

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

*На правах рукописи*

СЕМЕНЮТА КСЕНИЯ НИКОЛАЕВНА

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ  
КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО (*RHEUM PALMATUM L.*) И РЕВЕНЯ  
ЛЕКАРСТВЕННОГО (*RHEUM OFFICINALE B.*)**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:  
доктор фармацевтических наук, доцент  
Анна Анатольевна Шмыгарева

Самара – 2020

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ И АНАЛИЗА СЫРЬЯ РАСТЕНИЙ РОДА РЕВЕНЬ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	16
1.1. Представители рода Ревень, произрастающие на территории Российской Федерации, как перспективные источники лекарственных средств	16
1.2. Историческая справка	18
1.3. Характеристика рода Ревень	21
1.4. Ареал обитания, культивирования	22
1.5. Ботаническое описание	25
1.6. Анатомо-диагностические признаки представителей рода Ревень	28
1.7. Химический состав растений рода Ревень	30
1.8. Качественный и количественный анализ корней ревеня	32
1.9. Применение ревеня медицине	34
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	37
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
2.1. Объекты исследования	38
2.2. Методы исследования	40
2.2.1. Методики морфолого-анатомического анализа	40
2.2.2. Химические методы анализа	41
2.2.3. Хроматографические методы анализа	42
2.2.4. Спектральные методы анализа	44
2.2.5. Методы получения экстракционных лекарственных препаратов	45
ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ АНАТОМО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО И РЕВЕНЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО	47
3.1. Внешние признаки цельного сырья	49
3.2 Микроскопическое исследование корней ревеня тангутского	50
3.3 Микроскопическое исследование корней ревеня лекарственного	55
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	60
ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО И РЕВЕНЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО	61
4.1. Предварительное фитохимическое исследование корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного	62
4.1.1. Метод тонкослойной хроматографии	62
4.1.2. Метод спектрофотометрии	63
4.2. Выделение индивидуальных веществ из корней ревеня тангутского	66
4.3. Исследование фракций, содержащих перспективные индивидуальные вещества, выделенные из корней ревеня тангутского	67
4.4. Выделение индивидуальных веществ из корней ревеня лекарственного	67

4.5. Исследование фракций, содержащих перспективные индивидуальные вещества, выделенные из корней ревеня лекарственного	69
4.6. Идентификация выделенных веществ и их характеристики	69
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	76
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ И РАЗРАБОТКЕ МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО И РЕВЕНЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО	78
5.1. Качественный анализ корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного	81
5.1.1. Метод тонкослойной хроматографии	81
5.1.2. Метод спектрофотометрии	83
5.1.3. Метод ИК-спектроскопии	84
5.2. Разработка методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного	86
5.3. Разработка методики количественного определения суммы дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного	95
5.4. Валидационные характеристики методик количественного определения действующих веществ корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного	100
5.4.1. Валидационные характеристики методик количественного определения суммы антраценпроизводных корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного	100
5.4.2. Валидационные характеристики методик количественного определения суммы дубильных веществ корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного	108
5.5. Числовые показатели корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного	115
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	119
ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ПОДБОР МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО	121
6.1. Разработка способа получения и стандартизации лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»	121
6.1.1. Подбор методики изготовления экстракта корней ревеня тангутского	122
6.1.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского	123
6.1.3. Разработка состава лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»	126
6.1.4. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»	126

6.2. Испытания лекарственной формы «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» по показателям качества	129
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	131
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	136
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	137
ПРИЛОЖЕНИЯ	151
Приложение 1 – Проект ФС «Ревеня дланевидного корни»	152
Приложение 2 – Проект ФС «Ревеня лекарственного корни»	162
Приложение 3 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России	172
Приложение 4 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России	173
Приложение 5 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России	174
Приложение 6 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России	175
Приложение 7 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России	176
Приложение 8 – Акт внедрения ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения»	177
Приложение 9 – Акт внедрения ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»	178
Приложение 10 – Акт внедрения ЗАО «Самаралектравы»	179
Приложение 11 – Патент на изобретение «Способ получения экстракта ревеня тангутского в капсулах»	180

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Согласно Указу Президента Российской Федерации «О Стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года» основным вектором развития фармации является обеспечение населения эффективными лекарственными средствами. По этой причине все более актуальными становятся лекарственные препараты на основе лекарственных растений, имеющие массу преимуществ по отношению к синтетическим лекарственным средствам. Достоинства лекарственных препаратов растительного происхождения заключаются в широком спектре действия, мягком терапевтическом эффекте, а также низкой токсичности (Киселева Т.Л. и др., 2009; Куркин В.А., 2016; Самылина И.А. и др., 2004, 2008).

В последние годы отмечается рост заболеваний желудочно-кишечного тракта у населения. Для профилактики и лечения последствий подобных нарушений, а также с целью улучшения качества жизни часто используются слабительные средства (Куркин В.А., 2016; Самылина И.А. и др., 2008; Самбукова Т.В. и др., 2017). Среди большого числа слабительных лекарственных препаратов, представленных на современном российском фармацевтическом рынке, важное место занимают лекарственные препараты растительного происхождения. Доминирующей группой биологически активных веществ (БАВ), обуславливающих слабительный эффект лекарственных растительных препаратов, являются антраценпроизводные (Куркин В.А., 2016; Самылина И.А. и др., 2003; 2010). В природе существуют лекарственные растения, содержащие комбинацию антраценпроизводных и дубильных веществ. Этими растениями являются ревеня тангутский (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственный (*Rheum officinale* В.). Ревеня тангутский и ревеня лекарственный являются близкородственными видами растений, широко применяемыми в мировой практике в качестве слабительных средств. Данные виды лекарственных растений содержат следующие группы БАВ: антрахиноны, дубильные вещества, кумарины и флавоноиды, однако доминирующими являются антраценпроизводные и дубильные вещества. Изучаемые виды ревеня широко произрастают на территории Российской

Федерации. Ревень тангутский в диком виде встречается на территории Алтайского края, Амурской области, Восточной Сибири, Дальнего Востока и Кавказа, а также культивируется в Новосибирской области. Что же касается ревеня лекарственного, то он произрастает на юго-востоке Сибири ближе к границам Республики Казахстан, в Алтайском крае, а также на территории Республики Крым (Киселева Т.Л. и др., 2008; Куркин В.А., 2016; Самылина И.А. и др., 2003; 2010).

Ранее в Государственном реестре лекарственных средств были зарегистрированы немногочисленные препараты на основе ревеня тангутского, однако на сегодняшний день зарегистрированных препаратов нет. Ревень изучается по всему миру многие годы, но существуют определенные пробелы в вопросах стандартизации сырья. Нормативная документация (НД) на корни ревеня лекарственного в Российской Федерации отсутствует. Несмотря на наличие фармакопейной статьи на сырье ревеня тангутского (ревеня дланевидного), проблема стандартизации остается актуальной, так как методика количественного определения антраценпроизводных является продолжительной во времени и требует оптимизации процесса. Что же касается количественного определения дубильных веществ, то в Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания отсутствует методика количественного определения на сырье ревеня тангутского и не нормируется содержание дубильных веществ.

В связи с этим актуальным является углубленное изучение химического состава корней ревеня, внедрение современных методов исследования, разработка новых методик стандартизации сырья и препаратов на основе ревеня.

**Степень разработанности темы.** На сырье ревеня тангутского фармакопейная статья представлена в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания (2018 г.) и в Государственной фармакопее Республики Беларусь (2016 г.). Статьи на корни ревеня лекарственного в ГФ РФ XIV издания нет. Фармакопейная статья на сырье ревеня тангутского и ревеня лекарственного предложена в фармакопее Японии (2006 г.), Британии (2009 г.) и Европейской фармакопее (2016 г.).

В ФС.2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания для качественного анализа представлен метод тонкослойной хроматографии в системе растворителей хлороформ – этанол 96 % (9:1) с использованием стандартного образца (СО) франгула-эмолина, а для подтверждения наличия дубильных веществ – реакция осаждения с 1% раствором желатина. Для количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня в отечественной фармакопее предложен метод спектрофотометрии водно-спиртового извлечения сырья при длине волны 510 нм в пересчете на франгула-эмодин. Фармакопея Республики Беларусь (2016 г.) ссылается на Европейскую фармакопею (2016 г.) и рекомендует для определения качественного состава корней ревеня тангутского реакцию эфирного извлечения с водным раствором аммиака, при этом водный слой приобретает цвет от красного до фиолетового, а также разделение методом тонкослойной хроматографии подкисленного эфирного извлечения с раствором сравнения – эмодином в системе растворителей: кислота муравьиная безводная–этилацетат – петролейный эфир (1:25:75) с детектированием в УФ-свете при длине волны 365 нм и обнаружением пяти флуоресцирующих зон (хризофанол, фисцион, эмодин, реин, алоэ-эмодин), которые после обработки раствором гидроксида калия в метаноле приобретают цвет от красного до фиолетового. Количественно определяется содержание суммы гидроксиантраценпроизводных в пересчете на реин и антраценпроизводных в пересчете на истизин методом спектрофотометрии.

Британская фармакопея (2009 г.) использует методики Европейской фармакопеи, описанные выше. Европейская фармакопея (2016 г.) содержит методику определения дубильных веществ в пересчете на танин методом спектрофотометрии с использованием молибдата аммония.

Методики, используемые Японской фармакопеей (2006 г.), отличаются от описанных выше. Для качественного определения используется тонкослойная хроматография водно-тетрафуранового извлечения (3:7) на силикагеле в системе растворителей пропанол–этилацетат–вода–уксусная кислота (40:40:30:10) с детектированием в УФ-свете при длине волны 365 нм, в качестве метчика

выступает раствор сеннозида А. Количественное определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с определением площади пика сеннозида А, подвижной фазой служит смесь разведенной уксусной кислоты и ацетонитрила (4:1).

Таким образом, несмотря на наличие ФС.2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания, проблемы совершенствования стандартизации остаются актуальными в виду наличия близкородственного вида – ревеня лекарственного. В результате проведенного анализа фармакопей стран мира можно сделать вывод, что ремень лекарственный широко используется в мировой практике наравне с ременем тангутским. Однако единообразия методов качественного и количественного анализа нет, соответственно актуальным является углубленное изучение химического состава и разработка методов стандартизации сырья данных растений.

**Цель и задачи исследования.** Целью диссертационного исследования является сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) в области совершенствования методов стандартизации сырья и препаратов исследуемых видов растений.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить и систематизировать данные литературных источников по вопросам химического состава, фармакологического действия, применения и стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП) ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

2. Провести сравнительное морфолого-анатомическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.)

3. Исследовать и сравнить химический состав корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.).



4. Разработать методики качественного анализа для корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.).

5. Разработать методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.).

6. Разработать методики количественного определения суммы дубильных веществ в корнях ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.).

7. Разработать показатели качества для сырья ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.).

8. Разработать состав, подобрать методику получения и стандартизации лекарственного растительного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах».

9. На основе результатов фармакогностических исследований разработать проект фармакопейной статьи «Ревеня лекарственного корни», а также дополнения к ФС 2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение»).

**Научная новизна.** Впервые в сравнительном плане исследованы морфолого-анатомические особенности корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного и выявлены диагностически значимые признаки, являющиеся общими для представителей рода Ревень (*Rheum* L.): крупные друзы оксалата кальция звездчатой формы, воронковидно-расширенные сердцевинные лучи, фрагменты темно-коричневой пробки, сетчатые сосуды. Выявлены новые, ранее не описанные признаки, селективно отличающие корни сравниваемых видов ревеня. К таким признакам нами отнесены: слой склереид под пробковым слоем и особенности их люминесценции, крахмальные зерна овальной, каплевидной или почти округлой формы без центров кристаллизации и растрескивания у ревеня лекарственного; кристаллические включения в лубяной паренхиме, люминесцирующие в УФ-свете с  $\lambda=360$  нм ярко-голубой флуоресценцией, у ревеня тангутского.

В результате изучения химического состава корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) выделены и идентифицированы с использованием спектрофотометрии, <sup>1</sup>H-ЯМР-, <sup>13</sup>C-ЯМР-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также результатов химических превращений 5 индивидуальных веществ: франгула-эмодин, хризофанеин, пальматин, катехин, неподин. Доказана целесообразность стандартизации корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) по дубильным веществам (вторая доминирующая группа БАВ) с использованием стандартного образца катехина.

Разработаны и описаны показатели качества, испытания, методики качественного и количественного анализа антраценпроизводных в препарате «Ревеня тангутского экстракт в капсулах».

**Теоретическая и практическая значимость.** В результате сравнительного изучения химического состава сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного расширены представления о компонентном составе. Разработаны методики качественного и количественного анализа антраценпроизводных и дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного методами тонкослойной хроматографии, ИК-спектроскопии, спектрофотометрии, с использованием стандартных образцов франгула-эмодина, неподина, хризофанеина, пальматина, катехина. Разработаны показатели качества корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, включая числовые (содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин не менее 2,5% и 2,3%, суммы дубильных веществ не менее 21% и 22% соответственно). Разработан проект фармакопейной статьи «Ревеня лекарственного корни», а также дополнения к ФС 2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение»). Разработан состав, подобрана методика получения и стандартизации лекарственного растительного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах».

**Методология и методы исследования.** Методология диссертационной работы базируется на глубоком изучении и системном обобщении данных

литературных источников в области фармакогностического исследования корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, оценки актуальности работы и степени разработки темы исследования. План, объекты и методы диссертационного исследования определялись в соответствии с утвержденными задачами и целью. Объектами исследования служили промышленные образцы корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, различные извлечения из сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного, а также созданный нами препарат «Ревеня тангутского экстракт в капсулах». Исследование проводили с использованием цифровой и люминесцентной микроскопии, пробирочных и гистохимических реакций, колоночной и тонкослойной хроматографии (ТСХ), а также современных спектральных методов: ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектрофотометрии. Данные, полученные в результате исследований, подвергались математической обработке в соответствии с ГФ РФ XIV издания с применением компьютерного программного обеспечения.

**Связь задач исследования с планами научных работ.** Диссертационная работа выполнялась согласно тематическому плану научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (115042810034 до 14.05.2019, наименование НИОКР - «Комплексные исследования по разработке лекарственных средств природного и синтетического происхождения»; с 14.05.2019 номер государственной регистрации темы АААА-А19-119051490148-7, наименование НИОКР – «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов»).

