следовательно, за аналитическую длину волны можно принять значение 520 нм, а стандартным образцом может служить доминирующий антрагликозид ЛРС – 8-О-β-D-глюкозид эмолина. В случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано установленное в этих условиях значение удельного показателя поглощения вещества ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) – 160.

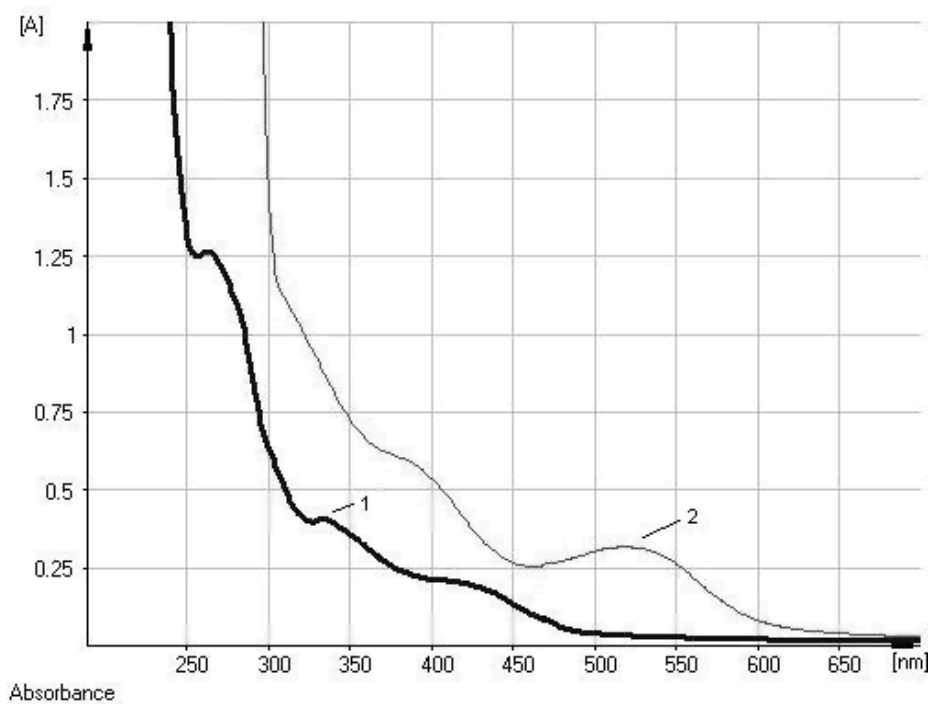


Рисунок 21- Электронные спектры водно-спиртового извлечения из корней шавеля конского (разведение 1:2500)
 Обозначения: 1 – раствор исходного спирто-водного извлечения из ЛРС;
 2 – его щелочно-аммиачный раствор.

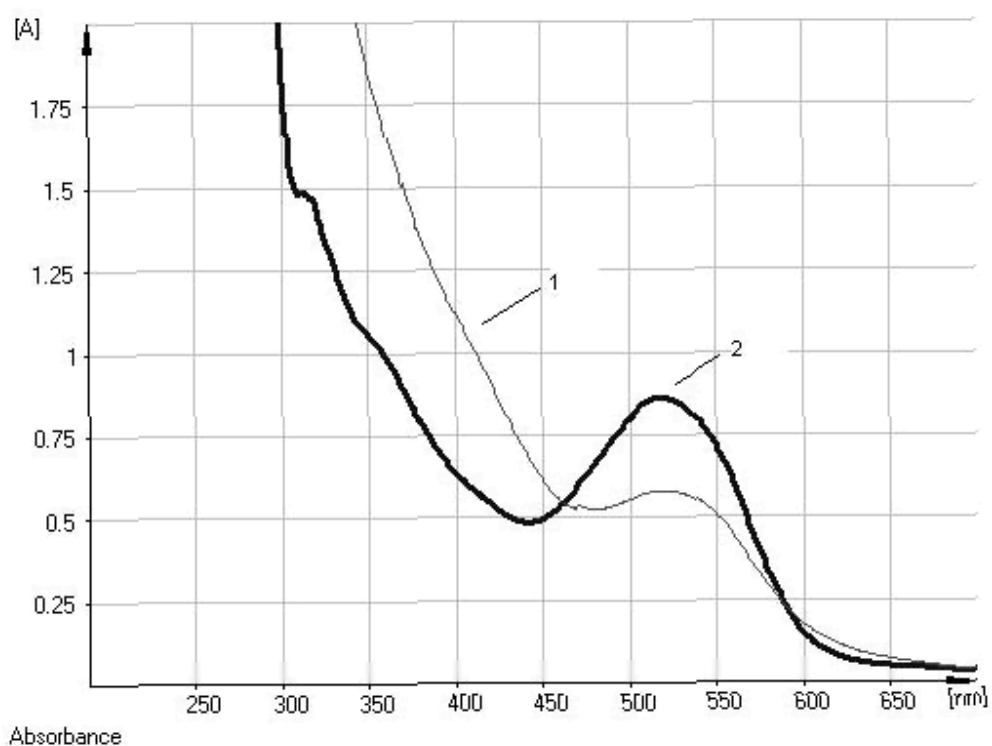


Рисунок 22 - Электронные спектры щелочно-аммиачных растворов водно-спиртового извлечения из корней шавеля конского (1) и 8-О-β-D-глюкозида эмодина (2) (разведение 1:1250)

5.2.1. Разработка методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского

Методика. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта этилового 70%. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная полоса»). Испытуемый раствор А для определения оптической плотности раствора готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным по фармакопейной методике (раствор Б) [30, 31]. Испытуемый раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 520 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Приготовление раствора 8-О-β-D-глюкозида эмодина - стандартного образца. Около 0,02 г (точная навеска) 8-О-β-D-глюкозида эмодина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл этилового спирта 96 %. Затем содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора этиловым спиртом 96 % до метки (раствор А 8-О-β-D-глюкозида эмодина). 1 мл раствора А 8-О-β-D-глюкозида эмодина помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до

метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 520 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

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

$$X = \frac{D \times m_0 \times 50 \times 1 \times 50 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 50 \times 1 \times 25 \times (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора ГСО 8-О-β-D-глюкозида эмодина;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса ГСО 8-О-β-D-глюкозида эмодина, г;

W – потеря в массе при высушивании в процентах.

Упрощенная формула расчета (альтернатива при отсутствии вещества-стандарта):

$$X = \frac{D \times 50 \times 50 \times 100}{m \times 160 \times (100 - W)},$$

где 160 - удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) щелочного раствора 8-О-β-D-глюкозида эмодина при 520 нм.

Метрологические характеристики методики количественного определения антраценпроизводных в корнях щавеля конского методом дифференциальной спектрометрии представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях щавеля

F	$\bar{X}$	S	$P, \%$	$t(P, f)$	ΔX	$E, \%$
10	4,731	0,0978	95	2,23	$\pm 0,218$	$\pm 3,85$

Относительная ошибка опытов с добавками 8-О-β-D-глюкозида эмодина в сырье и спирто-водное извлечение находится в пределах ошибки единичного определения разработанной методики, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки данной методики (табл. 3).

Таблица 3 – Результаты определения содержания суммы антраценпроизводных в корнях щавеля конского в опытах с добавками 8-О-β-D-глюкозида эмодина

Исходное содержание суммы антраценпроизводных, мг	Добавлено 8-О-β-D-глюкозида эмодина, мг	Содержание суммы антраценпроизводных, мг		Ошибка	
		расчетное	найденное	абсолют., мг	относит. %
47,35	5,05 (в сырье)	52,40	53,65	+ 1,25	+ 2,39
47,35	10,30 (в сырье)	57,65	58,30	+ 0,65	+ 1,13
47,35	10,50 (в экстракт)	57,85	56,70	- 1,15	- 1,99
47,35	21,10 (в экстракт)	68,45	69,65	+1,20	+1,75

С применением разработанной методики проанализирован ряд образцов сырья, и, в частности, заготовленных в мае - в срок, по результатам наших исследований, наиболее предпочтительный для сбора ЛРС, когда наблюдается пик содержания антраценпроизводных; в указанные сроки в корнях щавеля конского содержание анализируемой группы варьирует в пределах от 4,25-5,56 % (табл. 4). Аналогично получены данные для образцов сырья, заготовленных в сентябре-начале октября (этот срок также называется в литературе, причем в большинстве источников как более предпочтительный); наблюдается второй по величине максимум накопления антрагликозидов: на уровне 4,15- 5,27 % (табл. 4). В этой связи нами предлагается в качестве нижнего предела показатель содержания суммы

антраценпроизводных: не менее 4,0%, что нашло отражение в предложенной нами редакции ФС «Щавеля конского корня» (приложение).

Кроме того, в сравнительном плане нами было проведено исследование по динамике накопления антраценпроизводных, флавоноидов и дубильных веществ в корнях щавеля конского в течение вегетационного периода. Количественная оценка содержания дубильных веществ проводилась титриметрическим методом по ГФ ССР XI издания [31]. Количественная оценка содержания суммы флавоноидов осуществлялась по спектрофотометрической методике, описанной в литературе [61].

Полученные данные по содержанию обсуждаемых групп БАС отражены в таблице 4. Приведенные результаты подтверждают целесообразность заготовки сырья для последующего его использования для получения слабительных средств (на основе антрагликозидов) прежде всего в весенний, а также в осенний период. Максимальное содержание дубильных веществ отмечено в августе (15,50 – 16,30 %), хотя достаточно высокое содержание отмечено и в конце сентября (12,90 %) (табл. 4). Что касается флавоноидов, то их содержание отмечено лишь в июле, причем, невысокое (0,05-0,08 %) (табл. 4). В другие периоды флавоноиды в корнях щавеля конского не обнаружены, хотя по некоторым литературным данным [133] содержание суммы флавоноидов достигает 3,6 %.

**Таблица 4 – Результаты сравнительного изучения динамики
накопления основных БАС в корнях щавеля конского**

Время заготовки Сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β- D-глюкозид эмодин, %	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %	Содержание дубильных веществ, %
05.04.12 г.	4,25 ± 0,03	-	4,55 ± 0,05
12.05.12 г.	5,56 ± 0,06	-	5,62 ± 0,08
22.05.12 г.	4,95 ± 0,05	-	2,96 ± 0,06
13.06.12 г.	3,70 ± 0,04	-	3,76 ± 0,07
25.06.12 г.	4,05 ± 0,05		3,50 ± 0,06
2.07.12 г.	5,08 ± 0,05	0,08 ± 0,001	3,32 ± 0,04
11.07.12 г.	4,06 ± 0,04	0,05 ± 0,001	3,77 ± 0,06
3.08.12 г.	3,56 ± 0,03	-	16,30 ± 0,07
14.08.12 г.	3,30 ± 0,03	-	15,50 ± 0,09
12.09.12 г.	4,15 ± 0,04	-	10,85 ± 0,09
22.09.12 г.	5,27 ± 0,05	-	12,90 ± 0,08
02.10.12 г.	5,05 ± 0,05	-	9,02 ± 0,07
19.10.12 г.	4,67 ± 0,04	-	5,50 ± 0,09

Параметры и методики оценки качества и доброкачественности, отражаемые в разделах «Качественные реакции» и «Количественное определение», а также другие нормы качества сырья изучены по

разработанным и принятым методикам соответственно и включены в разработанный проект ФС на изучаемое сырье, и, в частности, нашли отражение в разделе «Спецификация» (табл. 5).