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты сравнительного морфолого-анатомического исследования корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного.
2. Результаты сравнительного изучения химического состава корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного.
3. Результаты исследований по разработке методик качественного и количественного анализа ЛРС ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

4. Данные по разработке показателей качества корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного.
5. Данные по разработке состава, методик получения и стандартизации лекарственного растительного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах».
6. Результаты исследований по разработке проекта фармакопейной статьи «Ревеня лекарственного корни», а также дополнения к ФС 2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение»).

**Степень достоверности.** Достоверность диссертационной работы подтверждена экспериментальными данными, полученными с использованием цифровой и люминесцентной микроскопии, пробирочных и гистохимических реакций, колоночной и тонкослойной хроматографии (ТСХ), а также современных спектральных методов: ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектрофотометрии, что подтверждается большим количеством рисунков, таблиц, схем и фотографий хроматограмм. Все результаты исследований подвергались статистической обработке в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания, с использованием программы «Microsoft Excel». Различия между группами считались статистически значимыми при  $P < 0,05$ . Разработанные методики количественного определения валидированы.

**Апробация работы.** Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на областных, российских и международных конференциях: VIII Международной научно-практической конференции «Наука, образование и инновации» (г. Екатеринбург, 2016 г.), IX Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития науки в России и мире» (г. Екатеринбург, 2017 г.), Международной научно-практической конференции «Междисциплинарность науки как фактор инновационного развития» (г. Екатеринбург, 2017 г.), Международной научно-практической конференции «Концепции фундаментальных и прикладных научных исследований» (г. Оренбург, 2018 г.), Научно-методической конференции IV Гаммермановские

чтения (г. Москва, 2018 г.), IV Межвузовской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета (г. Самара, 2019 г.).

**Публикации.** По теме исследования опубликовано 15 печатных работ, из них 5 статей в журналах, рекомендуемых ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, и 2 статьи в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах (Scopus), получен патент Российской Федерации № 2730489 «Способ получения экстракта ревеня тангутского в капсулах».

**Внедрение в практику.** Результаты, полученные в ходе проведения диссертационного исследования, применяются в научном и учебном процессе в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России: на кафедре фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, кафедре управления и экономики фармации, кафедре химии фармацевтического факультета, кафедре фармацевтической технологии; в ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России на кафедре управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии; в производственном процессе на ЗАО «Самаралектравы»; в рабочем процессе ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения».

**Личный вклад автора.** Все описанные в диссертационной работе результаты исследований получены автором. Автором проведено исследование морфолого-анатомического строения корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, выявлены характерные диагностические признаки корней данных растений. Проведена сравнительная оценка фитохимического состава корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, из корней данных видов ревеня выделено и идентифицировано 5 индивидуальных соединения, разработаны и обоснованы методики стандартизации сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Для целей качественного и количественного анализа антраценпроизводных и дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня

лекарственного рекомендованы методы тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. Предложен состав, методики получения и стандартизации лекарственного растительного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах».

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Основные положения, описанные в диссертационной работе, соответствуют паспорту научной специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) по пунктам: 2 – «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; 3 – «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»; 5 – «Изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье»; 6 – «Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе».

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа изложена на 180 страницах машинописного текста, содержит 37 таблиц, 42 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 130 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 обзор отечественной и зарубежной литературы по современному

состоянию исследований представителей рода Ревень. В главе подробно описаны данные, касающиеся макро- и микроскопических характеристик представителей рода Ревень, ареала произрастания, химического состава, методик качественного и количественного анализа. Кроме того, в данной главе представлена информация о применении видов рода Ревень в медицинской практике. В *главе 2* представлена характеристика объектов и методов исследования. Подробно описаны используемые для изучения лекарственного сырья и индивидуальных химических веществ методики. В *главе 3* обсуждаются результаты сравнительного морфолого-анатомического исследования корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного. В *главе 4* приведены результаты сравнительного фитохимического исследования корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного. *Глава 5* посвящена разработанным методикам качественного и количественного анализа корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного. В *главе 6* приводятся результаты исследований по обоснованию состава, подборке методики получения и стандартизации лекарственного растительного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах». Диссертация завершается заключением и списком литературы. В приложениях представлены акты внедрения, патент РФ № 2730489 «Способ получения экстракта ревеня тангутского в капсулах», проект фармакопейной статьи «Ревеня лекарственного корни», а также дополнения к ФС 2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение»).

# ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ И АНАЛИЗА СЫРЬЯ РАСТЕНИЙ РОДА РЕВЕНЬ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

История применения растений рода Ревень насчитывает более 4 тысяч лет [71]. Широко применяемый в китайской традиционной медицине ревень с течением времени ассимилировался не только в европейскую, но и в американскую медицину. В настоящее время в отечественной медицине ревень практически не применяется, однако в мировой практике различные его виды находят активное применение, что обусловлено уникальным составом – комбинацией двух групп биологически активных веществ – антраценпроизводных и дубильных веществ [48, 60, 120, 126]. Сырьевая база рода Ревень достаточно богата [53, 59, 80], однако число препаратов на его основе, зарегистрированных в Российской Федерации, невелико [36]. Данные факты обуславливают актуальность исследований растений рода Ревень.

## 1.1. Представители рода Ревень, произрастающие на территории Российской Федерации, как перспективные источники лекарственных средств

В природе насчитывается около 100 видов рода Ревень [54, 107]. Среди них произрастают и культивируются на территории России следующие виды семейства Гречишные (*Polygonaceae* Juss.):

1. Ревень лекарственный (*Rheum officinale* В.)
2. Ревень тангутский (*Rheum tanguticum* L. var. *Rheum palmatum* L.)
3. Ревень черноморский (*Rheum rhaponticum* L.)
4. Ревень волнистый (*Rheum rhabarbarum* L.)



5. Ревень компактный (*Rheum compactum* L.)
6. Ревень Эмоди (*Rheum emodi* Juss.)
7. Ревень Виттрока (*Rheum wittrockii* Lindstroem.)
8. Ревень восточный (*Rheum orientale* Losinsk)
9. Ревень алтайский (*Rheum altaicum* Losinsk)
10. Ревень смородинный (*Rheum ribes* L.)
11. Ревень крупноплодный (*Rheum macrocarpum* Losinsk)
12. Ревень татарский (*Rheum tataricum* Losinsk)
13. Ревень туркестанский (*Rheum turkestanicum* Janisch)
14. Ревень скальный (*Rheum rupestre* Litv. ex Losinsk)
15. Ревень Коржинского (*Rheum Korshinskyi* Titov)
16. Ревень блестящий (*Rheum lucidum* A. Los.)
17. Ревень дарвазский (*Rheum darvasicum* Titov)
18. Ревень бесстебельный (*Rheum rhizostachyum* Shrenk)
19. Ревень сетчатый (*Rheum reticulatum* A. Los.)
20. Ревень низкий (*Rheum nanum* Siewers)
21. Ревень Федченко (*Rheum Fedtschenkoi* Maxim)
22. Ревень сердцевидный (*Rheum cordatum* A. Los.)
23. Ревень гиссарский (*Rheum hissaricum* A. Los.)
24. Ревень складчатый (*Rheum plicatum* A. Los.)

Некоторые виды ревеня подверглись селекции и культивируются в пищевых целях [44, 81]. В Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания в качестве фармакопейного растения указывается только один вид ревеня – ревеня тангутский (*Rheum palmatum* L. var. *Rheum tanguticum* L.) [32], однако на территории Российской Федерации произрастают и другие виды [44, 81].

Среди вышеперечисленных видов перспективным для изучения и дальнейшего использования видом является ревеня лекарственный (*Rheum officinale* В.), который в британской, европейской, японской и германской гомеопатической фармакопеех является фармакопейным видом наравне с ревенем тангутским [28, 29, 99, 105].

Согласно обзорным исследованиям литературных источников ревень является широко используемым родом. В мировой медицинской практике применяются два вида рода ревень, которые произрастают на территории нашей страны [44, 81]. Поэтому для фармакогностического исследования были выбраны ревень тангутский и ревень лекарственный.

## 1.2. Историческая справка

С давних времен ревень был известен под названием «рабарбар» (варварский) или рапонтик (понтийский). В качестве родового наименования *Rhabarbarum* его приводит Турнефор (1700 г.), так же называют род Филлип Миллер (1721 г., 1731 г.) и даже значительно позднее Адансон. Впервые название *Rheum* дал роду Линней в первом издании «*General plantarum*» в 1737 г., а в «*Species Plantarum*» издания 1753 г. Линней даёт уже краткую характеристику трех видов ревеня. Древнегреческое название ревеня – ῥήον (произносимое, как «рау») встречается в работах Педания Диоскорида – практикующего врача, жившего в I в. н.э., что и обуславливает латинское родовое наименование растения – *Rheum*. Родиной растений рода Ревень являются горные леса Центрального Китая, Южной Монголии, Тибета. Как лекарственное растение ревень был известен в Китае еще за 2700 лет до нашей эры. Из Китая ревень активно экспортировался в Персию, где использовался в качестве лекарственного средства. В монументальном труде персидского ученого Авиценны «Канон врачебной науки» ревень указывается как одно из лекарственных растений и содержится во многих прописях лекарственных форм. В «Каноне врачебной науки» ревеню китайскому «риванду» (имеется в виду лекарственное растительное сырьё - корни двух видов ревеня - ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) и ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.)) приписываются как горькое, так и вяжущее действие: «Вещество самого растения смешано из водянистости и воздушности, но в нем есть и землистость, горькая вследствие действия на нее огненности. Его рыхлость и вяжущее свойство зависят от землистости, причем землистость сопровождает и его вяжущее свойство и даже

способствует ему; действие осуществляется полностью благодаря его землистости» [73]. Советуют применять ревень при гастроэнтерологических нарушениях: «Он полезен для печени и желудка, при слабости желудка и болях в нем, а также при внутренних болях, при икоте и грыже, он способствует сморщиванию селезенки. Ревень полезен от поноса вследствие несварения, от резей в кишках, от болей в почках и в мочевом пузыре...» [71]. При вышеуказанных заболеваниях использование ревеня было абсолютно обосновано действующими веществами, входящими в его состав - антраценпроизводными, обладающими слабительным, диуретическим и нефролитическим, желчегонным, антибактериальным и противовоспалительным действиями [71], а также дубильными веществами, оказывающими бактерицидное, бактериостатическое и вяжущее действие [41, 47], что также отмечено в труде Авиценны: «...он помогает от укусов гадов» [71]. «Рибас» – ревень персидский (*Rheum ribes* L.) «полезен от желчного поноса, при кори, оспе, моровой язве и поветриях», что свидетельствует об отличии в химическом составе, но указывает на те же группы действующих соединений, входящих в химический состав других видов ревеня. Ревень входит в большое число прописей лекарственных форм. Особый интерес представляют сложные прописи, число компонентов которых доходит до тридцати. Примерами таких форм могут являться «терьяки». Вот что описывает Авиценна в 5 книге «Канона врачебной науки»: «Терьяк фарук – самое лучшее и наиболее совершенное сложное лекарство, потому что оно обладает множеством полезностей, особенно против ядов от укусов змеи, скорпиона и бешеной собаки, а также против ядов от выпитых смертельных ядов, от слизистых и черножелчных заболеваний и от лихорадок при них, от дурных ветров... помогает также от большинства болей в почках и в мочевом пузыре и от истечениях из них, дробит камни, помогает от язв в кишках, от внутренних затвердений в печени и селезенке и других органах...» [71].

Марко Поло, проживший в Китае достаточно долгое время, посетил Синцзянь, где впервые наблюдал заготовку корней ревеня в значительных

масштабах. Со временем ремень стал экспортироваться из Тангутского царства в Османскую Империю [81].

Считается, что в Россию ремень завез отечественный путешественник Николай Михайлович Пржевальский, который в 1871–1873 годах привез из Азии его семена в Петербургский ботанический сад. Однако ремень на территории Руси произрастал с незапамятных времен: голландец Альберт Кампенский посетил Русь в 1524 году и отметил в своих воспоминаниях, что ремень и аир активно произрастали в долинах рек Дон и Волга [1, 81]. В России шестнадцатого века ремень выращивали в медицинских целях в селениях, образующихся вблизи промышленных заводов в Сибири и вдоль р. Волга. Часто ремнем торговали на ярмарках в столице. Именно с Московской ярмарки ремень и вывезли в Европу: Англию и Францию. Значительно позже, с развитием морских торговых путей, ремень стал экспортироваться из Китая. Изначально ремень ввозился в Европу как лекарственное растение. Ввозимые растения тщательно изучались ботаниками, семена отправлялись в ботанические сады, где новые растения выращивались и вводились в культуру. Широкое распространение большого числа видов ремня обусловлено съедобностью черешков всех видов, даже тех, что представляют наименьший интерес для медицины [23]. По этой причине на данный момент невозможно сделать заключение о том, какой конкретно вид рода *Rheum* перешел в огородную культуру. А.С. Лозина-Лозинская достаточно подробно описывает историю культуры различных видов ремня в Европе [44, 84]. Адольф Окко, немецкий врач-фармаколог, занимался разведением и изучением ремня черноморского (*Rheum rhaponticum* L.) еще в 1570 г. В перечне лекарственных трав Англии 1573 г. фигурирует ремень. Джерард (Herball) впервые предложил использование ремня не только в качестве лекарственного растения, но и как пищевое – употреблять его листья наравне со шпинатом, щавелем, свеклой. Спорным считается утверждение Францискуса Красуе (1606 г.) о произрастании ремня черноморского (*Rheum rhaponticum* L.) на Родопских горах [84]. Считается, что современные дикорастущие на территории стран Европейского Союза и Великобритании виды ремня – это одичавшие, переопыленные растения,

выращиваемые монахами в XVI- XVII веках из семян, привезенных из-за рубежа. В начале XVII века итальянский врач Просперо Альпини, работавший в Падуанском университете, культивировал ревень в ботаническом саду Венецианской Республики. Из этого сада английский врач Листер взял экземпляр ревеня черноморского (*Rheum rhaponticum* L.). *True pontic* и *English rhubarber* – так ревень назвал Паркинсон в 1640 г. Большое количество семян ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) из России было привезено для культивирования в ботанические сады Европы. Ревень компактный (*Rheum compactum* L.) в 1732 г. попал в Париж из России. В 1780 г. стал известен ревень черноморский (*Rheum rhaponticum* L.) и ревень тангутский (*Rheum tanguticum* L. var. *Rheum palmatum* L.). Черешки ревеня свободно продавались в Лондоне в 1815 г. Ревень смородинный (*Rheum ribes* L.) привезли в Европу в 1824 г., а в 1828 г. впервые был описан ревень Эмоди (*Rheum emodi* Juss.). В начале девятнадцатого века в Англии плантации ревеня занимали более 100 акров. Вильмот поставлял ревень на рынки Европы. Но среди всех европейских стран в Англии ревень стал наиболее популярен. В Соединенные Штаты Америки различные виды ревеня завезли из Европы лишь в середине XIX века. Американские селекционеры занимались выведением перспективных ранних сортов ревеня. В это же время выгоночная культура ревеня приобрела в Англии первенствующую роль как сельскохозяйственная культура в стране [44, 84].