Таблица 5 - Спецификация лекарственного растительного сырья
«Щавеля конского корня»

№ п/п	Показатель качества	Нормируемое значение	Используемый метод
1	2	3	4
1	Внешние признаки	Соответствие морфологическим признакам	Просмотр невооруженным глазом и под лупой (с увеличением $\times 10$)
2	Микроскопия	Соответствие анатомическим признакам	Просмотр под микроскопом (с увеличением не менее $\times 40$)
3	Качественные реакции	1. На хроматограмме при нанесении раствора А, приготовленного для количественного определения, должно обнаруживаться доминирующее пятно с величиной $R_f \sim 0,6$ (на уровне пятна 8-О- β -D- глюкозида эмодин); допускается наличие других пятен.	ТСХ-анализ
		2. Спектр поглощения раствора Б, приготовленного для количественного определения, в области от 190 до 700 нм имеет максимум поглощения ($\lambda_{\max}$) при 520 нм ± 2 нм (антраценпроизводные).	Спектроскопия
Числовые показатели			
4	Количественное определение	Сумма антраценпроизводных в пересчете на 8-О- β -D-глюкозид эмодин: не менее 4%.	Дифференциальная спектрометрия
5	Влажность	не более 13%	ГФ XI, вып. 1, стр. 285

1	2	3	4
6	Золы общей	не более 10%	ГФ XI, вып. 2, стр. 24
7	Золы, нерастворимой в 10% растворе хлороводородной кислоты	не более 5%	ГФ XI, вып. 2, стр. 25
8	Корневищ с остатками неотделенных стеблей	не более 5 %	Весовой
9	Измельченных частей менее 2 см	не более 3%	Весовой
10	Минеральной примеси	не более 1 %	Весовой
11	Органической примеси	не более 0,5%	Весовой
<i>Другие показатели качества</i>			
13	Микробиологическая чистота	Категория 3 Б	В соответствии с ГФ XI, вып. 2, стр. 193 и Изменением к ГФ XI от 28.12.95 г. ГФ РФ XII издания
14	Отклонение средней массы от номинальной	Отклонение от номинальной массы в пачке не должно быть более $\pm 5 \%$	Весовой (по ОСТ 64-4-338-85)
15	Содержание радионуклидов	В соответствии с требованиями ВДУ ГН 2.6.005-93	Радиационный контроль
16	Упаковка	В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 17768-90. Ангро - по ГОСТ 2226-88 и ГОСТ 30090-93 не более 20 кг нетто. По 100 г и 50 г по ГОСТ 12303-80. Транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90	Визуальный
17	Маркировка	В соответствии с ГОСТ 17768-90 и ГОСТ 6077-80 со следующим дополнением: указывают массу, условия хранения, рег. номер, штрих-код, соответствие продукции требованиям ВДУ ГН 2.6.005-93 по содержанию	Визуальный

		радионуклидов. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96	
18	Срок годности	3 года.	

Выводы к главе 5:

1. Качественный анализ растительного сырья «Щавеля корни» предложено осуществлять с применением методов спектроскопии и ТСХ-анализа с использованием в качестве вещества-стандарта доминирующего диагностически значимого антраценпроизводного 8-О-β-D-глюкозида эмолина; также целесообразно и проведение гистохимической реакции с реагентами основной природы.

2. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозид эмолина в корнях щавеля конского с использованием дифференциальной спектрометрии (аналитическая длина волны 520 нм); ошибка единичного определения методики составляет $\pm 3,85$ %.

3. Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать нижний предел содержания антраценпроизводных в корнях щавеля конского: не менее 4,0 %.

4. Проведено исследование накопления основных групп БАС в корнях щавеля конского (антрагликозиды, флавоноиды, дубильные вещества) с использованием спектрометрии и титриметрии в течение вегетационного периода.

5. Установлено, что максимум содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозид эмолина приходится на начало мая (5,56 %) и сентябрь (5,27 %), на что необходимо ориентироваться при проведении заготовительных работ.

6. Определено, что максимальное содержание дубильных веществ корнях щавеля конского наблюдается в августе (15,50-16,30 %) и в конце сентября (12,90 %).

7. Содержание флавоноидов в образцах щавеля конского в пересчете на рутин составляет 0,05-0,08 %, причем флавоноиды обнаружены в сырье исследуемого растения лишь в июле.

ГЛАВА 6. ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ЩАВЕЛЯ КОНСКОГО

6.1. Анализ ассортимента слабительных средств растительного происхождения на современном фармацевтическом рынке

Обсуждая целесообразность разработки и выведения на фармацевтический рынок новых лекарственных препаратов со слабительным действием растительного происхождения необходимо отметить ограниченность ассортимента таковых в части отечественных разработок (не более 40 %).

Анализируя ассортимент по источникам получения, к числу наиболее популярных можно отнести листья сенны (на 1-м месте), кору крушины (на 2-м месте), ревеня и алоэ (делят 3-е место), единичные позиции занимают корни щавеля конского, агар-агар, льняное семя, алое, колоцинт, кротоновое масло и касторовое масло.

Удельный вес лекарственных средств на основе перечисленных источников представлен на диаграмме (рис. 23).

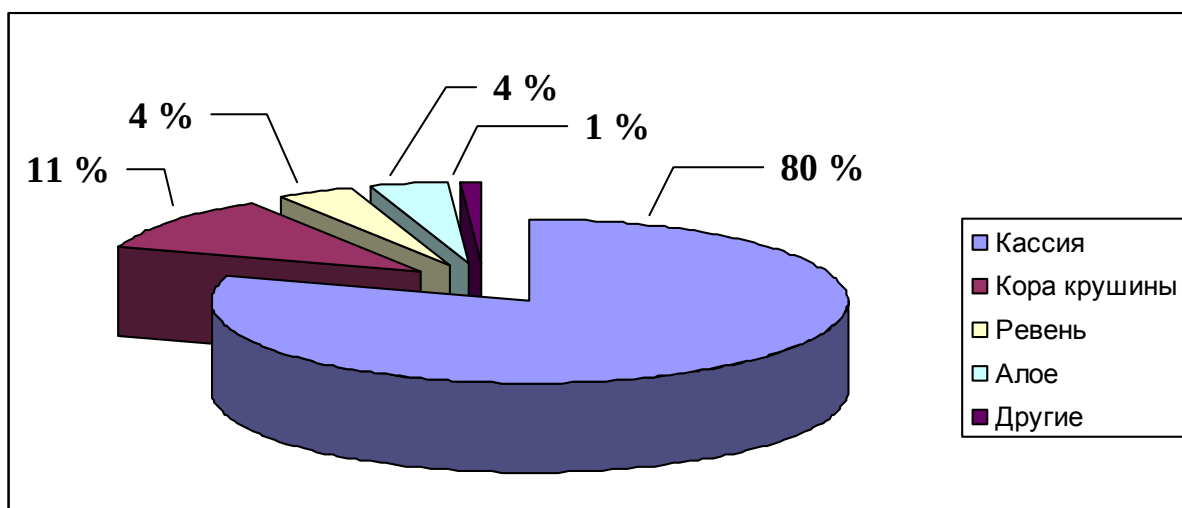


Рисунок 23 – Диаграмма удельного веса лекарственных растений в процентном соотношении

- **Сенна (*Senna*)**. В медицине применяют отвар, агиолакс (*Agiolax*), глаксена (*Glaxena*), Лив-52 (*Liv-52*), настой сенны сложный, или венское питье (*Infusum Sennae compositum*), сенаде (*Senade*), регулакс (*Regulax*), сенадексин, лекарственные сборы [44, 56, 59, 63, 68, 78, 81, 103116, 125].
- **Кора крушины (*Cortecs frangulae*)**. Из сырья делают отвары, производят жидкий и сухой экстракты, сироп, а также применяют викаир (*Vicairum*), холагол (*Cholagolum*), чай слабительный № 1, рамнил (*Rhamnilum*), кофранал, лекарственные сборы [44, 56, 59, 63, 68, 78, 81, 103116, 125].
- **Ревень пальчатый (*Rheum palmatum*)**. Из корней ревеня получают препарат хризаробин, предложенный для лечения псориаза. В ряде западноевропейских стран ревень используется в сборах для похудения [44, 56, 59, 63, 68, 78, 81, 103116, 125].
- **Препараты Алое (*Aloe*)**: алоин, бальзам «Грааль» (*Balsami «Graal»*), линимент «Алором» (*Linimentum «Alorom»*), сок алоэ (*Succus Aloes*), таблетки алоэ (*Tabulettae Aloes obductae*) [44, 56, 59, 63, 68, 78, 81, 103116, 125].
- **Щавель (*Rumex*)** используют в комбинированном препарате валоседан (*Valosedan*), а также применяют жидкий экстракт из корневищ с корнями щавеля конского (*Extractum radicis Rumex conferti fluidi*), мазь порошка корня щавеля конского, сбор «Алурвент», синупрет (*Sinupret*) [44, 56, 59, 63, 68, 78, 81, 103116, 125].
- **Колоцинт (*Citrullus colocynthis*)**. Порошок или экстракт плодов колоцинта применяют, как сильные слабительные средства и «печёночные стимуляторы», а также входят в состав лексредств от водянки [44, 56, 59, 63, 68, 78, 81, 103116, 125].

Как видно из приведенных данных, номенклатура экстракционных препаратов и БАДов из обсуждаемых видов ЛРС незначительна и сведена в табл. 6.

Таблица 6 – Номенклатура экстракционных препаратов и БАДов из ЛРС

Растительные объекты	Инфуз, спирто-водное извлечение: состав	Экстракты	БАД
Листья сенны	Настой: 10 г на 100 мл воды	Экстракт сенны сухой	Сенна-Д
Кора крушины	Настойка в соотношении 1:5, на спирте этиловом 30%	Экстракт крушины сухой	Слабительное и для улучшения кровообращения
Щавель конский	Отвар (по общим правилам)	Жидкий экстракт из корневищ с корнями щавеля конского	
Алое		Экстракт алоэ в ампулах	В качестве источника полисахаридов, протеинов, органических кислот
Льняное семя	1 ложка семени на 1 стакан кипятка		

Недостаточность ассортимента природного происхождения не позволяет варьировать назначение лекарственных препаратов на основе антраценпроизводных и других групп БАС растительного происхождения при лечении распространенных хронических атонических запоров и других нарушений системы пищеварения.

6.2. Разработка технологии получения густого экстракта из корней щавеля конского и его стандартизация

В результате полученных данных по химическому составу корней щавеля конского, по характеру фармакологической активности и безопасности, а также с учетом целесообразности расширения номенклатуры отечественных лекарственных средств растительного происхождения на современном фармацевтическом рынке, нами предпринята попытка разработки экстракционного лекарственного препарата, основными действующими веществами которого являлась бы нативная гамма антрахинонов.

Выбор в пользу густого экстракта сделан на том основании, что экономически невыгодно готовить настойку или жидкий экстракт (из-за расхода экстрагента), а экстракт сухой отличается высокой гигроскопичностью и быстро меняет свои физико-химические параметры, тем более, что густой экстракт, которому в итоге было отдано предпочтение, позволяет наряду с экономическими преимуществами и достаточно длительным сроком хранения (рекомендовано: 2 года) использовать его также в качестве лекарственной субстанции при получении таблетированных, дражжированных и капсулированных лекарственных форм.

Технологический фрагмент работы выполнен по традиционной схеме, начиная с установления технологических параметров ЛРС и заканчивая разработкой норм качества готового продукта – «Щавеля экстракта густого».

К технологическим свойствам лекарственного сырья растительного происхождения относятся степень измельчения, фракционный состав, насыпная масса, коэффициент поглощения экстрагента и сыпучесть массы.

Выбор оптимальной степени измельчения определяли по количественному содержанию суммы антраценпроизводных в извлечениях,

полученных экстракцией сырья спиртом этиловым 40 % (раздел 6.3) с размером частиц 1-6 мм. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что оптимальный размер частиц корней щавеля конского составляет 2-4 мм, при котором происходит максимальный выход всей нативной гаммы соединений (хиноны) и не происходит загущения вытяжки (из-за излишней измельченности сырья). Следует отметить, что аналитические подходы в разработке методики количественного определения несколько отличаются в части выбора концентрации экстрагента и степени измельчения сырья (что было отражено в разделе 5.2).

Степень набухания определяли с использованием воды очищенной и спирта этилового 40 %. Результаты данных исследований корней щавеля конского представлены в таблице 7.

Таблица 7– Технологические параметры ЛРС «Щавеля конского корни»

№ п/п	Показатель		Значение
1.	Фракционный состав, %		
		$d < 0,5$	8,10
		$0,5 < d < 1,0$	5,40
		$1,0 < d < 2,0$	8,40
		$2,0 < d < 3,0$	25,50
		$3,0 < d < 4,25$	46,70
		$4,25 < d < 5,0$	4,50
		$5,0 < d < 6,0$	1,40
2.	Насыпная масса, г/см ³		0,35
3.	Степень набухания в воде		2,50
4.	Степень набухания в этаноле 40 %		2,35

5.	Коэффициент поглощения воды	3,30
6.	Коэффициент поглощения этанола 40 %	2,90

В качестве экстрагента нами изучалась вода очищенная и спирт этиловый 40 % (как показавший преимущества в фармакологических экспериментах). Экстрагирование корней щавеля конского проводили разными методами из навесок одной и той же выборки сырья, при одинаковых условиях, соотношение сырье – экстрагент 1:10. Извлечения представляли собой темную, мутную жидкость, а при отстаивания образовывался осадок.

Для экстрагирования сырья корней щавеля конского были выбраны методы перколяции, модифицированной мацерации (с включением заключительной термической стадии) и реперколяции.

Перколяцию проводили по методике ГФ XI изд. с использованием лабораторных перколяторов [31].

Реперколяцию проводили с использованием батареи из трех лабораторных перколяторов (табл. 8)

Метод модифицированной мацерации с делением сырья на 3 равные части проводили в три этапа. Первое настаивание проводили 12 часов, второе – 6 часов, третье – 30 мин на кипящей водяной бане. Далее сырье отжимали, извлечение отстаивали 2 суток на холоде (при температуре 8 °С) для осаждения балластных веществ, затем отфильтровывали.

Результаты эффективности экстракции в нативных (не сгущенных) извлечениях, полученных разными методами, представлены в сводной таблице (табл. 8)

Таблица 8 - Результаты количественного содержания суммы антраценпроизводных в извлечении корней щавеля конского на спирте этиловом 40% в зависимости от способа получения

№ п/п	Метод экстрагирования	Выход суммы антраценпроизводных, %
1.	Реперколяция	$4,23 \pm 0,30$
2.	Перколяция	$3,45 \pm 0,20$
3.	Модифицированная мацерация	$3,90 \pm 0,30$

На основании проведенных исследований выбран метод экстрагирования - реперколяция и подобраны оптимальные условия экстрагирования из корней щавеля конского.

Полученное очищенное извлечение упаривали под вакуумом для отгонки экстрагента на роторном испарителе модели «ИР-1М» для получения густого экстракта из корней щавеля конского с влажностью не более 25 %.

С целью разработки методики количественного определения суммы антраценпроивзодных нами предложены подходы к стандартизации, обоснованные для корней щавеля конского (см. главу 5).

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте щавеля конского.

Около 0,2 г (точная навеска) густого экстракта щавеля конского растворяют при нагревании в 30 мл 40 % спирта этилового в колбе емкостью 100 мл. Полученный раствор переносят количественно в мерную колбу на 50 мл, доводят объем до метки 40 % спиртом этиловым и перемешивают (раствор А).

1 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на

спектрофотометре при длине волны 520 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Содержание суммы антраценпроизводных густого экстракта в процентах (X) вычисляют по формуле:

Упрощенная формула расчета (альтернатива при отсутствии вещества-стандарта):

$$X = \frac{D \times 50 \times 50}{m \times 160 \times 1}, \text{ где}$$

D – оптическая плотность испытуемого раствора;

160 - удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) щелочного раствора

8-О-β-D-глюкозида эмодина при 520 нм.

Таким образом, нами разработана технология получения густого экстракта из корней щавеля конского, которая включает в себя следующие стадии: измельчение сухого сырья до размера частиц 2-4 мм, получение извлечения на спирте этиловом 40 %, очистка, сгущение извлечения. Полученный густой экстракт представляет собой вязкую темно-коричневую массу со специфическим запахом и вкусом, содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β -D-глюкозид эмодина составляет не менее 20%. Экстракт хорошо растворим в воде и этиловым спирте.

При изучении *показателей качества* продукта нами использован унифицированный подход к разработке методик качественного и количественного анализа в ряду: ЛРС – лекарственный препарат (гармонизированы аналитические методики, представленные в гл. 5), а также применены традиционные подходы к оценке показателей качества, регламентируемые фармакопеей для густых экстрактов. Установленные параметры качества и методы их оценки сведены в таблицу 9.

Таблица 9 – **Параметры качества «Щавеля экстракта густого»**

№ п/п	Показатель качества	Нормируемое значение	Используемый метод
1	2	3	4
1	Внешние признаки	Вязкая темно-коричневая масса со специфическим запахом и вкусом	Визуальная оценка на соответствие требованиям ГФ XI, вып. 2, стр. 160-161
2	Подлинность	1. $\lambda_{\max} = 520 \pm 2$ нм (антраценпроизводные) 2. На хроматограмме обнаруживается доминирующее пятно с величиной $R_f \sim 0,6$ (на уровне пятна 8-О- β -D-глюкозида эмодина); допускается наличие других пятен.	1) Спектроскопия 2) ТСХ-анализ
Числовые показатели			
3	Количественное определение	Сумма антраценпроизводных в пересчете на 8-О- β -D-глюкозид эмодина: не менее 20%	Дифференциальная спектрометрия
4	Влажность	Не более 25%	ГФ XI, вып. 2, стр. 160.
5	Тяжелые металлы	Не более 0,01 %	ГФ XI, вып. 1, стр. 165
6	Спирт	Не менее 3 %	ГФ XI, вып. 2, стр. 161
7	Микробиологическая чистота	ГФ XI, вып. 2, стр. 193 и Изменение от 28.12.1995 г., ГФ XII изд.	
Другие показатели качества			
8	Упаковка	Хранить в упаковке, обеспечивающей стабильность препарата в течение указанного срока годности, в прохладном и защищенном от света месте	Визуальный
9	Маркировка	В соответствии с ГОСТ 17768-90 и ГОСТ 6077-80 со следующим дополнением: указывают массу, условия хранения, рег. номер, штрих-код, соответствие продукции требованиям ВДУ ГН 2.6.005-93 по содержанию радионуклидов. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96	Визуальный

10	Срок годности	2 года	
----	---------------	--------	--

6.3. Изучение фармакологических свойств и токсичности водных и водно-спиртовых извлечений из корней щавеля конского

Основные исследования проведены на базе кафедры фармакологии Самарского государственного медицинского университета (под руководством заведующего кафедрой, профессора А.В. Дубищева и доцента кафедры, к.м.н. Е.Н. Зайцевой).

В ходе экспериментальной работы нами изучалось действие водных и водно-спиртовых извлечений (использованы спирт этиловый 40% и 70%) на основе корней щавеля конского на режим работы кишечника.

Белые беспородные крысы-альбиносы обоих полов массой 180-220 г., накормленные последний раз за 6 часов до эксперимента (стандартный рацион вивария) были помещены отдельно в клетки, застеленные чистой фильтровальной бумагой. Опытные и контрольные группы были составлены из 10 животных каждая. Далее внутрижелудочно вводилось исследуемое извлечение в следующих дозировках: 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг в пересчете на антраценпроизводные. В эквивалентных дозировках вводились и препараты сравнения – аналогичным образом приготовленные образцы близкородственных по действию растений сенны остролистной (кассия, александрийский лист) и крушины ломкой. Для исключения влияния спирта этилового на оцениваемые параметры (масса кала исходного и высушенного) формировались отдельные опытные группы, которые получали соответственно анализируемым фитосубстанциям эквивалентные дозировки раствора 40% и 70% спирта этилового. Параллельно проводился контроль (вода – для изучения слабительного действия водных извлечений антраценсодержащих растений, спирто-водные извлечения из кассии – для

изучения слабительного действия извлечений из крушины и щавеля на спирте этиловом в концентрации 40 % и 70 %).

Через 18 часов после введения изучаемых образцов подсчитывалось общее количество фекалий от каждого животного всех анализируемых групп. Процент увеличения кала и доли влажных фекалий от их общего количества считался слабительным эффектом. Для более точной оценки результатов все показатели пересчитывались на 100 г массы тела животного.

Статистическая обработка. Статистическая обработка полученных результатов экспериментов проводилась с использованием стандартных методов вариационной статистики: расчет средней арифметической величины (M) и средней ошибки средней арифметической (m) – при помощи программ Microsoft Excel 2000 (MS Office 2000, USA) «Пакет анализа», Statistica 8.0 по критерию Манна-Уитни.

У животных, получивших **отвар** (это традиционно используемая лекарственная форма из корней щавеля конского и других изучаемых видов ЛРС) из разных объектов в дозе **25 мг/кг**, количество каловых масс было выше (табл. 7), чем у животных контрольной группы: сenna – на 44 %, щавель – на 13 %, крушина – на 42 % (табл. 10) После того, как кал высушили при комнатной температуре, его масса уменьшилась незначительно.

Таблица 10 – Результаты исследования слабительного действия водных извлечений из ЛРС в дозе 25 мг/кг (антрагликозиды)

Объект исследования	Масса кала (исходного)		Масса кала (сухого)	
Вода (контроль)	158,63 ± 9,96		154,74 ± 10,41	
Отвар сенны	228,44 ± 17,34 * (44 %)	$\rho = 0,003$	221,27 ± 17,11 * (43 %)	$\rho = 0,004$
Отвар щавеля	179,36 ± 10,91 (13 %)	$\rho = 0,177$	174,84 ± 8,21 (13 %)	$\rho = 0,141$
Отвар	225,36 ± 16,34 *	$\rho = 0,003$	221,32 ± 8,74 *	$\rho = 0,000$

крушины	(42 %)		(43 %)	
---------	--------	--	--------	--

Выявлены преимущества в силе эффекта у отвара сенны, приближается – отвар коры крушины.

Вводимая доза **50 мг/кг** показала, что масса сухого кала статистически значимо уменьшилась по сравнению с первоначальным, т.е. в данной дозировке для всех изучаемых объектов реализуется классический механизм действия антрагликозидов путем влияния на хеморецепторы (возрастает с увеличением дозы и «перекрывает» вяжущее действие дубильных веществ изучаемых растений). Показательным был отвар из листьев сенны: на 344 % произошло увеличение массы влажного кала от контроля (табл. 11).

Очевидно, что и в этой серии экспериментов преимущества в слабительном эффекте за сенной.

Таблица 11 - Результаты исследования слабительного действия водных извлечений из ЛРС в дозе 50 мг/кг (антрагликозиды)

Объект исследования	Масса кала (исходного)		Масса кала (сухого)	
Вода (контроль)	119,10 ±6,71		113,76 ±7,80	
Отвар сенны	528,75 ±21,22 * (344 %)	$\rho = 0,000$	312,69 ±14,93 * (175 %)	$\rho = 0,000$
Отвар щавеля	253,77 ±15,07 * (113 %)	$\rho = 0,000$	174,84 ±8,21 * (13 %)	$\rho = 0,002$
Отвар крушины	258,51 ±12,54 * (117 %)	$\rho = 0,000$	119,42 ±6,38 (5 %)	$\rho = 0,581$

Интересные результаты получены при дальнейшем увеличении дозировки изучаемых объектов. В дозе **100 мг/кг** статистически значимое слабительное действие наблюдалось только у отвара листьев сенны, причем абсолютные значения измеряемых параметров существенно снизились по сравнению с меньшими анализируемыми дозировками, что входит в противоречие с ранее упомянутой концепцией дозозависимого эффекта, т.е.