### 1.3. Характеристика рода Ревень

Род *Rheum* L. относится к семейству Гречишные – *Polygonaceae* Juss. Многолетние травянистые растения. Подземная часть растения состоит из горизонтального толстого, длинного, мощного, одревесневающего корневища и утолщенных ответвлений, представляющих собой стеблеплоды, несущие в верхней части листовые и стеблевые почки, а в нижней – центральные и боковые корни [2, 44, 81]. Стебель достигает 2 м. высотой, олиственный, полый или сплошной, голый или опушенный, гладкий или бороздчатый, часто в виде цветоносной стрелки,

высокий, прямой или коленчатый. Листья очередные, реже супротивные, цельные, состоят из лопастей или рассечены, в основании листа располагаются большие, охватывающие стебель прилистники, называемые раструбами. Прикорневые листья простые, крупные, образуют густую розетку, у большинства видов на длинных мясистых черешках. Поверхность прикорневых листьев может быть, как гладкой, так и пузырчатой, листовая пластина имеет чаще всего яйцевидную, округлую или треугольную форму, реже – овальную или почковидную, края волнистые или ровные. Черешки зеленые или в различной степени красные, иногда только у основания; прилистники треугольные, широкие [44, 93, 95]. Цветки циклические или ациклические, однопокровные, с переходами к двупокровности, правильные, обоеполые или раздельнополые, мелкие, собранные пучками или мутовками в пазухах листьев или образующие конечные кистевидные, колосовидные, иногда метельчатые олиственные или неолиственные простые или ветвящиеся соцветия. Листочков околоцветника 3-6, тычинок 6-9, плодолистиков 3-2, редко 4, столбиков 2-4 [2, 89, 93]. Плод трехгранный крылатый орешек, крылья разной окраски и размера, зародыш прямой или согнутый. Особенностью рода Ревень является способность давать плодонесущие помеси, которые в свою очередь прекрасно скрещиваются между собой, что является причиной трудностей при диагностике и определении растений, не смотря на наличие описаний морфолого-диагностических признаков растений рода *Rheum* L., содержащихся в различных литературных источниках и определителях [44, 81, 84, 93].

#### **1.4. Ареал обитания, культивирования**

Ревень – растение азиатского происхождения, расселившееся в разных направлениях. Мезофитные виды распространились в Восточной и Западной Сибири, на Дальнем Востоке, в местах с достаточным увлажнением: в лесах и долинах, по берегам рек, по увлажненным склонам, на различных почвах. Ксерофитные виды расселились по бугристым пескам и каменистым горным склонам Средней Азии, засушливым районам Заволжья, в полупустынях Китая,

Тибета, Монголии. В субальпийской зоне Ирана, Закавказья, Кавказа, Средней Азии, в Болгарии на травянистых склонах создались виды своеобразного типа. Границей распространения ревеня на севере Сибири считается долина Енисея, по которой он заходит за Полярный круг. В Средней Азии северной границей являются степи Северо-Восточного Казахстана. На востоке – побережье Охотского моря, Приморский край, Амурская область. На западе ремень встречается в Передней Азии, по побережью Средиземного моря, далее граница проходит через Турцию, Арало-Каспийское побережье и по Волге [6, 44, 81].

Род представлен на постсоветском пространстве 24 видами. В научной медицине применяется ремень тангутский (*Rheum palmatum* L.). Западная граница ареала идет по реке Енисей, в той его части, где он заходит на север (до 68°50' с. ш.). На Алтае около 88°90' в. д. определяется его местонахождение. От истоков реки Енисей проходит северная граница ареала, которая включает южную часть Путораны, пересекая Лену около ее истоков (59°20' с. ш.). Далее наблюдается смещение границы в сторону севера, ближе к пересечению реки Витим близ гор Олекму и Бодайбо, в нижнем течении около поселка Оймякон (138° восточной долготы) и смещается на запад и юг. Ареал и его граница проходит вблизи реки Алдан, включая хребет Тукурингра и различные горы и хребты юга и запада Амурской области, далее граница доходит до Китая. Существуют различные отдельные месторасположения возле поселка Аян, севернее Советской Гавани, находящейся на реке Ботча, и горе Ко на Сихотэ-Алине. Располагается в подгольцовом, лесном и гольцовом поясе, тундре, горах близ Енисея. Часто встречается в горах на большой высоте. Может произрастать даже на высоте от 850 до 1950 м. Местом произрастания часто бывают верхняя и средняя части лесного пояса, лесные луга, в лиственных, кедровых и смешанных лесах. Чаще всего хорошо растет в подгольцовом и гольцовом поясе на песчаных, галечных и даже каменистых почвах вдоль долин ручьев и рек. Располагается часто в высокогорных лугах, стерях и даже на болотах, богатых торфом. В различных лесах, лиственных – березовых, ольховых, смешанных, также в еловых. Отмечен в редком лесу полосы Альп, зарослях рододендронов. Может встречаться на различных каменистых

почвах, россыпях камней, также в тундрах кустарников, лишайников, мхов. Ревень тангутский растет маленькими группами, изредка, на Саянах на хребте Ергаки, зарослями, но обычно разреженными. Ревень тангутский прекрасно выращивается в Западной Сибири на плантациях Мошковского совхоза лекарственных трав (Новосибирская область).

Ревень лекарственный (*Rheum officinale* В.) распространен на территории Алтайского края, в Юго-Восточной Сибири ближе к границам Республики Казахстан. Северная часть ареала располагается на территории Салаирского края (54°30' с. ш.). Западная граница идет по берегу озера Байкал, далее по верховью реки Витим и уходит за пределы России. Часто встречается в подгольцовом поясе в травянистых лугах, редколесье, отдельные экземпляры среди кустарников. Прекрасно произрастает под пологом лиственных, хвойных и смешанных лесов, поскольку предпочитает влажные почвы, чем и обусловлено местонахождение в поймах рек и разливных лугах. Каменистые, мховые и лишайниковые тундры гольцового пояса, а в особенности каменистые районы и склоны известняковых скал в степи – излюбленные места произрастания ревеня лекарственного.



## 1.5. Ботаническое описание



Рисунок 1.1 – Ревень тангутский  
(*Rheum tanguticum* L. var.  
*Rheum palmatum* L.): общий вид [44].

**Ревень тангутский** (*Rheum tanguticum* L. var. *Rheum palmatum* L.), семейство Гречишные (*Polygonaceae* Juss.) – крупный травянистый многолетник, достигающий 250 см. Корневая система стержневая и представлена многоглавым корневищем с большим числом веретеновидных крупных корней, достигающих веса 8-12 кг, разрез желтого цвета. Надземная часть представлена стеблем и прикорневой розеткой, состоящей из крупных широкояйцевидных 5-7 заостренно-лопастных листьев шириной до 75 см, длина с черешком достигает 150 см. Листовая пластинка снизу густо

опушена. Стебель достигает в диаметре 4-5 см, полый, голый, мало облиственный. Листья, расположенные на стебле, имеют раструбы бурого цвета у основания, мельче розеточных листьев. Мелкие цветки от бледно-розового до красного цвета образуют метелку с вертикально отходящими боковыми ответвлениями. Соцветие до 50 см в высоту. Цветки с простым венчиковидным околоцветником, состоящим из 6 долей, прицветники короткие, кожистые, полустеблеобъемлющие. Тычинок 9, пестик с тремя рыльцами на коротком столбике. Цветоножка волосовидная 3-4 мм в длину с короткими сосочками. Плод – трехгранный широко окрыленный орешек красно-бурого цвета длиной от 7 до 10 мм (рис. 1.1) [37, 44, 48, 51, 81].



Рисунок 1.2 – Ревень лекарственный (*Rheum officinale* В.): общий вид [37].

**Ревень лекарственный** (*Rheum officinale* В.), сем. Гречишные (*Polygonaceae* Juss.) – многолетнее травянистое растение с сильно развитой корневой системой, высотой до 2 м. В первый год жизни образует центральный корень, который впоследствии перерождается в корневище с отходящими от него корнями. Корни крупные, веретеновидные, в разрезе коричнево-зеленого цвета. Стебель покрыт бороздками, ворсистый, внутри имеется полость, прямостоячий. Листья объемные, мясистые, разделенные на лопасти. Раструбы только у стеблевых, длинные черешки у прикорневых.

Лопастия на листьях слабо выделяющиеся, в количестве от 3 до 8, по краю крупные, треугольные зубцы по 3-5 на лопасти. Соцветие многоцветковое, крупное, метельчатое, облиственное, растопыренное, из белых, желтых и зеленоватых мелких цветков, в зависимости от сорта, широко ветвящееся. Околоцветник состоит из 6 тупоконечных долей с небольшими, плотными, полустеблеобъемлющими прицветниками. Цветоножка волосовидная, до 4 мм, покрыта короткими сосочками. Число тычинок варьирует от 5 до 10, пестик с тремя рыльцами на коротком столбике. Плод – трёхгранный коричневато-красный широко окрыленный орешек длиной 6-9 мм (рис. 1.2) [37, 44, 48, 51, 81]. Основные морфологические признаки ревня тангутского и ревня лекарственного были обобщены и для удобства изложены в виде таблицы (табл. 1.1).

Таблица 1.1 – Сравнительная характеристика макроскопического анализа ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Диагностический признак	Ревень тангутский ( <i>Rheum tanguticum</i> L.)	Ревень лекарственный ( <i>Rheum officinale</i> B.)
Стебель	Полый, гладкий, голый, имеет красные пятна, диаметр до 5 см, слабо облиственный, голый	Полый, мелкобороздчатый, прямой, с мелкими ворсинками
Листья	Прикорневые черешковые крупные (до 150 см), образуют розетку. Пластина широкояйцевидной формы шириной до 75 см, имеет от 5 до 7 заостренных лопастей, густо опушена. Стеблевые листья мельче, имеют у основания бурые раструбы.	Прикорневые большие, грубые и сочные, пальчато-лопастные, длинночерешковые, стеблевые с раструбами. Лопастя на листьях слабо выделяющиеся, в количестве от 3 до 8, по краю крупные, треугольные зубцы по 3-5 на лопасти.
Соцветие	Метельчатое, крупное, с вертикально отходящими боковыми ответвлениями, многоцветковое.	Метельчатое, крупное, облиственное, широко ветвящееся, растопыренное, многоцветковое.
Цветки	Мелкие, с простым венчиковидным околоцветником. Околоцветник короткий, имеет 6 долей (3 крупные внешние и 3 внутренние меньшие по размеру). Прицветники короткие, кожистые, полустеблеобъемлющие. Цветоножка волосовидная 3-4 мм в длину, густо одетая короткими сосочками. Тычинок 9. Пестик с тремя рыльцами на коротком столбике. Цвет от бледно-розового до красного.	Мелкие, с простым коротким 6-дольным околоцветником. Прицветники короткие, кожистые, полустеблеобъемлющие. Цветоножка волосовидная 3-4 мм в длину, густо одетая короткими сосочками. Тычинок от 5 до 10. Пестик с тремя рыльцами на коротком столбике. Цвет белый, бледно-желтый или бледно-зеленый.

Диагностический признак	Ревень тангутский ( <i>Rheum tanguticum</i> L.)	Ревень лекарственный ( <i>Rheum officinale</i> B.)
Плод	Широко-окрыленный орешек с тремя гранями, красно-бурого цвета. Размер от 7 до 10 мм.	Широко-окрыленный орешек с тремя гранями, коричневатого-красного цвета. Размер от 6 до 9 мм.
Корневая система	Представлена многоглавым корневищем с большим числом веретеновидных крупных корней, достигающих веса 8-12 кг, разрез желтого цвета.	В первый год жизни образует центральный корень, который впоследствии перерождается в корневище с отходящими от него корнями. Корни крупные, веретеновидные, в разрезе коричнево-зеленого цвета.

### 1.6. Анатомо-диагностические признаки представителей рода Ревень

Различные виды рода Ревень характеризуются как общими, так и отличительными признаками в структуре. Целесообразно в общем охарактеризовать особенности анатомо-гистологического строения представителей рода Ревень для формирования общей картины и дальнейшего исследования. Подземная часть растений представлена стеблекорнем и корневищем, причем с возрастом строение корневища претерпевает определенные изменения. Проводящая система молодого корневища представлена открытыми коллатеральными пучками, не соединенными друг с другом [7, 9, 15, 38]. Флоэмная паренхима, клетки-спутники и ситовидные трубки образуют флоэму, которая в некоторых видах окружает ксилему, образуя амфикрибральный пучок. С возрастом ксилема и флоэма корневища образует замкнутый цилиндр с одно-, трех- рядными сердцевинными лучами. Сердцевина, сердцевинные лучи и клетки вторичной коры, содержащие большое число крахмальных зерен, занимают центр корневища

[38, 44, 81]. Пробка первого года жизни покрывает снаружи стеблевую часть корневища, глубже находится вторичная кора [38, 44, 81]. Перимедулярная зона сердцевинны, сердцевинные лучи и вторичная кора содержат друзы и кристаллы оксалата кальция. Дубильные вещества содержатся в паренхиме коры и древесины [9, 14, 38]. Для стержневого корня, в которое переходит корневище, характерно наличие пробки, также образующейся в первый год жизни, под которой располагается вторичная кора, содержащая кристаллы оксалата кальция. У многолетнего ревеня наблюдается сильная паренхиматизация тканей стержневого корня, а в центре идентифицируется протоксилема гекзархного типа [15, 44, 84].