волнообразно нарастает влияние дубильных веществ (табл. 12). Тут следует упомянуть, что для ряда видов специфической фармакологической активности современной фармакологии известны примеры развития дозозависимых эффектов «по синусоиде».

Таблица 12 - Результаты исследования слабительного действия водных извлечений из ЛРС в дозе 100 мг/кг (антрагликозиды)

Исследуемый объект	Масса кала (исходного)		Масса кала (сухого)	
Вода (контроль)	135,79 ± 8,70		125,29 ± 7,97	
Отвар сенны	171,06 ± 9,49 * (26 %)	$\rho = 0,013$	169,23 ± 11,87 * (175 %)	$\rho = 0,007$
Отвар щавеля	0		0	
Отвар крушины	0		0	

Наиболее интересны данные, полученные для **водно-спиртовых извлечений** в изучаемом диапазоне доз, в том числе с позиций дальнейшей разработки лекарственных препаратов на основе изучаемого вида ЛРС.

Водно-спиртовое извлечение на спирте этиловом 40 % в дозе **25 мг/кг**, вводимые животным, свидетельствует о том, что все исследуемые извлечения обладают слабительным действием (табл. 13). Основным выводом в данной серии экспериментов в отношении щавеля конского является следующий: в дозировке 25 мг/кг (т.е. в минимальной изучаемой дозе) из-за уменьшения содержания дубильных веществ в извлечениях из изучаемого объекта на спирте этиловом 40% по сравнению с водным извлечением наблюдается статистически значимое увеличение слабительного эффекта (при исключении вклада экстрагента) по отношению к контролю – аналогичному извлечению листьев сенны: на 261% для влажного кала и на 278% для высушенного кала соответственно. Последнее обстоятельство (близкие значения исходного и сухого кала), как показывает фитохимическое

изучение ЛРС, объясняется выходом в спирто-водное извлечение не только антрахинонов, но и нафтохинонов – гликозидов торахризона, обладающих, по всей видимости, иным механизмом слабительного действия нежели антрахиноны, но при сочетанном воздействии существенно усиливающих фармакологический эффект всей гаммы хинонов растения.

Таблица 13 - Результаты исследования слабительного действия водно-спиртовых извлечений из ЛРС на основе спирта этилового 40 % в дозе 25 мг/кг

Изучаемый объект	Масса кала (исходного)		Масса кала (сухого)	
Спирт этиловый 40 %	0		0	
Водно-спиртовое извлечение сенны	118,14 ±7,59	$\rho = 0,013$	108,58 ±6,41	$\rho = 0,007$
Водно-спиртовое извлечение щавеля	426,30 ±20,46 * (261 %)		420,1 ±18,26 * (287 %)	
Водно-спиртовое извлечение крушины	100,26 ±6,90 (15 %)		83,59 ±7,96 * (23 %)	

В дозе **50 мг/кг** можно отметить, что количество кала, полученного под воздействием водно-спиртового извлечения листьев сенны, выше, чем при приеме водно-спиртового извлечения корней щавеля конского (табл. 14), тогда как крушина вовсе не показала результат.

Таблица 14 - Результаты исследования слабительного действия спиртовых извлечений из ЛРС на основе спирта этилового 40 % в дозе 50 мг/кг

Изучаемый объект	Масса кала (исходного)		Масса кала (сухого)	
Спирт этиловый 40 %	0		0	
Водно-спиртовое извлечение сенны	136,44 ±4,56	$\rho = 0,000$	130,9 ±9,02	$\rho = 0,000$
Водно-спиртовое извлечение щавеля	83,45 ±6,23 * (39 %)		77,13 ±4,29 * (41 %)	
Водно-спиртовое извлечение крушины	0		0	

Далее была введена доза **100 мг/кг**, но ни один из образцов не показал активность.

Примечательно, что водно-спиртовые извлечения из сравниваемых растений на спирте этиловом 70 % не дали положительных эффектов.

В более высоких дозах фитосубстанции не изучались (в силу ранее отмеченных в разделе 1.3.6 побочных эффектов изучаемого класса БАС).

Таким образом, анализ полученных данных показал, что водно-спиртовое извлечение корней щавеля конского на спирте этиловом 40 % наиболее эффективен в качестве слабительного средства (и конкурентоспособен по сравнению с аналогами в наименьшей дозе), что и было нами учтено при выполнении технологической части работы по получению густого экстракта щавеля конского.

Для «Щавеля экстракта густого» при изучении слабительного действия (для чего он был разведен в 40 % спирте этиловом и потом в воде) в параллельных экспериментах с экстрагентом в эквивалентных дозах установлено аналогичное с исходными (неупаренными) водно-спиртовыми извлечениями действие (табл. 15); при этом статистически значимых отличий сравниваемых объектов (исходное извлечение и экстракт) не выявлено. Выраженность эффекта также была наибольшей (в 2,8 раза) в дозировке **25 мг/кг** (антраценпроизводные), которую следует считать исходной для последующей выработки рекомендаций по дозировке при использовании экстракта в медицинских целях.

Таблица 15 - Результаты исследования слабительного действия
«Щавеля экстракта густого»

Объект исследования	Масса кала (исходного)		Масса кала (сухого)	
Вода (контроль)	38,91 ± 3,27		34,89 ± 2,50	
Густой	108,27 ± 4,15	$\rho = 0,000$	102,20 ± 3,35	$\rho = 0,000$

экстракт корней щавеля конского				
---------------------------------------	--	--	--	--

Для экстракта густого также была изучена острая токсичность [124], показавшая, что даже в максимально возможной для введения животным дозе (лимитируется емкостью желудка) не наблюдается токсических проявлений в состоянии животных, поведении, картине крови и по другим параметрам, т.е. в дозе 1500 мг/кг и выше не наблюдается гибели животных или иных токсических проявлений, что позволяет отнести изучаемый объект к классу малотоксичных соединений. Однако, с учетом многочисленных литературных данных по дозировкам и ограничению сроков применения антраценсодержащих лекарственных препаратов, когда во времени проявляются негативные последствия приема (начиная с привыкания и заканчивая серьезными структурными нарушениями слизистой ЖКТ), а также ввиду выявления минимальной эффективной дозы - 25 мг/кг, на наш взгляд, не следует выходить на более высокие дозировки при дальнейшем внедрении лекарственного препарата в медицинскую практику.

В пользу целесообразности получения именно густого экстракта дополнительно свидетельствуют и технологические исследования по проблеме.

Выводы к главе 6:

1. Изучен ассортимент слабительных средств и доказана целесообразность создания новых отечественных слабительных лекарственных препаратов растительного происхождения.
2. Фармакологическое изучение в эксперименте слабительных свойств водных и водно-спиртовых извлечений из корней щавеля конского показали наибольшую эффективность извлечений на спирте этиловом 40 % и преимущества перед аналогами (извлечения на основе сенны, крушины) в наименьшей изучаемой дозе (25 мг/кг), что показывает перспективность разработки экстракционных препаратов на основе изучаемого вида ЛРС.
3. Изучены условия экстракции нативной гаммы БАС из корней щавеля конского; определены оптимальные условия: методом экстрагирования выбрана реперколяция, соотношение сырье - экстрагент – 1:10, экстрагент – спирт этиловый 40%, степень измельчения – 2-4 мм.
4. Разработана технология получения густого экстракта корней щавеля конского и решены вопросы его стандартизации.
5. В ходе фармакологических экспериментов установлена статистически значимая слабительная активность густого экстракта корней щавеля конского и дано отнесение изучаемого препарата к классу малотоксичных веществ.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Анатомо-гистологический анализ корней щавеля конского разных диаметров позволил впервые описать имеющие диагностическое значение склереиды, находящиеся на продольном срезе коровой части корня щавеля конского, и выявить особенности локализации антраценпроизводных, а также подтвердить имеющиеся данные об особенностях анатомического строения сырья.
2. В результате химического изучения корней щавеля конского выделено и охарактеризовано 8 индивидуальных веществ: 8-О-β-D-глюкозид эмодина, эмодин, хризофанеин, хризофанол, фисцион (антрахиноны), 8-О-β-D-глюкопиранозид неподина (непозид), неподин, 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона (производные нафталина); установлено, что доминирующими компонентами сырья данного растения являются эмодин и 8-О-β-D-глюкопиранозид эмодина, а 8-О-β-D-глюкопиранозид торахризона впервые описан для корней щавеля конского.
3. Разработаны методики качественного анализа корней щавеля конского методами ТСХ и спектроскопии с использованием в качестве вещества – стандарта 8-О-β-D-глюкозида эмодина.
4. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозид эмодина в корнях щавеля конского с использованием дифференциальной спектрометрии (аналитическая длина волны 520 нм).
5. На основе результатов фармакогностического исследования разработан проект ФС «Щавеля конского корня» с целью его включения в Государственную фармакопею Российской Федерации XII издания.
6. Разработана технология получения густого экстракта корней щавеля конского методом реперколяции и использованием спирта этилового 40%

с содержанием антраценпроизводных не менее 20%; установлены его нормы качества.

7. Установлена статистически значимое слабительное действие густого экстракта корней щавеля конского и установлена его токсичность (класс малотоксичных веществ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абаимов, В.Ф. Дендрология/ В.Ф. Абаимов. – Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2005. - С. 302-303.
2. Агафонов, А.Д. Организация заготовок дикорастущих плодов, ягод, грибов и лекарственных трав / А.Д. Агафонов, Б.В. Андрест. - М., 1975. – С. 82-83.
3. Андреев, С.З. Дикорастущие лекарственные растения Смоленской области / С.З. Андреев, В.А. Баринов // Московский рабочий. - 1974. - С. 40-41.
4. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР. - М., 1980. - С. 239.
5. Атлас лекарственных растений России / под ред. В. А. Быкова. - М., 2006. – 345 с.
6. Атлас и определитель плодов и семян, встречающихся в четвертичных отложениях СССР. / Н.Я. Кац, С.В. Кац, М.Г. Кипиани. – М., Наука, 1965.
7. Атлас по анатомии растений: Учеб. Пособие для вузов/ Г.А. Бавтуто, В.М. Еремин, М.П. Жигар (учеб. и учеб. пособия для вузов). – Мн.: Ураджай, 2001. – 146 с.
8. Атлас по описательной морфологии высших растений. Плод. / З.Т. Артюшенко, А.А. Федоров. – Ленинград: Наука, 1986. - 300 с.
9. Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя. / З.Т. Артюшенко. – Ленинград: Наука, 1990. - 287 с.
10. Арзамасцев, А.П. Основные аспекты совершенствования фармакопейного анализа / А.П. Арзамасцев, В.Л. Багирова, Н.П. Садчикова // Хим.- фарм. журн. - 2000. – Т.34, № 5. - С.47-48.
11. Арзамасцев, А.П. Валидация фармакопейных методов (проект общей фармакопейной статьи) / А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова, Ю.Я.

- Харитонов// Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. - 2001. – № 1. – С. 28-29.
12. Астахова, А.В. Лекарственные травы и биологически активные добавки / А.В. Астахова // Безопасность лекарств. – 2000. - № 1. – С. 83-95.
 13. Ахрем, А.А. Тонкослойная хроматография / А.А. Ахрем, А.И. Кузнецова. – М.: Наука, 1964. – 153 с.
 14. Багирова, В.Л. О стандартизации лекарственных средств на современном этапе / В.Л. Багирова, Е.Л. Ковалева, Н.П. Садчикова // Хим.-фарм. журнал. – 2000. – Т. 34, № 5. – С. 47-48.
 15. Баранов, П.А. Атлас по описательной морфологии высших растений. Стебель и корень / П.А. Баранов. – Москва-Ленинград: Издательство академии наук СССР, 1962. – 353 с.
 16. Беленький, Б.Г. Тонкослойная хроматография / Б.Г. Беленький // Успехи хроматографии. К 100-летию со дня рождения М.С. Цвета. - М., 1972. – С. 134-162.
 17. Березовская, Т.П. Методы микроскопического анализа ботанических объектов / Т.П. Березовская, Н.В. Доцинская, Е.А. Серых. – Томск, 1978. – 113 с.
 18. Бородина, Н.А. Деревья и кустарники СССР / Н.А. Бородина, В.И. Некрахов, Н.С. Некрасова.– Москва, 1966. – 479 с.
 19. Брезгин, Н.Н. Лекарственные растения Верхневолжья / Н.Н. Брезгин. – Ярославль: Верхнее Волжское книжное издательство, 1984. – 320 с.
 20. Валягина-Малютина, Е.Т. Деревья и кустарники зимой. Определитель древесных и кустарниковых пород по побегам и почкам в безлистном состоянии / Е.Т. Валягина-Малютина. - М.: издательство КМК, 2001. - С. 196-197.
 21. Вопросы диагностики и лечения запоров: Методические рекомендации Минздрава РСФСР. - Москва, 1976. – 16 с.