Цветоносный стебель на поперечном срезе округлый, в период бутонизации и цветения стебель покрыт однослойным эпидермисом с кутикулой. Оболочки эпидермальных клеток сильноизвилистые, причем на нижней стороне пластинки извилистость выражена сильнее. Эпидермис имеет как простые одноклеточные, так и многоклеточные железистые волоски. Устьица выступают над поверхностью стебля. Устьичный аппарат бывает как аномоцитный, так и парацитный. Под эпидермисом находится колленхима, причем у молодых растений преобладает уголковое утолщение оболочек [7, 53, 78, 81]. Многослойная коровая паренхима, содержащая крахмальные зерна и друзы оксалатов кальция, располагается к центру стебля. Открытые коллатеральные пучки, окруженные склеренхимой, образуют проводящую систему, причем межпучковый камбий отсутствует [7, 38, 81]. В центральной части стебля к моменту цветения образуется полость. Сердцевинную и коровую паренхиму соединяют сердцевинные лучи, расположенные между проводящими пучками [7, 53, 78, 81].

Эпидермис, устьица и волоски листьев и черешков аналогичны стеблю. Пластинка листа характеризуется дорсовентральным строением мезофилла. Под эпидермисом располагается плотно-сомкнутая, многоклеточная палисадная ткань. Под палисадной тканью находится губчатая ткань, состоящая из 4-6 рядов клеток. Все ткани листа содержат друзы кристаллов оксалата кальция. Открытые коллатеральные пучки, окруженные паренхимой, образуют проводящую систему листа. Черешок листа имеет желобчатую форму. Под эпидермисом также

располагается уголкообразная колленхима. Проводящие пучки рассеяны в паренхиме. Ситовидные трубки, флоэмная паренхима и клетки-спутники образуют флоэму, занимающую больший объем в пучке, чем ксилема. Ксилему образуют спиральные и сетчатые сосуды. Раструбы черешков покрыты эпидермисом с устьицами и волосками [9, 44, 81].

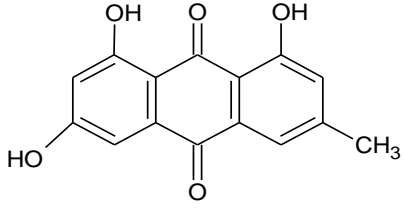
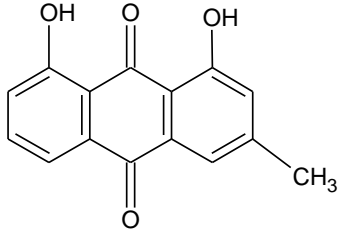
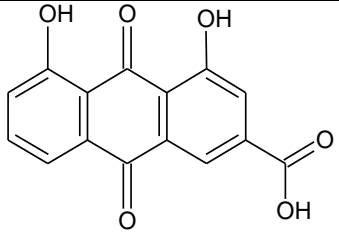
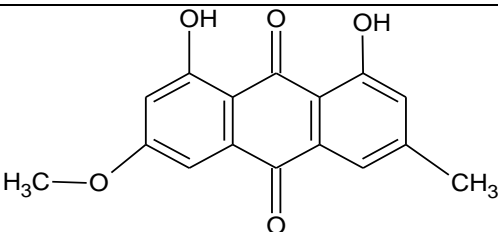
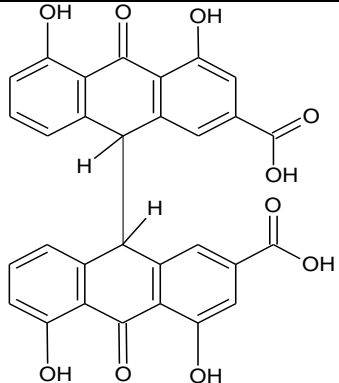
Перикарпий плода снаружи покрыт сильно кутинизированным слоем тангентально-вытянутых клеток эпидермиса. Мезокарпий, состоящий из вытянутых клеток, содержит дубильные вещества. Под мезокарпием располагается эндокарпий, который с созреванием плода исчезает. Проводящих пучков восемь, причем три из них основные, а пять являются боковыми [15, 23, 35, 93]. Крупные клетки наружной эпидермы содержат дубильные вещества и образуют семенную кожуру. Значительную часть семени занимает эндосперм, состоящий из угловатых клеток с тонкими стенками, содержащих крахмальные зерна. Зародыш располагается в эндосперме, семядоли четко идентифицируются [9, 35, 81, 93].

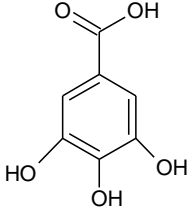
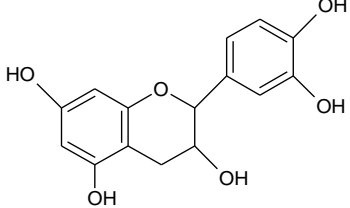
### 1.7. Химический состав растений рода Ревень

Наиболее изучен химический состав корней ревеня тангутского (*Rheum tanguticum* L. var. *Rheum palmatum* L.), сем. Гречишные (*Polygonaceae* Juss.), поскольку его сырье является фармакопейным. По литературным данным корни ревеня тангутского содержат антраценпроизводные, причем как в окисленной, так и в восстановленной форме в зависимости от фазы роста и плодоношения и от термической обработки собранного сырья, такие, как: реин, эмодин, хризофанол, фисцион, глюко-реум-эмодин, хризофанеин, реохризин [24, 48, 50]. Наряду с 8-О-гликозидами встречаются дигликозиды вышеперечисленных агликонов. Среди диантронов преобладает дирин, пальмитин, пальмозид, реидин, сеннизид С (табл. 1.2) [48, 67, 92]. Содержание антраценпроизводных в корнях культивируемых видов может достигать 5%. Второй значимой группой биологически активных соединений ревеня тангутского являются дубильные вещества, представленные ратанином, катехином, глюкогаллином, галловой кислотой. Помимо

вышеперечисленных веществ в состав ревеня тангутского входят биологически-активные соединения таких групп, как флавоноиды, фенолы, горечи, пектины, смолы и крахмал [24, 48, 49].

Таблица 1.2 – Важнейшие биологически активные соединения корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

№	Наименование биологически активного соединения	Структурная формула
1.	Реум-эмодин	
2.	Хризофанол	
3.	Реин	
4.	Фисцион	
5.	Диреин	

№	Наименование биологически активного соединения	Структурная формула
6.	Галловая кислота	
7.	Катехин	

Ревень тангутский и ревень лекарственный близки по химическому составу. Так, корни и корневища ревеня лекарственного содержат дубильные вещества, антрахиноны, кумарины и флавоноиды [44, 81]. Вся надземная часть растений, особенно листья и черешки, богата различными органическими кислотами: лимонной, яблочной и щавелевой. Листья содержат протеины (до 30—44% у культивируемых растений) и сахара. В золе много минеральных веществ: кальция, фосфора, магния. В листьях содержится достаточное количество витамина С [44, 48, 84].

### 1.8. Качественный и количественный анализ корней ревеня

Актуальные ФС по стандартизации сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного включены в национальные фармакопеи: Государственную фармакопею Республики Беларусь (2016 г.), Британскую фармакопею (2009 г.), Европейскую фармакопею (2018 г.), Японскую фармакопею (2006 г.), Германскую гомеопатическую фармакопею (1978 г.), Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания (2018 г.). В ФС подробно описаны внешние признаки сырья и указаны методы качественного и количественного анализа. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания в ФС.2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» предлагает для качественного



определения антраценпроизводных метод тонкослойной хроматографии в системе растворителей хлороформ – спирт 96 % (9:1) с использованием СО франгула-эмолина и визуальным детектированием в УФ-свете, а для подтверждения дубильных веществ – реакцию осаждения с 1% раствором желатина. Для количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня в отечественной фармакопее предложен метод спектрофотометрии водно-спиртового извлечения сырья при длине волны 510 нм в пересчете на франгула-эмолин, а для дубильных веществ методика отсутствует [30, 31].

Фармакопея Республики Беларусь ссылается на Европейскую фармакопею и рекомендует для определения качественного состава корней ревеня тангутского реакцию очищенного подкисленного эфирного извлечения с водным раствором аммиака, при этом водный слой приобретает цвет от красного до фиолетового, а также разделение методом тонкослойной хроматографии подкисленного эфирного извлечения с раствором сравнения – эмолином в системе растворителей: кислота муравьиная безводная – этилацетат – петролейный эфир (1:25:75) с детектированием в УФ-свете при 365 нм и обнаружением пяти флуоресцирующих зон (хризофанол, фисцион, эмолин, реин, алоэ-эмолин), которые после обработки раствором гидроксида калия в метаноле приобретают цвет от красного до фиолетового. Количественно определяется содержание суммы гидроксиантраценпроизводных в пересчете на реин и содержание антраценпроизводных в пересчете на истизин методом спектрофотометрии [28, 29, 74, 105].

Европейская, Британская, Японская и Германская гомеопатическая фармакопеи относят к производящим растениям сырья корней ревеня не только ремень тангутский, но и ремень лекарственный, не делая различий в методиках качественного и количественного определения [28, 29, 74, 99, 105]. Так Британская фармакопея использует те же методики, что и Европейская, описанные выше. Германская гомеопатическая фармакопея рекомендует для качественного определения реакцию очищенного подкисленного эфирного извлечения с водным раствором аммиака, при этом водный слой приобретает красный цвет, а также

тонкослойную хроматографию. В качестве количественного метода в вышеказанных фармакопеях используется определение содержания суммы гидроксиантраценпроизводных в пересчете на реин спектрофотометрическим методом [74, 99, 105]. Фармакопея Европейского союза предусматривает определение дубильных веществ в пересчете на таннин методом спектрофотометрии с использованием молибдата аммония [74, 105].

Методики, используемые Японской фармакопеей, отличаются от описанных выше. Для качественного определения используется тонкослойная хроматография водно-тетрафуранового извлечения (3:7) на силикагеле в системе пропанол – этилацетат – вода – уксусная кислота (40:40:30:10) с детектированием в УФ-свете при 365 нм, в качестве раствора сравнения используют сеннозид А. Количественное определение проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с определением площади пика сеннозида А, подвижной фазой служит смесь разведенной уксусной кислоты и ацетонитрила (4:1) [74].

Проведя анализ национальных фармакопей разных стран, можно сделать вывод, что ревень лекарственный используется в мировой практике наравне с ревенем тангутским. Однако единообразия методов качественного и количественного анализа нет. Мало используются современные высокоинформативные методы анализа, что свидетельствует о перспективности данных видов растений для более глубокого изучения их качественного и количественного химического состава с целью последующей разработки нормативной документации.

## **1.9. Применение ревеня в медицине**

Лечебное действие оказывают содержащиеся в корнях ревеня дубильные вещества и антрагликозиды [1, 48, 51, 104, 111, 120]. При лечении хронических желудочно-кишечных заболеваний и применении малых доз действие оказывают танногликозиды, обладающие вяжущими и антисептическими свойствами, в больших дозах вступают в действие антрагликозиды, усиливающие перистальтику

кишечника и оказывающие слабительное действие [11, 22, 49, 50, 92, 100, 107, 109, 120]. Есть сведения также о желчегонном действии корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.), используемых в тибетской медицине для лечения нарушений желудочно-кишечного тракта [44, 71, 82, 108, 123]. Настои, приготовленные из корней ревеня, применяются наружно в дерматологии для лечения ожогов и нарывов и внутренне с целью коррекции нарушений работы печени и при желчекаменной болезни [44, 71, 81, 83, 112].

В Российской Федерации в качестве фармакопейного лекарственного растительного сырья зарегистрированы корни ревеня тангутского. «Измельченный порошок корней ревеня», «Спиртовая настойка корней ревеня», «Ревеня сироп», «Ревеня таблетки», содержащие по 0,3 или 0,5 г мелко измельченного корня ревеня тангутского – лекарственные препараты, получаемые из корней ревеня тангутского, которые были зарегистрированы в Российской Федерации [22, 36, 75, 80, 91]. За рубежом существует большое число средств и биологически-активных добавок к пище, компонентами которых являются различные виды ревеня, применяемых в качестве слабительных средств (табл. 1.3). Номенклатура вышеуказанных средств на основе ревеня невелика и ограничивается раствором для приема внутрь, таблетками и капсулами [73]. Указанные средства помимо корней ревеня, содержат сырье подорожника, сенны, алоэ, фенхеля, а также высушенные плоды сливы и персика [45, 72, 73, 86, 88, 90, 96, 116, 118, 124].

Таблица 1.3 – Лекарственные препараты  
на основе ревеня тангутского импортного производства

Изготовитель	Номенклатура	Применение
Renew Life	Cleancer More, капсулы №100	Дезинтоксикационное средство
	Gentle MOVE, таблетки №60	
	Bowel Cleancer, капсулы №150	
Nature's life	Herbs & Prunes, таблетки №100	Очищает кишечник

Изготовитель	Номенклатура	Применение
Mason Natural	Colon Herbal Cleanser, капсулы №100	Удаляет содержимое толстой кишки
Christopher's Original Formulas	Средство для кишечника Lower Bowel Formula, капсулы, 450 мг №100, раствор для приема внутрь	Смесь экстрактов растений для мягкой эвакуации содержимого кишечника
Bodygold	Colon Clenz, капсулы №75	Комбинированный препарат устраняет запоры, восстанавливает микрофлору кишечника и как следствие нормализует стул

## ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. В результате проведенного обзора научной литературы для дальнейшего изучения выбраны два вида рода Ревень – ревень тангутский и ревень лекарственный, в связи с активным применением в мировой практике, уникальным химическим составом, а также отсутствием зарегистрированных препаратов на территории РФ.

2. Исследуемые виды ревеня широко произрастают на территории Российской Федерации. Ревень тангутский в диком виде встречается на территории Восточной Сибири, Дальнего Востока и Кавказа, помимо этого культивируется в Новосибирской области. Ревень лекарственный в диком виде распространен в Юго-Восточной Сибири ближе к границам Республики Казахстан, а также на территории Республики Крым

3. Растения рода Ревень содержат следующие группы БАВ: дубильные вещества, антрахиноны, кумарины и флавоноиды, однако доминирующими являются антраценпроизводные и дубильные вещества.

4. В результате анализа фармакопейных статей выявлены различия методических и методологических подходов к анализу сырья растений рода Ревень, что подтверждает необходимость углубленного изучения химического состава сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного для определения доминирующих веществ, подбора оптимальных условий экстракции и экстрагента.

5. Нормативная документация на корни ревеня лекарственного в Российской Федерации отсутствует. Несмотря на наличие фармакопейной статьи на сырье ревеня тангутского, проблема стандартизации остается актуальной, поскольку методика количественного определения антраценпроизводных является продолжительной во времени и требует оптимизации процесса. Что же касается количественного определения дубильных веществ, то методика в фармакопейной статье отсутствует. По этой причине исследования, направленные на разработку проекта фармакопейной статьи «Ревеня лекарственного корни», а также дополнения к ФС 2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение») актуальны.

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты исследования

Объектами исследования настоящей диссертационной работы служили образцы корней ревеня тангутского (*Rheum tanguticum* L. var. *Rheum palmatum* L.) и корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.), заготовленные в период с 2016 по 2018 гг.

Изученное ЛРС:

- корни ревеня тангутского ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, 2016-2018 год;
- корни ревеня тангутского ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край, г. Горячий ключ, 2016-2018 год;
- корни ревеня лекарственного ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков, 2016-2018 год;
- корни ревеня лекарственного производство Angelius Domini, Россия, г. Москва 2016- 2018 год;
- гербарные образцы кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ОрГМУ, корни ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.);
- образцы корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.), заготовленные в сентябре 2016–2018 гг. в Краснодарском крае;
- образцы корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.), заготовленные в сентябре 2016–2018 гг. в Республике Крым;
- образцы корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.), собранные в сентябре 2016-2018 гг. на фармакопейном участке Ботанического сада г. Самара.

Изучались следующие лекарственные растительные препараты:

- жидкие экстракты корней ревеня тангутского (вода, 70% этиловый спирт);

- жидкие экстракты корней ревеня лекарственного (вода, 60% этиловый спирт);
- индивидуальные вещества: франгула-эмодин, хризофанеин, пальматин, неподин, катехин.

Извлечение осуществлялось водой и водно-спиртовыми растворами различной концентрации. Также для осуществления исследования были использованы органические растворители: хлороформ, этилацетат, гексан, ацетонитрил, *n*-бутанол. В качестве вспомогательных средств выступали вата гигроскопическая, марля, фильтры с красной полосой.

Для осуществления исследования методом колоночной хроматографии использовались следующие виды сорбентов: сефадекс LH – 20, полиамид SC 6, силикагель L 40/100 и L 100/160.

Для проведения диссертационного исследования использовалась следующая приборная база:

1. Весы технические ВСМ-1, ВСМ-5, ВСМ-20.
2. Весы электронные САРТО ГОСМ ЛВ 210-А.
3. Весы аналитические «Mettler Toledo XS 204», «HR-200».
4. Весы Мора ВА-4М.
5. Спектрофотометры модели «Specord 40» (AnalytikJena), «СФ-2000» (ОКБ Спектр), Unicо 2800.
6. Масс-спектрометр «KratosMS-30».
7. Спектрометр «BrukerAM-300» и «Bruker DRX 500» (126,76 МГц).
8. ИК фурье-спектрометр «ИнфраЛЮМ ФТ - 02».
9. Хроматографические пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-Ф-УФ» и «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ».
11. рН-метр – Edge рН HI2020.
12. Цифровые микроскопы «Motic» DM-111 и «Motic» DM-39С- N9GO-А.
13. Микроскоп люминесцентный «Альтами-ЛЮМ-2».
14. Микроскоп «ЛОМО МИКМЕД-1(БИОЛАМ)».
15. Испаритель ротационный «ИР-1 ЛТ».

16. Колбонагреватель «ЛАБ-КН-500-3».
17. УФ кабинет 254/365 НТЦ "Ленхром".
18. Водяная баня «ЛАБ-ТБ-6/Ш».
19. Ультразвуковая баня «Вилитек» VBS-1Н.
20. Термостат суховоздушный «ТС-1/80».
21. Pharma- test PTZ-S – тестер распадаемости таблеток.
22. Сита с отверстиями различного диаметра.
23. Штатив для пробирок.
24. Колбы стеклянные конические на 250 мл.
25. Колбы мерные на 25 мл.
26. Цилиндры мерные на 100мл.

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1. Методики морфолого-анатомического анализа**

В ходе исследования анализировались высушенные корни ревеня лекарственного и корни ревеня тангутского. Сушку проводили в естественных условиях [48, 65, 66, 84]. Подготовку проб высушенных корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного для анализа осуществляли согласно ГФ Российской Федерации XIV издания [30, 31].

Осуществляли морфолого–анатомическое исследование по общей фармакопейной статье «Корни, корневища, луковицы, клубни, клубнелуковицы» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания [31]. Изначально проводили осмотр образцов сырья невооруженным глазом, а затем с применением увеличительной лупы (x10). Для определения размеров корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного использовали линейку и ПО цифрового микроскопа. Запах оценивали в процессе разламывания сырья, цвет – в дневном свете. Водное извлечение измельченных корней пробовали на вкус. Исследование анатомических признаков осуществляли на белом поле в проходящем свете, используя электронные микроскопы различных моделей марки



Motic. Также применялся метод люминесцентной микроскопии с использованием микроскопа «Альтами ЛЮМ-2» (Россия). Спектральный диапазон возбуждения люминесценции: светофильтры 32 мм: голубой – 420-550 нм; желтый – 330-400 нм. Лампа НВО 100Вт служила источником света.

Методики гистохимических реакций.

1. Реакция для антраценпроизводные. Нанесение на микропрепарат нескольких капель 10% раствора натрия гидроксида окрашивает структуры, содержащие антраценпроизводные, в красно-фиолетовый цвет [34, 38, 89].

2. Реакция для обнаружения крахмалоносных клеток. При нанесении на микропрепарат нескольких капель раствора йода в иодиде калия структуры, содержащие крахмал, окрашивались в сине-фиолетовый цвет [38, 46, 93].

## 2.2.2. Химические методы анализа

### I. Реакции на антраценпроизводные.

#### 1. Реакции образования солей ароматических углеводов:

А) Реакция на сырье: на срез корней ревеня тангутского и корней ревеня лекарственного наносят 1-2 капли 10% раствора гидроксида натрия. Поверхность среза окрашивается кроваво-красным цветом [35, 89].

Б) Реакция с извлечением (1:10): при смешивании водного извлечения из корней ревеня тангутского и корней ревеня лекарственного с 10% раствором NaOH наблюдают вишнево-красное окрашивание [35, 48, 89].

#### 2. Реакция Борнтрегера.

Порошок корней ревеня тангутского и корней ревеня лекарственного (0,5 г.) заливают 10 мл 10% спиртового раствора NaOH, нагревают на пламени горелки до кипения и кипятят 2-3 минуты, затем фильтруют, остужают, прибавляя хлористоводородную кислоту до слабокислой реакции и 10 мл диэтилового эфира. Эфирный слой становится желтым; а при взбалтывании с раствором аммиака – вишнево-красным (эмодины), желтым (хризофанол) [35, 48, 90].

#### 4. Реакция микровозгонки.

Порошок корней ревеня тангутского и корней ревеня лекарственного подвергают микровозгонке. На предварительно охлажденном стекле и стенках пробирки наблюдается желтый кристаллический налет, который окрашивается в вишнево-красный цвет в присутствии 10% спиртового раствора гидроксида натрия [35, 89].

#### 5. Реакция комплексообразования.

К водно-спиртовому извлечению (1:10) из корней ревеня тангутского и корней ревеня лекарственного добавляют спиртовый раствор ацетата магния. При наличии 1,8-диоксипроизводных антрацена в спиртовом извлечении наблюдают красно-оранжевую окраску [33, 48, 89].

#### 6. Кислотный гидролиз антрагликозидов.

Корни ревеня тангутского и корни ревеня лекарственного предварительно измельчают и к 0,05 г добавляют по 7,5 мл ледяной уксусной кислоты, затем в течение 15 мин нагревают на водяной бане. С использованием ТСХ контролируют полноту гидролиза. При охлаждении агликон выпадает в осадок, и его кристаллы можно легко отфильтровать через взвешенный стеклянный фильтр. В случае если агликон не кристаллизуется, то возможно его извлечение хлороформом. Углевод идентифицируют при помощи бумажной хроматографии, предварительно упарив водный раствор в вакууме [48, 49, 89].

### II. Реакции на дубильные вещества.

#### 1. Реакция образования осадков фенолятов железа.

К водно-спиртовому извлечению (1:10) из корней ревеня тангутского и корней ревеня лекарственного добавляют несколько капель 1% спиртового раствора хлорида железа (III). Наблюдает зеленое окрашивание (ОН-группа в положении 5), коричневое (3-ОН-группы) или синее (3',4',5'-ОН-группы) [48, 49, 90].

### **2.2.3. Хроматографические методы анализа**

В исследованиях использованы методы бумажной хроматографии, тонкослойной хроматографии, колоночной хроматографии [12, 43, 85].

1. Бумажная хроматография (БХ). БХ сахаров совершали на бумаге FN-11, FN-15 при движении растворителей сверху вниз. В качестве подвижной фазы применялись смеси растворителей различной природы, такие как бутиловый спирт, этановая кислота и вода (4:1:2); 15% водный раствор этановой кислоты; этиловый эфир уксусной кислоты, пропановый спирт и вода (7:2:1). С целью обнаруживания углеводных остатков применялся растворенный в бутиловом спирте анилин фталат. После обработки хроматограммы анилин-фталатным реактивом ее подвергали термической обработке при 105 °С в течение 5 – 10 минут. Идентификацию моносахаридов проводили с использованием СО глюкозы, галактозы, рамнозы, ксилозы, арабинозы, апиозы [89, 90].

2. Тонкослойная хроматография (ТСХ). Водно-спиртовые извлечения из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, а также выделенные соединения из сырья исследуемых растений анализировали на пластинках «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» (Россия). В качестве подвижной фазы выступали смеси растворителей различной природы: трихлорметан – спирт этиловый 95% – вода (26:16:3); бутиловый спирт – ледяная этановая кислота – вода (4:1:2 или 4:1:5), этиловый эфир этановой кислоты – спирт этиловый – вода (100:13,5:10), этиловый эфир этановой кислоты – метановая кислота – вода (10:2:3). Пластинки разделяли на 2 или 3 равные части поперек линий накатки [12, 43, 85] и термостатировали в течение одного часа при температуре 100-105°С в сушильном шкафу [12, 43, 85]. Хроматографическую камеру с системой предварительно выдерживали в течение 24 часов для установления парогазового равновесия. Хроматографию проводили при комнатной температуре, фронт пробега элюэнта 8 см [12, 43, 88, 90]. Пятна обнаруживали невооруженным взглядом при дневном свете и в УФ-свете (при 254 и 365 нм) до и после детектирования спиртовыми растворами  $AlCl_3$  (флавоноиды),  $NaOH$  (антраценпроизводные),  $FeCl_3$ , раствором диазобензолсульфокислоты (фенольные соединения) [12, 43, 85, 87, 89, 90].

3. Колоночная хроматография (КХ). С целью выделения индивидуальных соединений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного и их

дальнейшей очистки применялась колоночная хроматография. Разделяли извлеченные соединения абсорбционной колоночной хроматографией с применением различных сорбентов [39, 89, 90]: сефадекс LH – 20, полиамид SC 6, силикагель L 40/ мкм и L 100/160 мкм. В качестве подвижной фазы (элюента) выступали органические растворители: хлороформ и спирт этиловый и их смеси в различных концентрациях (1 %, 2%, 3 %, 5 %, 7 %, 10 %, 12 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %). Реchromатографию полученных смесей веществ проводили на полиамиде, используя элюирование спиртом этиловым и водой в различных соотношениях (100:0; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 30:70, 0:100). Помимо этого, для разделения и эффективной очистки индивидуальных соединений применялся способ чередования вышеуказанных сорбентов и подвижных фаз (полярных и неполярных растворителей) [39, 89, 90].

#### 2.2.4. Спектральные методы

1. Метод спектрофотометрии. Качественное и количественное исследование содержания действующих веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного, лекарственных препаратах на основе сырья, а также индивидуальных веществ, выделенных из сырья, осуществлялось спектрофотометрией. Анализ проводили на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena) «СФ-2000» (ОКБ Спектр), Unicо 2800 при длинах волн в диапазоне 190-700 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм, а также инфракрасном фурье-спектрометре «ИнфраЛЮМ ФТ-02». В качестве нулевого раствора при прямой спектрофотометрии использовали воду, а при дифференциальной – водно-спиртовой раствор водно-спиртового извлечения из сырья. Результаты спектрометрического определения обрабатывали, используя программу «WinAspect Excel» [21, 40, 66, 68, 89, 124].

2. <sup>1</sup>H-ЯМР- спектроскопия и масс-спектрометрия. <sup>1</sup>H-ЯМР-спектры и <sup>13</sup>C-ЯМР-спектры снимали на приборах марок: «Bruker DRX 500» (126,76 МГц), «BrukerAM-300» (300 МГц). Спектры регистрировали с использованием

дейтерированных растворителей (с учетом степени полярности вещества):  $\text{CDCl}_3$ ,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{DMSO-d}_6$ . Регистрацию масс-спектров осуществляли на масс-спектрометре «Kratos MS-30» при колебании температуры ионного источника от 100 до 250 °С, а также энергии ионизирующих электронов 70 эВ. Блок Кофлера использовали для регистрации температуры плавления выделенных веществ [40, 66, 68, 89, 124].

### 2.2.5. Методы получения экстракционных лекарственных препаратов

Технология изготовления лекарственных препаратов соответствовала общим правилам и проводилась в перколяторах и лабораторных мацерационных баках [18, 19]. Для экстракции подбирались оптимальная концентрация  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (70%). Контроль полученных препаратов проводили на соответствие требованиям ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты» и ОФС.1.4.1.0019.15 «Настойки» [33]. Концентрацию  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  определяли в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания (ОФС.1.2.1.0016.15) [31]. Экстрактивные вещества определяли в соответствии с ОФС.1.5.3.0006.15 [34]. Исследование на контаминацию микроорганизмами осуществлялось в соответствии с ГФ РФ XIV издания (ОФС.1.2.4.0002.18).