22. Высокоэффективная тонкослойная хроматография / А. Златкис и Р.Е. Кайзер (пер. с англ. под ред. д.х.н., проф. В.Г. Березкина). – М.: Мир, 1979. – 245 с.
23. Гаммерман, А.Ф. Лекарственные растения (растения-целители): Справочник пособие. – 3-е изд., переработка и дополнение / А.Ф. Гаммерман, Г.Н. Кадаев, А.А. Яценко-Хмелевский. – М.: Высшая школа, 1984. – 400 с.
24. Гаммерман, А.Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР / А.Ф. Гаммерман, И.И. Гром. – М., 1976. – 288 с.
25. Георгиевский, В.П. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения / В.П. Георгиевский, Н.А. Казаринов, М.О. Каррыев. – Ашхабад: Ылым, 1976. – 239 с.
26. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комисаренко, С.Е. Дмитрук. – Новосибирск: Наука, Сибирское отд., 1990. – 333 с.
27. Головкин, Б.И. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3 т. / Б.И. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова / отв. ред. В.Ф. Семихов. – М.: Наука, 2001. – 350 с.
28. Гольшеников, П.П. Лекарственные растения и их использование. / П.П. Гольшеников. – Саранск: Мордовское книжное издательство, 1982. – 312 с.
29. Гольшеников, П.П. Лекарственные растения и их использование / П.П. Гольшеников. – Саранск: Мордов. кн. изд. Управление по печати при Совете Министров МАССР, 1971. – 380 с.
30. Государственная Фармакопея СССР X издания. – М.: Медицина, 1968. – С. 1080.
31. Государственная Фармакопея СССР. Одиннадцатое издание / МЗ СССР. – Вып.2. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.

32. Государственная фармакопея Российской Федерации XII издания. – М.: Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. – 704 с.
33. Гриффит В. Витамины, травы, минералы и пищевые добавки: Справочник / В. Гриффит. – М.: Фаир-пресс, 1990. – 280 с.
34. Георгиевский, В.П. Применение хроматографии в тонком слое для идентификации и количественного определения биологически активных веществ растительного происхождения / В.П. Георгиевский. – М.: Наука, 1978. – 68 с.
35. Дайронас, Ж.В., Природные нафтохиноны: перспективы медицинского применения / Ж.В. Дайронас, И.Н. Зилфикаров. – МО, Щёлково: Издатель Мархотин П.Ю., 2011. – 252 с.
36. Данилов, Н.В. Идентификация и количественное определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского / Н.В. Данилов, К.В. Беляков, Д.М. Попов // Фармация. – 2000. - № 5-6. - С. 26-28
37. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Издательство СПХФА, 2001. – 663 с.
38. Долгова, А.А. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии / А.А. Долгова, Е.Я. Ладыгина. - М.: Медицина, 1977. - 255 с.
39. Дрозд, Г.А. Ограничения и противопоказания для лекарственного растительного сырья: Информационно-аналитическое пособие по побочным эффектам лекарственных растений / Г.А. Дрозд. – Курск: КГМУ, 2006. - 81 с.
40. Дрозд, Г.А. Безопасность использования лекарственного растительного сырья / Г.А. Дрозд, Н.Г. Лищук // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – Пятигорск. - 2007. - С. 467-468.
41. Жидкостная колоночная хроматография / Под ред. З. Дейла, К. Мацека, Я. Янака (пер. с англ.). – М.: Мир, 1978. – 428 с.

42. Завражнов, В.И. Лекарственные растения центрального Черноземья / В.И. Завражнов, В.А. Китаева, К.Ф. Хмелев. – Воронеж: Изд-во ВГЦ, 1977. – С. 174, 316, 448.
43. Замятина, Н. Лекарственные растения / Н. Замятина – М.: АБФ, 1998. – 493 с.
44. Землинский, С.Е. Лекарственные растения СССР / С.Е. Землинский. – Москва: Государственное издательство медицинской литературы, 1958. – С. 126-127; С. 164-166.
45. Зузук, Б.М. Щавель густой. *Rumex confertus* Willd. (аналитический обзор) / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик, Н.К. Федущак // Провизор. – 2004. - № 1. - С. 32-35.
46. Зузук, Б.М. Щавель густой. *Rumex confertus* Willd. (Аналитический обзор) / Б.М.Зузук, Р.В. Куцик, Н.К. Федущак // Провизор. – 2004. - № 2. - С. 25-29.
47. Кемертелидзе, Э.П. Физико-химические методы анализа некоторых биологически активных веществ растительного происхождения / Э.П. Кемертелидзе, В.П. Георгиевский.– Тбилиси: Мецниереба, 1976. – 222 с.
48. Киселева, Т.Л. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова. – М., 2009. – 295 с.
49. Киселева, Т.Л. Краткая энциклопедия современной фитотерапии с основами гомеопатии. Справочник практического врача. / Т.Л. Киселева [и др.]. – М.: Изд-во профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2010. – 552 с.
50. Киселева, Т.Л. Отечественные фармакопейные растения и сырье: учебное пособие / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова, А.А. Карпеев. – М., 2009. – 108 с.
51. Клиническая фармакология / В.В. Закусов. – М.: Медицина, 1998. - 608 с.

52. Ковалев, В.Н. Практикум по фармакогнозии: учебное пособие / В.Н. Ковалев, Н.В. Попов, В.С. Кисличенко; под. общ. ред. В.Н. Ковалева. – Харьков: Изд-во НФаУ: Золотые страницы: МТК – Книга, 2004. – 512 с.
53. Кос, О. И. Кількісний вміст щавелевої кислоти в рослинах роду щавель / О.И. Кос, Л.В. Бензель // Фармацевтический журнал. - 1999. - № 2. - С. 38–41
54. Куркин, В.А. Фитохимическое исследование коры крушины ломкой / В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева // Медицинский альманах. – 2012. – № 1 (20). – С. 218-220.
55. Куркин, В.А. Определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского / В.А. Куркин, Н.В. Зайцева, Е.В. Авдеева // Фармация. – 2013. - № 1. – С. 8-10.
56. Куркин, В.А. Иллюстрированный словарь терминов и понятий в фармакогнозии: Учебное пособие для студентов медицинских и фармацевтических вузов, врачей и фармацевтических работников // В.А. Куркин, В.Ф. Новодранова, Т.В. Куркина. – Москва; Самара: ГП «Перспектива», СамГМУ, 2002. - 188 с.
57. Куркин, В.А. Антрахиноны и производные нафталина *Rumex confertus* / В.А. Куркин, Н.В. Зайцева, Е.В. Авдеева, Е.Д. Даева, В.И. Каденцев // Химия природных соединений. – 2013. - № 1. – С. 118-119.
58. Куркин, В.А. Физико-химические методы исследования природных биологически активных соединений. Ч. 1. Хроматографические методы: Учебное пособие / В.А. Куркин, В.Б. Браславский, Е.В. Авдеева, М.Ф. Сенцов, Л.Д. Климова, И.Ф. Шаталаев. – Самара: СамГМУ, 1997. – 38 с.
59. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. - 963 с.

60. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармац. вузов. – Изд. 2-ое, перераб. и доп. / В.А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. – 1239 с.
61. Куркин, В.А. Зверобой: итоги и перспективы создания лекарственных средств: монография / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева. – Самара: ООО «Офорт» ГОУ ВПО «СамГМУ», 2008. - 128 с.
62. Курочкин, Е. И. Лекарственные растения. – 4-е изд., испр. и доп. / Е. И. Курочкин. – Самара: Парус, 1998. – 510 с.
63. Кучеров, Е.В. Дикорастущие пищевые растения и их использование / Е.В. Кучеров. – Уфа: РИО Госкомиздата БССР, 1990. – 160 с.
64. Кожечкин С.Н. Несовместимость лекарственных средств / С.Н. Кожечкин // Медико-фармацевтический вестник. – 1966. - № 4-5. – С. 10-17.
65. Куриленко, В.А. О вреде самолечения травами / В.А. Куриленко // Вестник народной медицины России. – 1997. - № 4. – С. 35-36.
66. Куц, Н.Л. Запоры у детей / Н.Л. Куц. – Киев: Здоровья, 1976. - 176 с.
67. Кьосев, П.А. Полный справочник лекарственных растений / П.А. Кьосев. – М.: «Эксмо-Пресс», 2000. - 288 с.
68. Лавренов, В.К. Современная энциклопедия лекарственных растений / В.К. Лавренов, Г.В. Лавренова. – С.-Петербург: «Нева», 2006. – 272 с.
69. Лавренов, В.К. Важнейшие лекарственные растения / В.К. Лавренов, Г.В. Лавренова. – М.: «Издательство АСТ», 2004. - 510 с.
70. Лекарственные препараты, разрешенные к применению в СССР / М.А. Ключев [и др.] – М.: Медицина, 1979. – 352 с.
71. Лекарственные средства из растений (опыт ВИЛАР): Научное издание / С.А. Вичканова [и др.] – М.: АДРИС, 2009. – 432 с.

72. Лекарственные растения Государственной Фармакопеи. Фармакогнозия / В.А. Ермакова [и др.]; под ред. И.А. Самылиной, В.А. Северцевой. – М.: АНМИ, 2003. – 534 с.
73. Лесиовская, Е.Е. Фармакотерапия с основами фитотерапии: Учебное пособие для вузов. - 2-е изд. / Е.Е. Лесиовская, Л. В. Пастушенков. - М.: Издательская группа «ГЕОТАР-Медиа», 2003. – с. 592.
74. Лужников, Е.А. Клиническая токсикология / Е.А. Лужникова. – М.: Медицина, 2000. – 416 с.
75. Мансуров, Х.Х. Хронические запоры в «Каноне врачебной науки» Абуали Ибни Сино и современное состояние проблемы / Х.Х. Мансуров. – Здоровоохранение Таджикистана, 1979. - № 2. - С. 5-9.
76. Маркова, И.В. Слабительные средства / И.В. Маркова, В.Н. Саляев, Б.С. Утешев. – М., Медицина, 1979. – 584 с.
77. Максютин, Н.П. Растительные лекарственные средства / Н.П. Максютин, Н.Ф. Комиссаренко, А.П. Прокопенко. - Киев: Здоровья, 1985. – 280 с.
78. Машковский, М.Д. Лекарственные средства : в 2 т. / М.Д. Машковский. – Изд. 14-е. перераб.. испр. и доп. - М.: Новая волна, 2002. – 2 т.
79. Машковский, М.Д. Лекарственные растения: пособие для врачей / М.Д. Машковский. – М.: Медицина, 2001. – 539 с.
80. Минина, С.А. Химия и технология фитопрепаратов: Учебное пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. / С.А. Минина, И.Е. Каухова.– М.: Издательская группа «ГЕОТАР-Медиа», 2009. – 560 с.
81. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия: Учебник / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. - М.: Медицина, 2002. – 656 с.
82. Носов, А.М. Лекарственные растения /А.М. Носов. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 348 с.