1. Метод мацерации. Предварительно взвешенное сырье помещали в мацерационный бак, заливали экстрагентом в соотношении «сырье – экстрагент» (1:6) и выдерживали 1 час. Набухшее сырье подвергали настаиванию с перемешиванием в течение 7 суток с точным количеством экстрагента при 20-25°С. Затем извлечение сливали, после отжатия сырья измеряли объем. Недостатком экстрагента промывали сырье, отжимали, извлечения объединяли [52].

2. Метод перколяции. Предварительно взвешенное сырье помещали в мацерационный бак, заливали экстрагентом в соотношении «сырье – экстрагент» (1:6) и выдерживали 1 час. Сырье переносили в перколятор на ложное дно, не допуская образования прослойки воздуха, прижимали диском с отверстиями. Наливали экстрагент до «зеркала», толщиной 30-40 мм, выдерживали сутки. При

открытом кране перколятора осуществляли непрерывную подачу экстрагента на сырье. Манипуляцию продолжали до заданного количества настойки [18, 19, 40, 57, 79].

3. Метод реперкоряции. Сырье делили на части и каждую последующую порцию экстрагировали вытяжкой, полученной из предыдущей. Основным принципом метода является поступление чистого экстрагента на наиболее истощенное сырье, готовое извлечение получают из перколятора последней загрузки, где сырье наименее истощено. Такой порядок позволяет сохранить максимально возможную разность концентраций экстрактивных веществ между сырьем и экстрагентом [18, 19, 57, 79].

4. Метод дробной мацерации с ультразвуком. Экстрагент (в соотношении «сырье – экстрагент» (1:6)) делится на 3 части, затем последовательно настаивается сырье с новой порцией экстрагента, что позволяет максимально истощить сырье. Настаивание с первой порцией экстрагента составляет 24 ч, со второй 12 ч, с третьей 12 ч. Общее время настаивания 48 ч, затем полчаса проводят экстракцию на водяной бане при температуре 90°C и 15 мин с помощью ультразвука (мощность ультразвука 60 Вт, частота 40 кГц) при температуре 40°C. Далее сырье отжимали и отфильтровывали [18, 19, 57, 79].

### ГЛАВА 3. СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОРФОЛОГО–АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО И РЕВЕНЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО

Подлинность лекарственного растительного сырья подтверждают с помощью различных методик, описанных в ГФ РФ XIV издания. Базисом нормирования ЛРС является метод морфолого-анатомического анализа, поскольку он достаточно прост в исполнении, не требует длительной подготовки образцов сырья, использования большого числа дорогостоящих реактивов и при этом крайне информативен. С помощью морфолого-анатомического исследования можно не только определить подлинность сырья, но и выявить наличие примесей других частей растений или посторонних, сорных видов растений. В Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания опубликована статья ФС.2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни», содержащая достаточно подробное описание макро- и микроскопических характеристик корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.), однако там нет ни люминесцентной микроскопии, ни результатов проведения гистохимических реакций. Соответственно проблема фармакогностического анализа корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) остается нерешенной. Целесообразно провести сравнительный фармакогностический анализ корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.). Результаты данных исследований включить в новую фармакопейную статью «Ревеня лекарственного корни» и как дополнение в фармакопейную статью «Ревеня дланевидного корни».

Анализ осуществляли согласно ОФС 1.5.3.0003.15 Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

Сравнительному морфолого-анатомическому анализу подвергались образцы сырья, заготовленные на территории Краснодарского края и Республики Крым (рис. 3.1).



Рисунок 3.1 – Образцы сырья ревеня.

Обозначения: А – ремень лекарственный (*Rheum officinale* В.); Б – ремень тангутский (*Rheum palmatum* L.).

Исследования образцов осуществлялось методом световой и люминесцентной микроскопии с использованием микроскопов «Motic» DM-39C-N9GO-A, DM-1802-A -Digital Microscopy при увеличении  $\times 40$ ,  $\times 100$ ,  $\times 400$  и Альтами – ЛЮМ – 2 с Спектральный диапазон возбуждения люминесценции: светофильтры 32 мм: голубой – 420-550 нм; желтый – 330-400 нм. Лампа НВО 100Вт служила источником света.

Приготовление микропрепаратов осуществлялось в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003.15 ГФ РФ XIV издания для «Корней, корневищ, клубней, луковиц, клубнелуковиц» [31].



### 3.1. Внешние признаки цельного сырья

Образец сырья ревеня тангутского соответствует современным описаниям в нормативной документации РФ (ФС.2.5.0092.18) и ряда зарубежных источников [33, 105].

Изучаемый нами образец ревеня тангутского представляет собой продольно разрезанные куски корней различной формы длиной до 2,5 см, толщиной до 1,0 см. С поверхности фрагментов корней локализована темно-бурая пробка. Излом неровный, без ворсинок и волокон. На изломе цвет фрагментов корня желто-коричневый или оранжево-коричневый (рис. 3.2).



Рисунок 3.2 – Образец сырья ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.).

Сырьё ревеня лекарственного аналогично ревеню тангутскому состоит из фрагментов продольно рассеченных корней. С поверхности фрагменты корней покрыты тёмной, почти черной пробкой. Продольные срезы древесины коры оранжево-коричневые или желто-коричневые. Излом неровный, не волокнистый.



Рисунок 3.3 – Образец сырья ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.).

По внешним признакам сырьё ревеня тангутского более светлое, однако, остальные признаки весьма схожи и не несут селективной диагностики.

### 3.2. Микроскопическое исследование корней ревеня тангутского

При рассмотрении поперечных сечений фрагментов корня ревеня тангутского с поверхности хорошо заметен слой тёмно-коричневой пробки, значительно превышающий слой пробки сравниваемых образцов ревеня лекарственного (рис. 3.4).

При рассмотрении на большом увеличении (x400) видно, что клетки пробковой ткани пигментированы за счет бурого содержимого протопластов и на более тонких срезах почти не окрашены (рис. 3.4). При облучении пробковой ткани УФ-светом с  $\lambda=360$  нм пигментированные слои пробки не люминесцируют. Напротив, молодые слои пробковой ткани светятся при данном облучении ярко-голубым цветом за счет простых фенольных соединений и дубильных веществ (рис. 3.4). При этом изменение режима облучения на свет с  $\lambda=420$  нм меняет люминесценцию на желтый цвет (рис. 3.4).

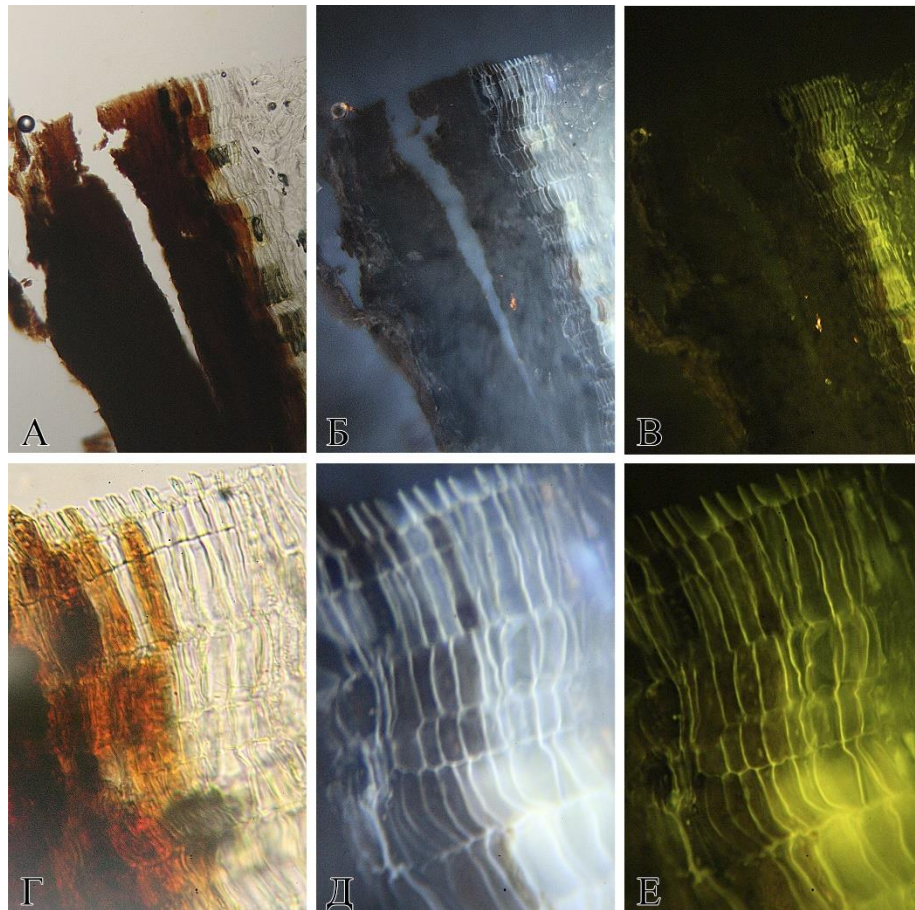


Рисунок 3.4 – Коровая часть корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.).

Поперечное сечение.

Обозначение: А – видимая область спектра (x100); Г – видимая область спектра (x400); Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм (x100); Д – люминесценция при  $\lambda=360$  нм (x400); В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм (x100); Е – люминесценция при  $\lambda=420$  нм (x400).

В лубяной паренхиме корня обнаружены группы кристаллических включений, не окрашенных при просматривании в дневном свете, однако люминесцирующих ярко-голубым цветом при облучении светом с  $\lambda=360$  нм. При изменении режима облучения на дневной спектр с  $\lambda=420$  нм люминесценции обнаруженных кристаллов не выявлено (рис. 3.5). Характер свечения говорит о фенольной природе обнаруженных кристаллических включений.



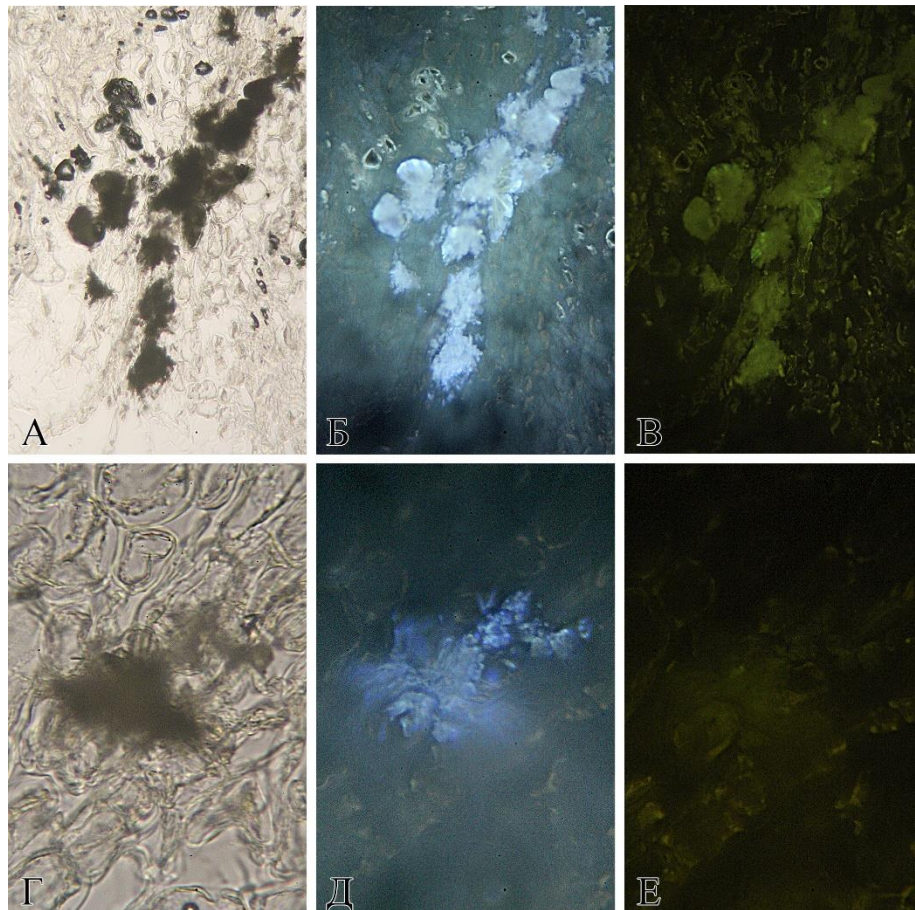


Рисунок 3.5 – Кристаллические включения в лубяной паренхиме корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.). Поперечное сечение.

Обозначение: А – видимая область спектра (x100); Г – видимая область спектра (x400); Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм (x100); Д – люминесценция при  $\lambda=360$  нм (x400); В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм (x100); Е – люминесценция при  $\lambda=420$  нм (x400).

В паренхиме сердцевинных лучей, ближе к камбиальной зоне, часто встречаются клетки с кристаллическими элементами протопласта, люминесцирующими рыжим цветом (антраценпроизводные), аналогичные описанным для основной паренхимы феллодермы (рис. 3.6).

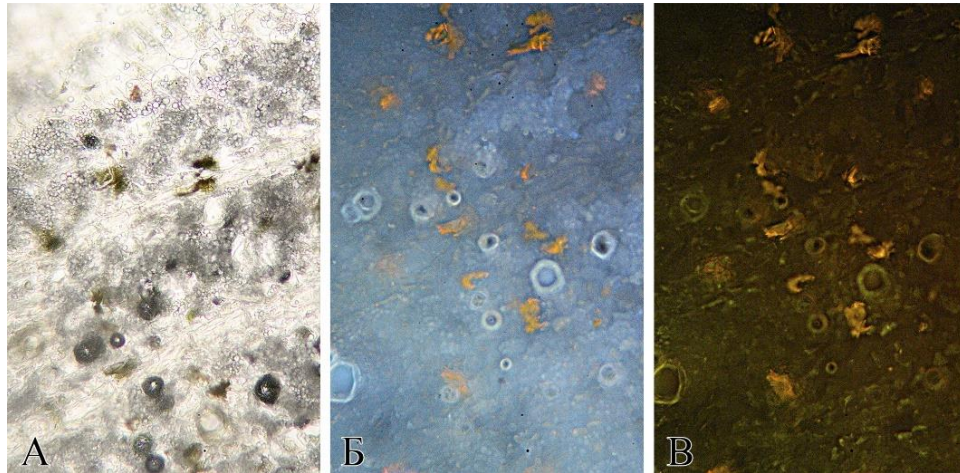


Рисунок 3.6 – Паренхима сердцевинных лучей корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.). Поперечное сечение (x100).