83. Нуралиев, В. Лекарственные растения / В. Нуралиев. – Душанбе: «Маориф», 1988. – 287 с.
84. Новицкий, В.В. Разработка фармакопейной статьи «Щавеля конского корня» / В.В. Новичкий, Л. М. Огородова. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2011. – 430 с.
85. Пастушенков, Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии / Л.В. Пастушенков, Е.Е. Лесиовская - Ч. I, II. – С.-Пб.: СПХФИ, 1995. – С.
86. Пастушенков, Л.В. Лекарственные растения / Л.В. Пастушенков, Л.Л. Пастушенков, В.Л. Пастушенков – ЛЕНИЗДАТ.: Социально-коммерческая фирма «Человек», 1990. – С. 57.
87. Паламарчук, И.А. Изучение растительной клетки / И.А. Паламарчук, Т.Д. Веселова. – М.: Просвещение, 1969. – 143 с.
88. Племенков, В.В. Введение в химию природных соединений / В.В. Племенков. – Казань, 2001. – 376 с.
89. Правила сбора и сушки лекарственных растений (сборник инструкций). М.: Медицина, 1985. – С. 299-302.
90. Растения для нас: Справочное издание / Г.П. Яковлев [и др.] – С.-Пб.: Учебная книга, 1996. – 654 с.
91. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства *Fabaceae* – *Apiaceae* / А.Л. Буданцев [и др.]. - М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 601 с.
92. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Magnoliaceae* - *Limoniaceae*. – Л.: Наука, 1984. – 460 с.
93. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 1. Семейства *Magnoliaceae* – *Juglandaceae*, *Ulmaceae*, *Moraceae*, *Cannabiaceae*,

- Urticaceae.* / Отв. редактор А.Л. Буданцев. - СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. - 421 с.
94. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. – М.: Медицина, 1990. – 206 с.
 95. Соколов, С.Я. Фитотерапия и фармакология / С.Я. Соколов. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2000. – 976 с.
 96. Самылина, И.А. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие: в 2-х томах, / И.А. Самылина, О.Г. Аносова. - М.: Издательская группа «ГЕОТАР-Медиа», 2007. - Том 2. - 384 с.
 97. Соколов, С.Я. Фармакотерапия и фитофармакология. Руководство для врачей. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2000. – 976 с.
 98. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям (фитотерапия) / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. – М.: Медицина, 1985. – 463 с.
 99. Справочник по гастроэнтерологии / Под ред. В.Х. Василенко, - М.: Медицина, 1976. – 384 с.
 100. Тенцова, А.И. Слабительные средства растительного происхождения и их применение / А.И. Тенцова. – М. – 1982. – 56 с.
 101. Турова, А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А.Д. Турова. – М.: Медицина, 1974. – 424 с.
 102. Турищев, С. Об осложнениях фитотерапии / С. Турищев // Врач. - 1997. - № 11. – С. 11.
 103. Федоров, А.А. Жизнь растений в шести томах – Т.5(1). – Москва: «Просвещение», 1980. – 382 с.
 104. Химический анализ лекарственных растений: Учебное пособие для фармацевтических вузов / Е.Я. Ладыгина [и др.] - М.: Высш. школа, 1983. - С. 67-81.

105. Хржановский, В.Г. Практикум по курсу общей ботаники: Учеб. пособие / В.Г. Хржановский, С.Ф. Пономаренко. – М.: Высш. школа, 1979. – 422 с.
106. Хроматография в тонких слоях / Под ред. Э. Шталя. – М.: Мир, 1965. – 508 с.
107. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации плодов жостера слабительного / В.А. Куркин А.А. Шмыгарева // **Фармация.** – 2012. – № 6. – С. 10-14.
108. Шмыгарева, А.А. Сравнительное фитохимическое исследование коры крушины ломкой и плодов жостера слабительного // В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, А.Н. Саньков // Оренбургский медицинский вестник. – 2012. – № 1 – С. 5-8.
109. Baars, A.J. Gas chromatographic determination of the laxative 1,8-dahidroxyanthraquinone in urine and faeces / A.J. Baars, R.J. Vermeulen, D.D. Breimer. – J. Chromatogr. – 1976. - Vol. 120, No 1. – P. 217-220.
110. Bedevian, AK. Illustrated polyglottic dictionary of plant names in Latin, Arabic, Armenian, English, French, German, Italian and Turkish languages / AK. Bedevian. - Cairo, Argus & Papazian Press, 1936. – 203 p.
111. Beubler, E. PGE-mediated effect of diphenolic laxatives / E. Beubler, H. Guan // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. - 1978. - Vol. 302, Suppl. - P. 47.
112. Bonati A. Analysis by HPLC of anthraquinone drugs and relevant extracts. Part. 1. Rhamnus frangula L. / A. Bonati, G. Forni. – Phytoterapia. – 1977. - Vol. 48, No 4. – P. 159-165.
113. Breimer, D.D. Pharmacokinetics and metabolism of anthraquinone laxatives / D.D. Breimer, A.J. Baars. – Pharmacology. – 1976. -Vol. 14, Suppl. 1. – P. 30-47.
114. British herbal Pharmacopeia, 1996.

115. Bruneton, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants / J. Bruneton.
- Paris, Lavoisier, 1995. - P. 125.
116. Converse, Carmen K. 1984. Element stewardship abstract: *Rhamnus cathartica*, *Rhamnus frangula* (syn. *Frangula alnus*)-buckthorns, [Online]. In: Control methods--plants. In: Invasives on the web: The global invasive species team. Davis, CA: The Nature Conservancy (Producer). Available: <http://tncinvasives.ucdavis.edu/esadocs/documnts/franaln.pdf> [2008, November 21].
117. Demirezen, L.O. Records of Natural Products / L.O. Demirezen , N. Karahan, E. Ucakturk, A. Kuruuzum – Uz, Z. Guven alp, C. Kazaz, - 2011. - No 4. – P. 261.
118. Dean, P D G, Ed Affinity Chromatography. A Practical Approach - IRL Press. / P D G Dean, W S Johnson, F A Middle. - Oxford, England, 1985. – P. 215.
119. Ebel, S. Differenzierte Bestimmung von Anthrachinonderivaten und Glycosiden / S. Ebel, M. Kaal. – Planta med. – 1977. - Bd 32, No 1. – S. 27-29.
120. Ebel, S. Zur Analytik von Anthrachinondrogen. I. Hydrolyse der Glycoside direkt auf der DC-Platte / S. Ebel, M. Kaal. – Planta med. – 1980. – Vol. 40, No 3. – P. 271-277.
121. European pharmacopoeia 4-th Ed., 2008.
122. Forgacs, E. Molecular Bases of Chromatographic Separation / E. Forgacs, T. Cserhati. - Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 1997. – P. 288.
123. Forni, G.P. Utilisation de la HPLC pour la determination des heterosides hydroxyanthraceniques. Groupe polyphenols. Resumes conf. et commun. Assem gen. annu / G.P. Forni. – Nancy, 1978.
124. Forth, W. Allgemeine and spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 2 Auff. B.I. / W. Forth, D. Henschler, W. Rummer. – Wissenschaftsverlag, Mannheim, 1977. - S. 49.

125. German Homeopathic Pharmacopoeia 5th supplement, 1991
126. Kubiak, M. Dynamika gromadzenia antrazwiazkow w korze kruszyny pospolitej (*Rhamnus frangula* L.) / M. Kubiak. – *Herba pol.* – 1977. - Vol. 23. No 4. – P. 307-312.
127. Kubiak, M. Metoda rozdzielczego oznaczenia glownych zwiazkow czynnych kory kruszyny pospolitej (*Rhamnus frangula* L.) / M. Kubiak. – *Herba pol.* – 1977. - Vol. 23. No 3. – P. 217-224.
128. Labadie, R.P. Enzymatic hydrolysis of anthraglycosides on thin layer chromatograms / R.P. Labadie, M.B.M. Morrien. – *Pharm. Weekbl.* – 1978. - Vol. 113, No 1. – P. 1-9.
129. Leung, AY. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics, 2-nd ed. / AY. Leung , S. Foster. - New York, NY, John Wiley & Sons, 1996. – P. 330.
130. Lemmens, L. Determination of dihydroxydianthrone by densitometry / L. Ltmms. - *J. Pharm. Pharmacol.* – 1977. - Vol. 132, No 2. - P. 363-365.
131. Lemli, J. Les heterosides anthroniques de *Cassia anqustifolia* pendant le developpement de la plante / J. Lemli, J. Cuveele. – *Phytochemistry.* – 1975. - Vol. 14, No 5-6. – P. 1397-1401.
132. Mabry, T.J. The Systematic Identification of Flavonoids / T.J. Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas. - Berlin; Heidelberg; New York, 1970. – 354 p.
133. Muzychkina, R.A. Natural anthraquinones. Biological properties and physicochemical characteristics. /Ed. by G.A. Tolstikov. - Moscow: PHASIS, 1998. – 864 p.
134. Touchslone, J.C. Practice of Thin Layer Chromatography, 3-rd Ed / J.C. Touchslone. - John Wiley & Sons, New York, U.S.A, 1992. – P. 416.
135. Trease, Evans W.C. Pharmacognosy. – 16-th edition. Edinburgh – London – New York – Philadelphia – St. Louis Sydney – Toronto: Saunders Elsevier, 2009. - 603 p.

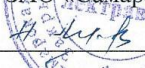
136. Tyler, V.E. The new honest herbal / V.E. Tyler. - George F. Stickley Company, Philadelphia, 1987. – P. 243.
137. Rai, P. P. Thin-layer densinometric determination of individual dehydroxyanthraquinone derivatives / P.P. Rai. – Chromatographia, 1980. - Vol. 13, No 12. - P. 763-764.
138. Van, Os F.H.L Anthraquinone derivatives in vegetable laxatives / Os F.H.L Van. // Pharmacology. - 1976. - Vol. 14, Suppl. 1. - P. 7-17.
139. Van, Os F.H.L. Some aspects of the pharmacology of anthraquinone drugs / Os F.H.L Van. – Pharmacology. - 1976. - Vol.14, Suppl. 1. - P. 18-29.
140. Vyth, A. Detection of anthraquinone laxatives in the urine / A. Vyth, P.E. Kamp. – Pharm, Weekbl. Sci. Ed. – 1979 - Vol. 1, No 4. – P. 456-459.
141. Wagner, H. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas / H. Wagner, S. Bladt. - Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag, 1996. - 384 p.
142. Wagner, H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe / H. Wagner. - Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1993. – 522 p.
143. WHO monographs on selected medicinal plants. Vol. I. Geneva, World Health Organization, 1999.
144. Youngken, HW. Textbook of pharmacognosy, 6th ed. Philadelphia / Youngken, HW. - PA, Blakiston, 1950.
145. Zwaving, J.N. Recent developments in the analysis of anthraquinone derivatives / J.N. Zwaving // Pharmacology. - 1980. - Vol. 20, Suppl. 1. - P. 65-75.

ПРИЛОЖЕНИЕ

1-5 Акты внедрения

6 – ФС « Щавеля конского корни»

7 - Рационализаторское предложение

«Утверждаю»
Генеральный директор
ЗАО «Самаралектравы»
 Н.Д. Лужнов
«12» февраля 2014 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Зайцевой Надежды Вячеславовны
«Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского
(*Rumex confertus* Willd.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук
по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия»
(фармацевтические науки) на ЗАО «Самаралектравы»

Комиссия сотрудников ЗАО «Самаралектравы» в составе зав. производством ЗАО «Самаралектравы» А.Н. Загарянского, главного инженера А.В. Никитенкова подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.В. Зайцевой, посвященного изучению химического состава, особенностей анатомо-морфологического строения, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов на основе корней щавеля конского, содержащего антраценпроизводные. Разработанные методики анализа апробированы в процессе работы предприятия. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов на основе корней щавеля конского.

Члены комиссии:

Зав. производством
ЗАО «Самаралектравы»



А.Н. Загарянский

Главный инженер
ЗАО «Самаралектравы»



А.В. Никитенков

Приложение 2

«Утверждаю»

Ректор ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава
России, Академик РАМН,
лауреат Государственной премии РФ,
дважды лауреат премии Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор  Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ
«19»  2013 г.



АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Зайцевой Надежды Вячеславовны «Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармацевтической технологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии: зав. кафедрой фармацевтической технологии, д. фармацевт. н., профессора С.В. Первушкина, доцента, к. фармацевт. н. Л.Д. Климовой, старшего преподавателя к. фармацевт. н. О.В. Бер подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.В. Зайцевой, посвященного изучению химического состава и обоснованию использования в медицине лекарственного растительного сырья и препаратов на основе корней щавеля конского, содержащих антраценпроизводные, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе в области технологических исследований по производству лекарственных препаратов на основе антраценпроизводных. Используемые при этом результаты изучения химического состава, а также разработанные подходы к стандартизации сырья и лекарственных препаратов являются методической и методологической основой.

Члены комиссии:

зав. кафедрой фармацевтической технологии,
д. фармацевт. н., профессор

 С.В. Первушкин

Доцент кафедры фармацевтической технологии,
к. фармацевт. н.

 Л.Д. Климова

Старшего преподавателя кафедры фармацевтической технологии,
к. фармацевт. н.

 О.В. Бер

«Утверждаю»

Ректор ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава
России, академик РАМН,
лауреат Государственной премии РФ,
дважды лауреат премии Правительства
РФ, заслуженный деятель науки РФ,
профессор  Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ
«19»  2013 г.

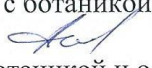
АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Зайцевой Надежды Вячеславовны «Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии: зав. кафедрой, д. фармац. н., профессора В.А. Куркина, профессора, д. фармац. н. Е.В. Авдеевой, доцента, д. фармац. н. О.Е. Правдивцевой, подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.В. Зайцевой, посвященного фармакогностическому исследованию и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных препаратов на основе корней щавеля конского, содержащих антраценпроизводные, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами в научно-исследовательской работе. Внедренные результаты способствуют более объективному анализу сырья и открывают перспективы для разработки новых лекарств с контролируемыми параметрами качества.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,
д. фармац. н., профессор  В.А. Куркин

Профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии
д. фармац. н.  Е.В. Авдеева

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии
д. фармац. н.  О.Е. Правдивцева

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

«Утверждаю»

Начальник ГБУЗ

"Центр контроля качества

лекарственных средств

Самарской области"

Е.А. Калабухова

2014 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Зайцевой Надежды Вячеславовны «Фармакогностическое исследование и стандартизация корней шавеля конского (*Rumex confertus* Willd.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в ГБУЗ "Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области"

Комиссия в составе сотрудников ГБУЗ "Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области": заместителя начальника центра Демидовой Г.А., провизора-аналитика Власовой Г.Н., провизора-аналитика Козловой Е.Е., подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.В. Зайцевой, посвященного фармакогностическому изучению корней шавеля конского при анализе лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе. Разработанные методики контроля качественного и количественного состава апробированы в процессе работы учреждения. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ, УФ-спектроскопии и хроматоспектрофотометрии в присутствии РСО 8-О-β-D-глюкозид эмолина. Методики определения подлинности сырья и препаратов на основе корней шавеля конского, а также методики количественного определения суммы антраценпроизводных воспроизводимы и удобны в работе. Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Н.В. Зайцевой будут способствовать повышению объективности стандартизации корней шавеля конского, а также лекарственных препаратов на основе данного сырья.

Члены комиссии:

Заместитель начальника ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» Г.А. ДЕМИДОВА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» Г.Н. ВЛАСОВА

Провизор-аналитик ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» Е.Е. КОЗЛОВА

443070, г. Самара, ул. Партизанская, д.33

«Утверждаю»

Ректор ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава
России, Академик РАМН,
лауреат Государственной премии РФ,
дважды лауреат премии Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор  Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ

«__» _____ 2013 г.

АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Зайцевой Надежды Вячеславовны «Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре химии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры химии фармацевтического факультета: зав. кафедрой химии фармацевтического факультета, д.б.н., профессора, И.Ф. Шаталаева, доцента, к.фармац.н. А.В. Воронина, доцента, к.х.н. С.Х. Шариповой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Н.В. Зайцевой, посвященного изучению химического состава, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов на основе корней щавеля конского, содержащего антраценпроизводные, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и интернами, а также в научно-исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного сырья содержащего антраценпроизводные. Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации лекарственных препаратов на основе корней щавеля конского.

Члены комиссии:

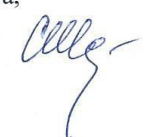
зав. кафедрой химии фармацевтического факультета,
д. б. н., профессор

 И.Ф. ШАТАЛАЕВ

Доцент кафедры химии фармацевтического факультета,
к. фармац. н.

 А.В. ВОРОНИН

Доцент кафедры химии фармацевтического факультета,
к. х. н.

 С.Х. ШАРИПОВА

443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89



государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего
профессионального образования

**«Самарский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России)**

ул. Чапаевская, 89, г. Самара, 443099
тел.: (846) 332-16-34, факс: (846) 333-29-76
E-mail: info@samsmu.ru
ОГРН 1026301426348
ИНН 6317002858

19.02.13. № 1230/01-37-560
На № _____ от _____

Генеральному директору ФГБУ
«Научный центр экспертизы
средств медицинского
применения»,
доктору медицинских наук,
профессору А.Н. МИРОНОВУ

127051, г. Москва,
Петровский бульвар, 8, строение 2

Глубокоуважаемый Александр Николаевич!

Ректорат Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации направляет Вам на рассмотрение с целью утверждения проекта фармакопейной статьи (ФС) на лекарственное растительное сырье «Щавеля конского корня» и пояснительную записку к ФС для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации XII издания.

Приложение: 1. Проект ФС «Щавеля конского корня» - 2 экз.
2. Пояснительная записка к ФС - 2 экз.

Ректор,
академик РАМН,
профессор

Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопей и международного сотрудничества ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», доктор фармацевтических наук, профессор

_____ **Е.И. САКАНЯН**

«___» _____ 20__ г.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО
СРЕДСТВА**

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Производитель: ЗАО «Самаралектравы» (п. Антоновка, Самарская область)

Заявитель и разработчик: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Щавеля конского корни

ФС 42-

Rúmicis conférti radices

взамен ВФС 42-1077-81

Срок введения установлен

с “___” _____ г.

до “___” _____ г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на воздушно-сухие измельченные корни щавеля конского – *Rúmex confértus* Willd., семейство сем. Гречишные - *Polygonaceae*.

ФС 42 _____ С. 2

**Спецификация лекарственного растительного сырья
«Щавеля конского корни»**

ЗАО «Самаралектравы», п. Антоновка

№ п/п	Показатель качества	Нормируемое значение	Используемый метод
1	2	3	4
1	Внешние признаки	Соответствие морфологическим признакам	Просмотр невооруженным глазом и под лупой (с увеличением $\times 10$)
2	Микроскопия	Соответствие анатомическим признакам	Просмотр под микроскопом (с увеличением не менее $\times 40$)
3	Качественные реакции	1. На хроматограмме при нанесении раствора А, приготовленного для количественного определения, должно обнаруживаться доминирующее пятно с величиной $R_f \sim 0,6$ (на уровне пятна ГСО 8-О-β-D-глюкозида эмодин); допускается наличие других пятен. 2. Спектр поглощения раствора Б, приготовленного для количественного определения, в области от 190 до 700 нм имеет максимум поглощения $\lambda_{\max} = 520 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$ (антраценпроизводные).	ТСХ-анализ Спектрофотометрия
Числовые показатели			
4	Количественное определение	Сумма антраценпроизводных в пересчете на	Спектрофотометрия

		8-О-β эмолина: не менее 3%;	
5	Влажность	не более 13%	ГФ XI, вып. 1, стр. 285
6	Золы общей	не более 10%	ГФ XI, вып. 2, стр. 24

ФС 42 _____ С. 3

1	2	3	4
7	Золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты	не более 5%	ГФ XI, вып. 2, стр. 25
8	Корневищ с остатками неотделенных стеблей	не более 5 %	Весовой
9	Измельченных частей менее 2 см	не более 3%	Весовой
10	Минеральной примеси	не более 1 %	Весовой
11	Органической примеси	не более 1%	Весовой
Другие показатели качества			
13	Микробиологическая чистота	Категория 3 Б	В соответствии с ГФ XI, вып. 2, стр. 193 и Изменением к ГФ XI от 28.12.95 г.
14	Отклонение средней массы от номинальной	Отклонение от номинальной массы в пачке не должно быть более $\pm 5 \%$	Весовой (по ОСТ 64-4-338-85)
15	Содержание радионуклидов	В соответствии с требованиями ВДУ ГН 2.6.005-93	Радиационный контроль
16	Упаковка	В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 17768-90. Антро - по ГОСТ 2226-88 и ГОСТ 30090-93 не более 20 кг нетто. По 100 г и 50 г по ГОСТ 12303-80. Транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.	Визуальный
17	Маркировка	В соответствии с ГОСТ 17768-90 и	Визуальный

	овка	ГОСТ 6077-80 со следующим дополнением: указывают массу, условия хранения, регистрационный номер, штрих-код, соответствие продукции требованиям ВДУ ГН 2.6.005-93 по содержанию радионуклидов. Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.	
18	Срок годности	5 лет.	

Внешние признаки. Цельные или продольно разрезанные корни, твердые, продольно-морщинистые, прямые или слегка изогнутые, длиной 3-10 см, толщиной 2-10 см. Цвет снаружи темно-бурый, на изломе - желтовато-бурый или серовато-бурый, внутри желто-оранжевого цвета. Излом неровный. Запах слабый, своеобразный. Вкус горьковатый, вязущий.

Микроскопия. Корни щавеля конского имеют вторичное строение. На поперечном срезе имеет округлую форму, четко выраженный цилиндр и первичную кору, с поверхности находится перидерма (пробка) (рис. 1). К центру от хорошо выделяющегося камбия расположены элементы вторичной ксилемы, а к периферии - вторичная флоэма. Во вторичной ксилеме хорошо заметны широкие первичные радиальные лучи паренхимы в количестве трех-четырех, достигающие центра корня, первичной ксилемы.

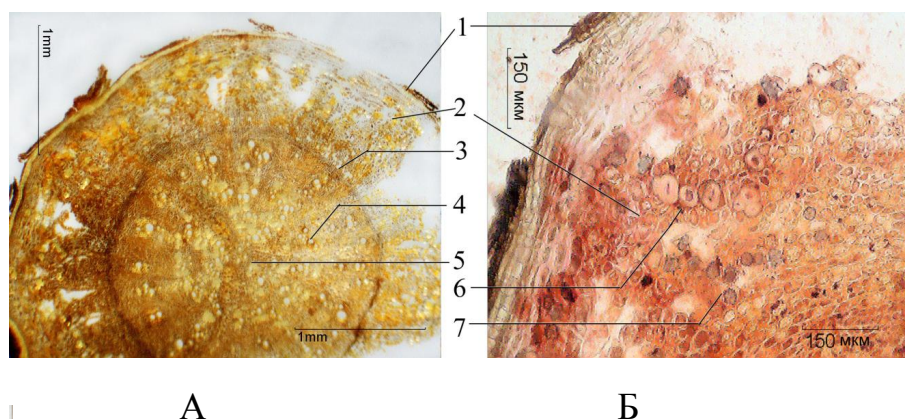
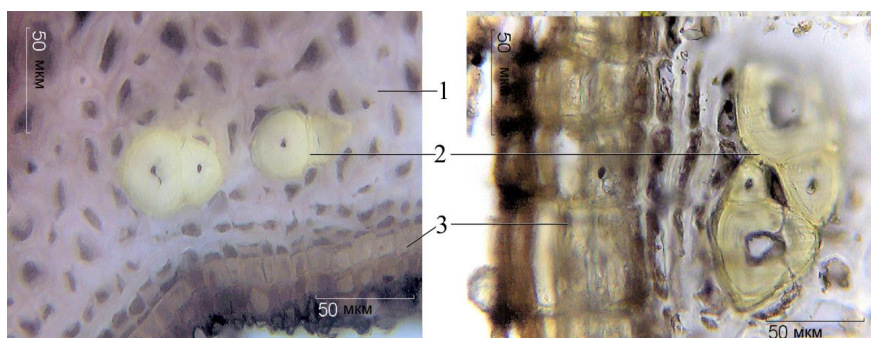


Рисунок 1 - Корень щавеля конского (3-5 мм). Поперечный срез. А – общий вид ($\times 20$); Б – фрагмент коры ($\times 100$); Окраска 5% раствором натрия гидроксида.