Обозначения: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм;  
В - люминесценция при  $\lambda=420$  нм.

В клетках основной паренхимы сердцевинных лучей аналогично ревеню лекарственному отмечается значительное содержание крахмальных зерен (рис. 3.7), а также друз оксалата кальция звездчатой формы (рис. 3.7).

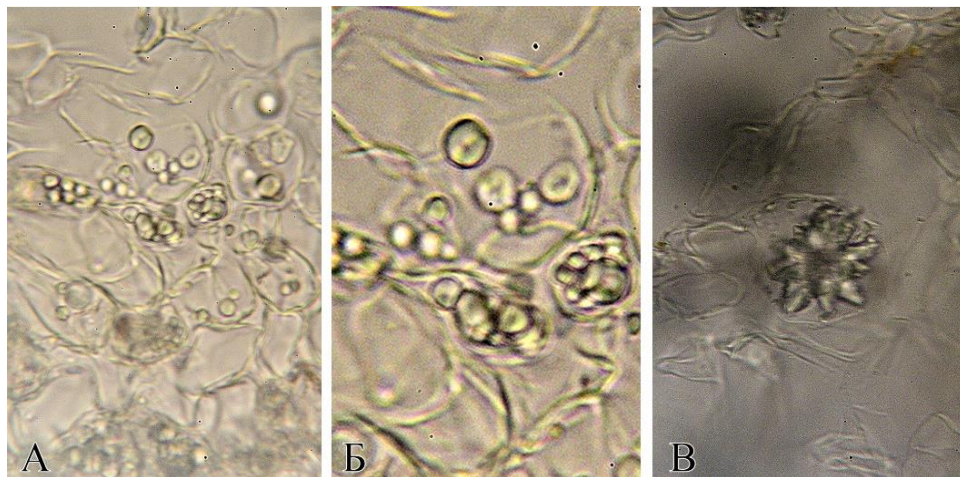


Рисунок 3.7 – Производные протопластов в клетках основной паренхимы сердцевинных лучей корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.).

Поперечное сечение.

Обозначение: А – видимая область спектра (x400); Б – крахмальные зерна (x1000); В – друзы звездчатой формы (x400).



Крахмальные зерна простые, округлой формы с характерным растрескиванием, отличающим их от крахмальных зерен ревеня лекарственного (рис. 3.7, 3.17).

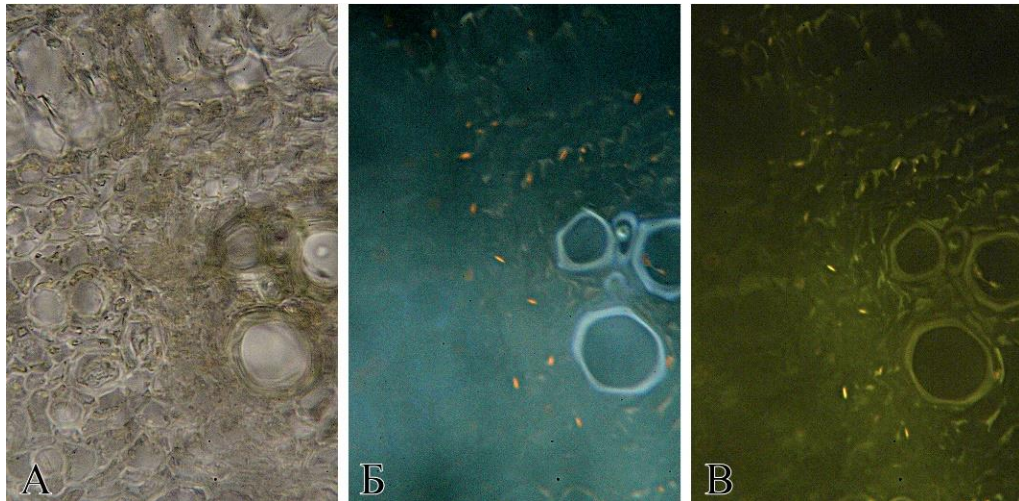


Рисунок 3.8 – Ксилема корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.).

Поперечное сечение (x100).

Обозначения: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм;  
В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.

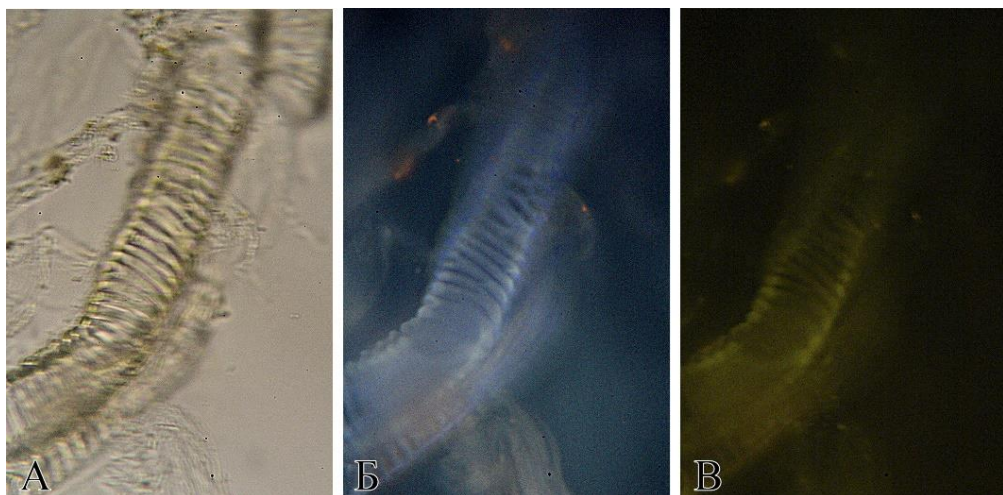


Рисунок 3.9 – Люминесценция сосудов корня ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.). Продольное сечение (x100).

Обозначение: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм;  
В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.

При облучении ксилемной области срезов УФ-светом с  $\lambda=360$  нм хорошо видна серо-голубая люминесценция одревесневших оболочек сосудов ксилемы на поперечном (рис. 3.8) и продольном (рис. 3.9) сечении.

### 3.3. Микроскопическое исследование корней ревеня лекарственного

На поперечном сечении корня ревеня лекарственного с поверхности видна пробковая ткань, окрашенная в бурый цвет за счет клеточных стенок. Слой пробки небольшой и насчитывает до пяти рядов клеток (рис. 3.10).

Непосредственно под пробковой тканью располагается феллодерма из тонкостенных разноразмерных клеток, среди которых встречаются крупные тангентально уплощённые склереиды. Клеточные стенки склереид при дневном свете нативно окрашены в светло-желтый цвет (рис. 3.10). Необходимо отметить, что слой склереид тонкий и не распространяется вглубь лубяной паренхимы, а напротив локализован вплотную к пробковому слою.

При облучении поперечного сечения корня ревеня лекарственного УФ-светом с  $\lambda=360$  нм уже на малом увеличении ( $\times 100$ ) видно ярко-голубое свечение одревесневших оболочек склереид. Пробковый слой при этом не люминесцирует (рис. 3.10).

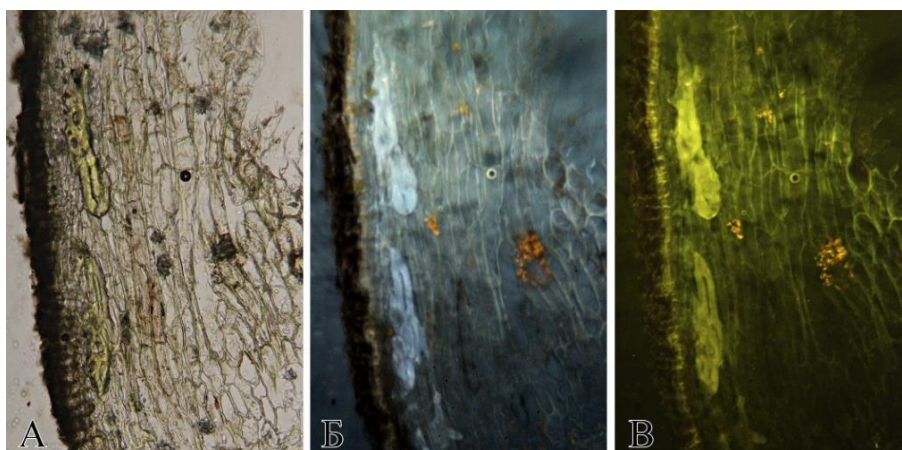


Рисунок 3.10 – Коровая часть корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.).

Поперечное сечение ( $\times 100$ ).

Обозначения: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм;

В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.



В лубяной паренхиме при данном облучении видны элементы протопластов, люминесцирующих красным или рыжим цветом. При облучении данной области среза светом с  $\lambda=420$  нм оранжевый цвет люминесценции сохраняется (рис. 3.11).

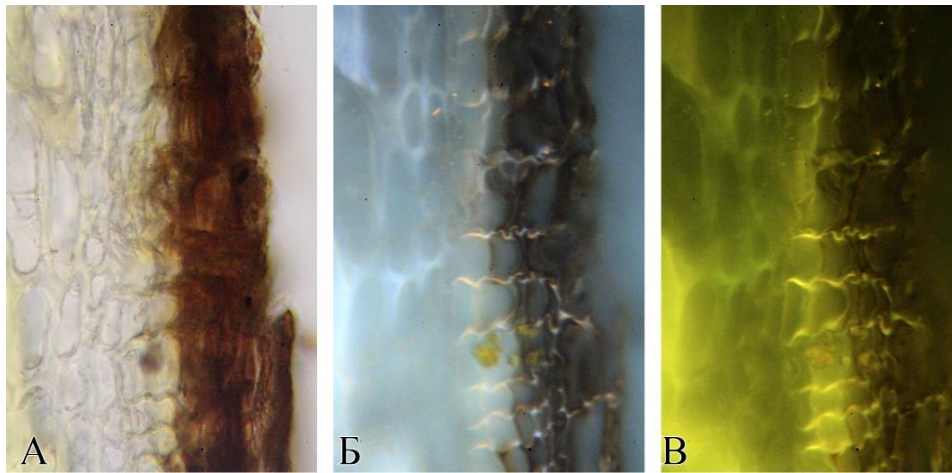


Рисунок 3.11 – Перидерма корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.). Поперечное сечение (x100).

Обозначение: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм;  
В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.

Клеточные стенки феллодермы и молодых слоёв пробки люминесцируют от светло-голубого до белого цвета, что вероятно обусловлено содержанием в них простых фенольных соединений и дубильных веществ (рис. 3.12).



Рисунок 3.12 Склереиды перидермы корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.). Поперечное сечение (x100).

Обозначение: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм;  
В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.



При изменении режима облучения на  $\lambda=420$  нм люминесценция клеточных стенок феллодермы, а также склерейд изменяется на ярко-желтую (рис. 3.12).

В основной паренхиме луба в значительном количестве диагностируются клетки идиобласты с крупными друзами звёздчатой формы, не обладающие флуоресценцией, однако их часто окружают кристаллические элементы протопласта, люминесцирующие рыжим цветом (рис. 3.13).

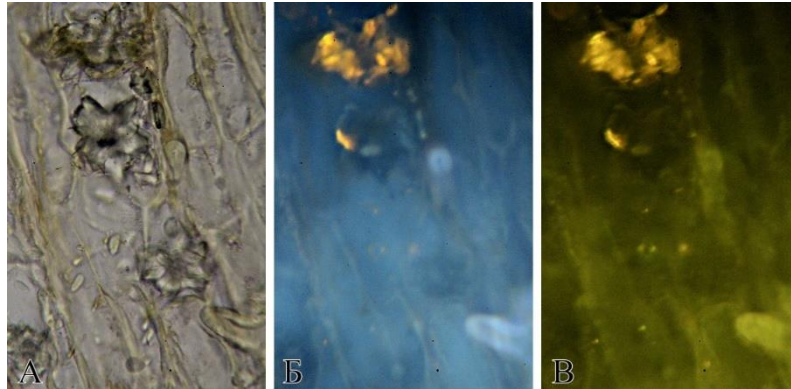


Рисунок 3.13 – Друзы в паренхиме луба корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.). Поперечное сечение (x100).

Обозначение: А – видимая область спектра, Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм, В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.

При добавлении 0,1% раствора NaOH описанные выше элементы протопласта окрашиваются в ярко-красный цвет, сохраняя при этом способность люминесцировать в аналогичных режимах облучения (рис. 3.14).

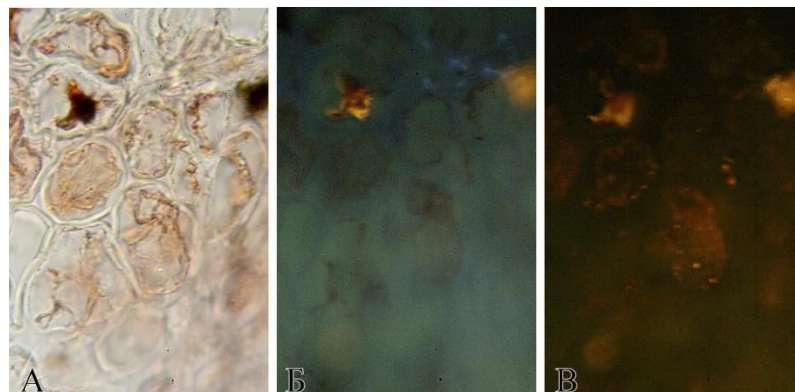


Рисунок 3.14 – Лубяная паренхима корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) при добавлении 0,1% раствора NaOH. Поперечное сечение (x100).

Обозначение: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм; В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.