1 – пробка; 2 – паренхима коры; 3 – камбий; 4 –сосуды ксилемы; 5 – первичная ксилема; 6 – каменистые клетки; 7 – друзы.

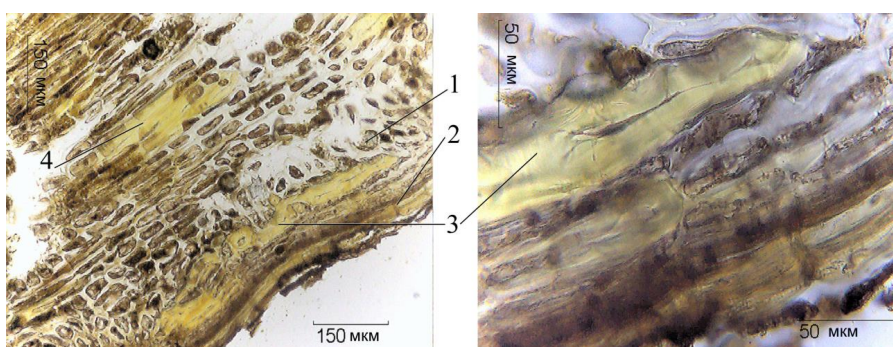


А

Б

Рисунок 2 - Склереиды корня щавеля конского. Продольный срез ($\times 400$)

1 – паренхима коровой части; 2 – склереиды; 3 – пробка.



А

Б

Рисунок 3 - Коровая часть корня щавеля конского. Продольный срез.

А – общий вид ($\times 100$);

Б – паренхима коровой части ($\times 400$)

1 – паренхима коровой части; 2 – пробка; 3 – склереиды; 4 – лубяные волокна

Пробковый слой состоит как из старых слущивающихся слоев, так и из новых слоев, состоящих из ровных 3-5 рядов клеток, правильной прямоугольной формы; при окрашивании 5 % раствором натрия гидроксида пробковый слой не окрашивается (в отличие от остальных тканей), что указывает на отсутствие антраценпроизводных в покровных тканях.

К центру от пробки располагается основная паренхима коровой части корня, отдельные клетки которой под воздействием 5 % раствора натрия

гидроксида окрашены в красный цвет (антраценпроизводные) (рис. 1). Прямоугольные клетки коровой паренхимы имеют более или менее утолщенные клеточные стенки и неправильное очертание полостей. Они располагаются рядами от 8 до 10.

На продольном срезе коровой части хорошо заметны элементы механической ткани – склереиды (рис. 2). Они представлены клетками округлой формы, нативно желтого цвета со щелевидным просветом посередине. В клеточных стенках склереид отсутствуют или изредка присутствуют поровые каналы (рис. 3).

Лубяные волокна локализуются во флоэме корня и в поперечном сечении, напоминают склереиды, однако они имеют продолговатую, прозенхимную форму, что хорошо заметно на продольном срезе (рис. 3).

Качественные реакции.

1. ТСХ-анализ. На линию старта пластинки “Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ” или “Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ” микропипеткой наносят 0,01 мл испытуемого раствора А (см. раздел «Количественное определение») и параллельно 0,02 г раствора 8-О-β-D-глюкозида эмолина (см. раздел «Количественное определение»). Затем хроматографическую пластинку помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч, со смесью растворителей: н-бутанол - ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2; 4:1:5, верхняя фаза), и хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт растворителей пройдет около 8 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе при комнатной температуре до удаления следов растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм и 366 нм. Затем хроматограмму обрабатывают раствором диазобензолсульфокислоты, высушивают при 100-105°C в течение 5 мин, на хроматограмме обнаруживается доминирующее пятно розового цвета с

величиной $R_f \sim 0,6$ (на уровне аналогичного пятна ГСО 8-О- β -D-глюкозида эмолина); допускается наличие других пятен.

Примечания: 1. Приготовление раствора ГСО 8-О- β -D-глюкозида эмолина. См. раствор А вещества в разделе “Количественное определение”. Срок годности раствора 1 мес.
2. Подготовка пластинок. Пластины “Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ” или «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ» (ТУ 26-11-17-89) разрезают поперек линий накатки соответственно на 2 части 10×5 см и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 110°C в течение 1 ч.
3. Приготовление раствора диазобензолсульфокислоты. 0,01 г диазобензолсульфокислоты (ГФ Х, стр. 876) растворяют в 10 мл 10 % раствора натрия карбоната. Раствор используют свежеприготовленным.

УФ-спектр. Электронный спектр поглощения раствора Б, приготовленного для количественного определения, в области от 190 до 700 нм имеет максимум поглощения $\lambda_{\max} = 520 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$ (рис. 4).

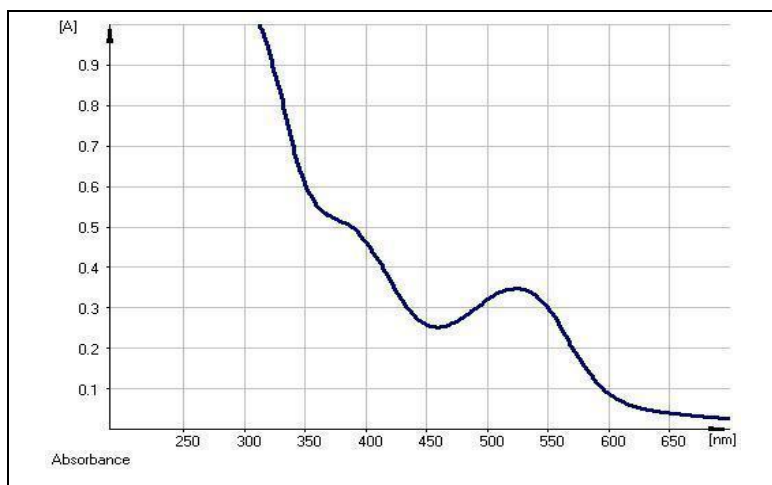


Рисунок 4 - УФ-спектр щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней щавеля конского

Количественное определение. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% спирта этилового. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до $\pm 0,01$ г.

Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная полоса»). Испытуемый раствор А готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным по фармакопейной методике. Испытуемый раствор А помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 520 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

Приготовление раствора 8-О-β-D-глюкозида эмодин - стандартного образца. Около 0,02 г (точная навеска) 8-О-β-D-глюкозида эмодин помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 96 % этилового спирта при нагревании. Затем содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры и доводят объем раствора 96 % этиловым спиртом до метки (раствор А 8-О-β-D-глюкозида эмодин). 1 мл раствора А 8-О-β-D-глюкозида эмодин помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором (испытуемый раствор Б). Раствор Б помещают в колбу емкостью 50 мл и нагревают в течение 15 мин

на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 520 нм. В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

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

$$X = \frac{D - D_0}{D_0} \cdot \frac{m_0}{m} \cdot 100,$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора ГСО 8-О-β-D-глюкозида эмодина;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса ГСО 8-О-β-D-глюкозида эмодина, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

В случае отсутствия вещества-стандарта, возможен расчет по следующей формуле, используя удельный показатель поглощения

$$X = \frac{E_{1\text{см}}^{1\%}}{m} \cdot 100, \text{ где}$$

160 - удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) ГСО 8-О-β-D-глюкозида эмодина при 520 нм.

Числовые показатели. Сумма антраценпроизводных в пересчете на 8-О-β-D-глюкозида эмодина - не менее 3 %, влажность - не более 13 %; корневищ с остатками неотделенных стеблей - не более 5 %; измельченных частей менее 2 см - не более 3%; посторонних примесей: органической - не более 1 %, минеральной - не более 0,5%.

Микробиологическая чистота. Категория 3 Б (в соответствии с ГФ XI, вып. 2, стр. 193 и Изменением к ГФ XI от 28.12.95 г.).

Упаковка. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГОСТ 17768-90. Ангро - в двойные мешки: внутренний - бумажный многослойный по ГОСТ 2226-88, наружный - тканевый по ГОСТ 30090-93 не более 20 кг нетто.

По 100 г и 50 г в пачки картонные тип 1-4 по ГОСТ 12303-80, изготовленные из картона типа «хром-эрзац» импортного или марки МО по ТУ 13-0281020-97-90, или МОО по ТУ 5453-015-04766356-95. В каждую пачку вкладывается инструкция по применению.

Транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Брутто транспортной тары не более 15 кг.

При фасовке по 50,0 г: содержимое трех пачек, взятых из средней пробы, взвешивают и вычисляют среднюю массу сырья в одной упаковке. Отклонение от номинальной массы не должно превышать $\pm 5 \%$ (в соответствии с ОСТ 64-4-338-85).

Маркировка. В соответствии с ГОСТ 17768-90. На пачке указывают предприятие-изготовитель и его товарный знак, название лекарственного средства на латинском и русском языках, массу при влажности 12 %, назначение, способ употребления, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, штрих-код, срок годности, условия отпуска «Безрецептурный», соответствие продукции требованиям ВДУ ГН 2.6.005-93 по содержанию радионуклидов «Продукция прошла радиационный контроль СанПиН 2.3.2.560-96».

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-77.

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 17768-90 и ГОСТ 6077-80.

Хранение. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГФ XI, вып. 1, с. 296.

Срок годности. 5 лет.

Фармакологическая группа. Слабительное и вяжущее средство.

Примечание. Реактивы и методики определения числовых показателей, приведенные в настоящей фармакопейной статье, описаны в соответствующих разделах Государственной фармакопеи СССР X и XI издания, вып. 1, 2.

Ректор ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России,
Академик РАМН, лауреат Государственной
премии РФ и дважды лауреат премии
Правительства РФ,
заслуженный деятель науки РФ,
профессор



Г.П. Котельников
«19» 02 2013 г.

Зав. кафедрой фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России,
профессор


«19» 02 2013 г. В.А. Куркин

Профессор кафедры фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России


«19» 02 2013 г. Е.В. Авдеева

Аспирант кафедры фармакогнозии
с ботаникой и основами фитотерапии
ГБОУ ВПО СамГМУ
Минздрава России


«19» 02 2013 г. Н.В. Зайцева



УДОСТОВЕРЕНИЕ

на рационализаторское предложение

№ 212

4 сентября 2012 г.

(дата подачи)

В соответствии с положением об открытиях, изобретениях и рационализаторских предложениях настоящее удостоверение выдано ЗАЙЦЕВОЙ НАДЕЖДЕ ВЯЧЕСЛАВОВНЕ,

Авдеевой Е.В.

(фамилия, имя, отчество)

на предложение, признанное рационализаторским и принятое Самарским государственным медицинским университетом

(наименование предприятия, организации)

18.09.12г.

(когда)

к использованию под наименованием: Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье - корнях щавеля конского.

(М.П.)

Руководитель предприятия
(организации)

Ректор

Г.П.Котельников

“ 18 ” сентября 20 12

Владелец рационализаторского предложения ГОУ ВПО “Самарский государственный медицинский университет Росздрава”