Ксилема ревеня лекарственного лучистая, с хорошо развитыми сердцевинными лучами основной паренхимы (рис. 3.15). При облучении ксилемной области срезов УФ-светом с  $\lambda=360$  нм хорошо видна серо-голубая люминесценция одревесневших оболочек сосудов ксилемы (рис. 3.15). Основная паренхима сердцевинных лучей, не окрашенная при рассмотрении в дневном свете, люминесцирует за счет протопластов клеток желто-оранжевым цветом (антраценпроизводные) (рис. 3.15). При изменении режима облучения на дневной спектр с  $\lambda=420$  нм свечение всех выше описанных элементов одинаково желтое (рис. 3.15).

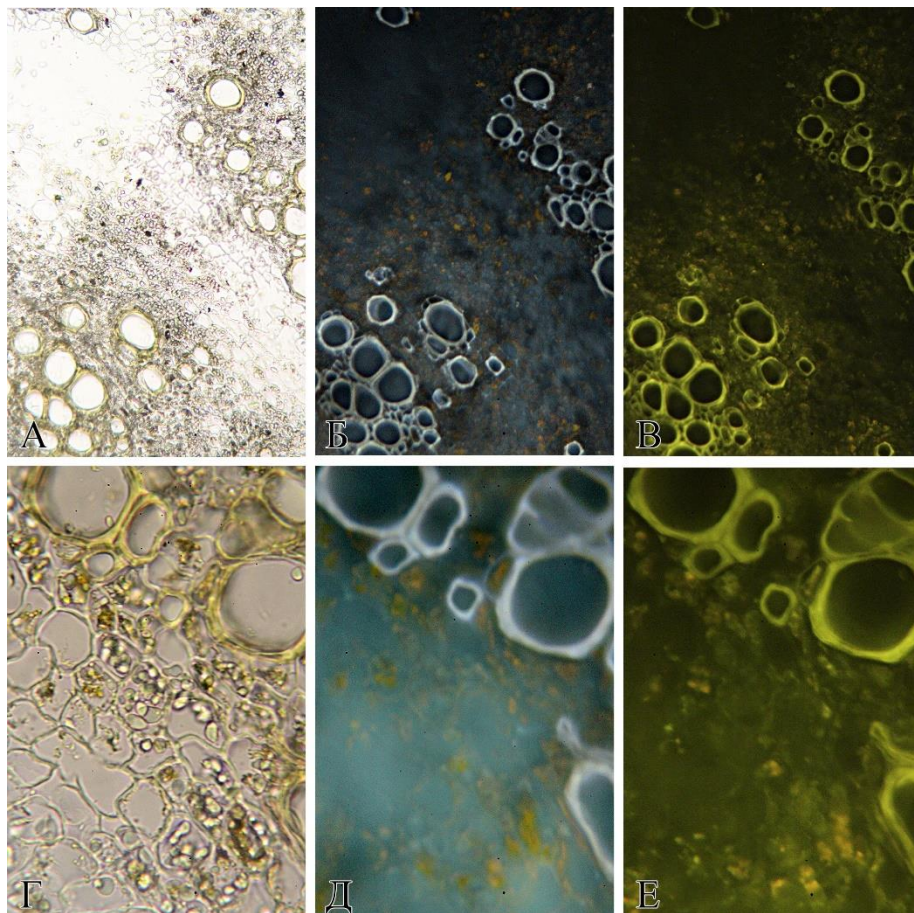


Рисунок 3.15 – Ксилемная часть корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.). Поперечное сечение: Обозначение: А – видимая область спектра (x100); Г – видимая область спектра (x400); Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм (x100), Д – люминесценция при  $\lambda=360$  нм (x400); В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм (x100); Е – люминесценция при  $\lambda=420$  нм (x400).

Паренхима сердцевинных лучей, представленная тонкостенными клетками, содержит значительное количество крахмальных зерен (рис. 3.15, 3.16).

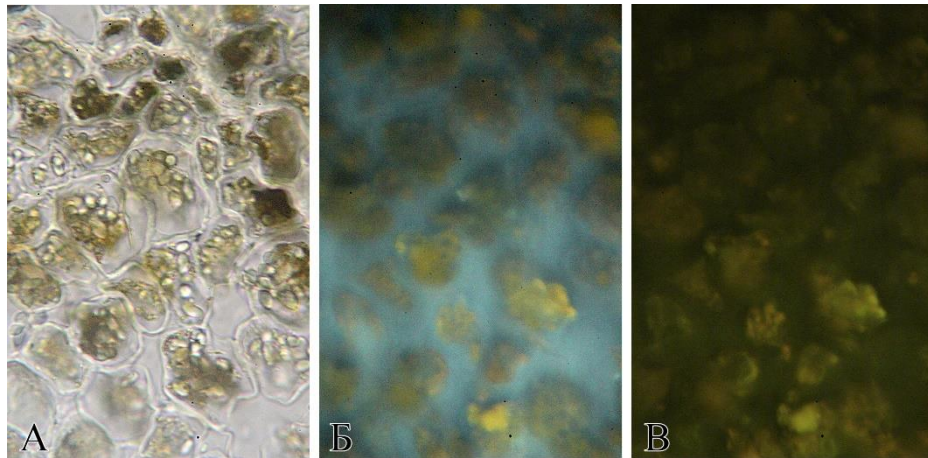


Рисунок 3.16 – Паренхима сердцевинного луча корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.). Поперечное сечение (x100).

Обозначение: А – видимая область спектра; Б – люминесценция при  $\lambda=360$  нм;  
В – люминесценция при  $\lambda=420$  нм.

Крахмальные зерна простые, мелкие, овальной, каплевидной или почти округлой формы не люминесцируют в изучаемых диапазонах облучения (рис. 3.16). В структуре крахмальных зерен не заметны центры кристаллизации и растрескивания (рис. 3.17).

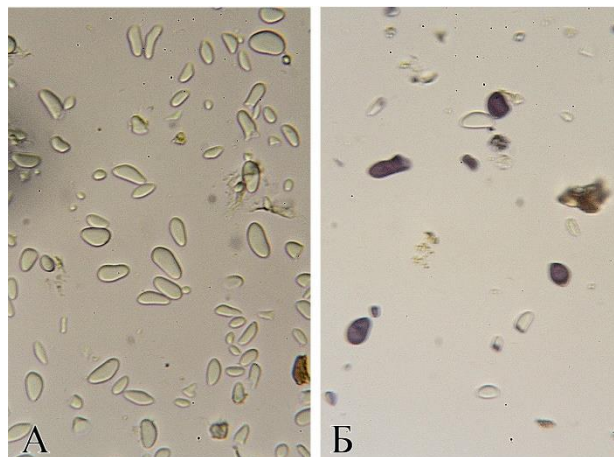


Рисунок 3.17 – Крахмальные зерна корня ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.). Поперечное сечение (x100).

Обозначение: А – видимая область спектра; Б – окраска 0,5% раствором Люголя.



### ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Впервые проведено сравнение диагностических признаков и особенностей люминесценции корней близкородственных видов ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

2. Доказано, что признаки, активно используемые в отечественной и зарубежной нормативной документации, а именно: крупные друзы оксалата кальция звездчатой формы, воронковидно-расширенные сердцевинные лучи, фрагменты темно-коричневой пробки, сетчатые сосуды – являются общими для представителей рода *Rheum* и не позволяют селективно отличать ЛРС ревеня тангутского от ЛРС ревеня лекарственного.

3. Выявлены новые, ранее не описанные признаки, селективно отличающие корни сравниваемых видов ревеня. К таким признакам нами отнесены: слой склереид и особенности их люминесценции под пробковым слоем у корней ревеня лекарственного; крахмальные зерна овальной, каплевидной или почти округлой формы без центров кристаллизации и растрескивания у ревеня лекарственного; наличие кристаллических включений в лубяной паренхиме корней ревеня тангутского, люминесцирующих в УФ-свете с  $\lambda=360$  нм ярко-голубой флуоресценцией.

#### **ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО (*RHEUM PALMATUM* L.) И РЕВЕНЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*RHEUM OFFICINALE* B.)**

Единственным видом рода Ревень, включенным в ГФ РФ XIV издания, является ревень тангутский [31]. В работах российских ученых можно найти немногочисленные результаты исследований фитохимического состава корней ревеня тангутского [48, 89]. Ревень лекарственный широко применяется за рубежом и включен во многие фармакопеи мира [28, 29, 74, 99, 105], однако отечественными учеными изучался мало. Использование ревеня лекарственного в официальной медицинской практике, несмотря на существующую сырьевую базу, невозможно ввиду отсутствия НД. Для её разработки необходимы фитохимические исследования корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Оба вида ревеня содержат антраценпроизводные и дубильные вещества [3, 44, 48, 81, 101, 114]. Для представителей рода Ревень также отмечается содержание флавоноидов, горечей, полисахаридов, значительного количества микроэлементов и других биологически активных соединений (БАС) [17, 48, 81]. Однако основной группой БАС, обуславливающей слабительное фармакологическое действие подземных органов ревеней и препаратов на их основе, являются антраценпроизводные [3, 44, 48, 52, 81]. Антраценпроизводные корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного исследовались путем предварительного скрининга химического состава исследуемых растений. Учитывая специфику химического состава, нами разработан проект ФС на новый вид ЛРС «Ревеня лекарственного корни» и дополнения к существующей ФС «Ревеня дланевидного корни».

#### **4.1. Предварительное фитохимическое исследование корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного**

С целью предварительной фитохимической оценки качественного состава корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного проводились качественные химические реакции, а также хроматография и спектрофотометрия водно-спиртовых извлечений из сырья. Данные исследования показали наличие в исследуемых объектах доминирующих БАВ (антраценпроизводных, дубильных веществ и других фенольных соединений).

Для подтверждения присутствия антраценпроизводных соединений в сырье ревеня тангутского и ревеня лекарственного использовали люминесцентную микроскопию и качественные реакции [25, 48, 89].

##### **4.1.1. Метод тонкослойной хроматографии**

Антраценпроизводные, являющиеся доминирующей группой БАС в исследуемых объектах согласно предварительному исследованию и литературным источникам, были выбраны нами для дальнейшего изучения. Ориентировочное исследование водно-спиртовых извлечений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного позволило определить, что подходящей системой растворителей для разделения БАС является система этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10). Определение действующих веществ проводили в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм и 365 нм).

При сравнительном анализе хроматограммных пластинок «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» с водно-спиртовым извлечением корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм, 365 нм) обнаруживаются соединения, характерные для обоих видов: доминирующее пятно франгула-эмодин при  $R_f \approx 0,9$  с темно-оранжевой флуоресценцией; катехин пятном с ярко-голубой флуоресценцией ( $R_f \approx 0,72$ ) (рис. 4.1). Соединения хризофанеин и пальматин идентифицируются одним пятном ярко-желтого цвета с

желто-оранжевой флуоресценцией ( $R_f \approx 0,65$ ) исключительно на пластинках с водно-спиртовым извлечением корней ревеня тангутского, а неподин обнаруживается темно-коричневым пятном ( $R_f \approx 0,85$ ) на хроматограммах с водно-спиртовым извлечением корней ревеня лекарственного. Данные отличия в химическом составе сравниваемых видов легко обнаруживаются при проведении ТСХ.

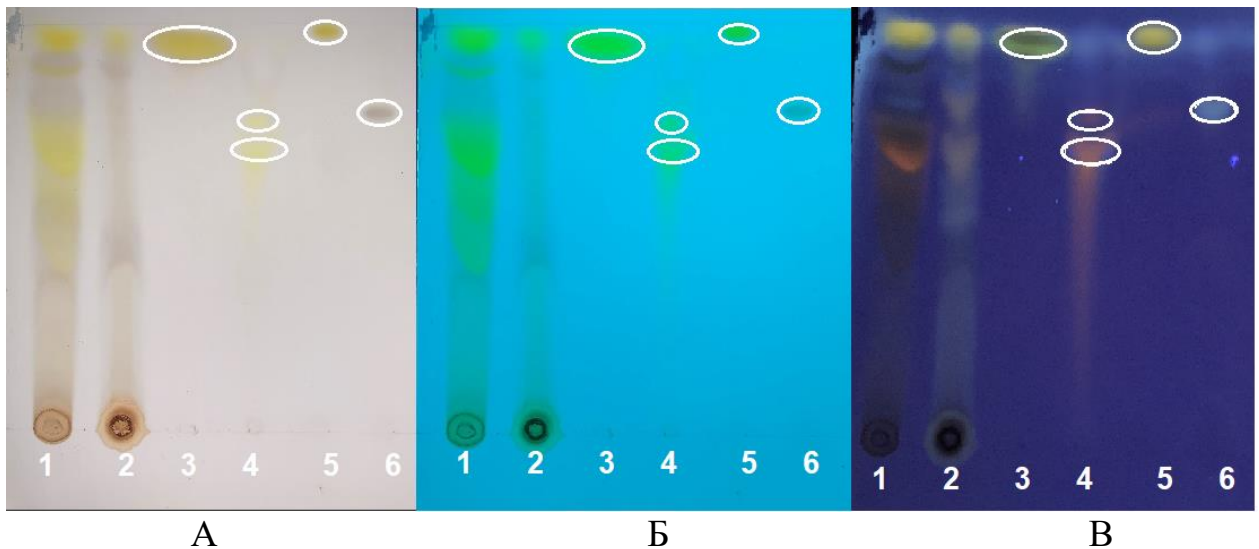


Рисунок 4.1 – Хроматографический профиль водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного: А – идентификация в дневном свете; Б – идентификация в УФ-свете при 254 нм; В – идентификация в УФ-свете при 365 нм.

*Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение из корней ревеня тангутского; 2 – водно-спиртовое извлечение из корней ревеня лекарственного; 3 – неподин; 4 – пальматин и хризофанеин; 5 – фрнагула-эмодин; 6 – катехин.*

#### 4.1.2. Метод спектрофотометрии

С целью подтверждения результатов предварительного анализа, полученных хроматографическим методом, извлечения из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного исследовались методом спектрофотометрии.

Приготовление: раствора А (ревеня тангутского). В термостойкую колбу на 250 мл помещают 1,0 г измельченных корней ревеня тангутского, 100 мл  $C_2H_5OH$  70%, взвешивают, присоединяют обратный холодильник и нагревают на кипящей водяной бане в течение получаса, настаивают при воздействии ультразвука

мощностью 60 Вт, частотой 40 кГц и температуре 40°C 15 минут. Извлечение остужают, взвешивают, доводят до первоначальной массы недостающим количеством экстрагента и фильтруют во флакон темного стекла (раствор А).

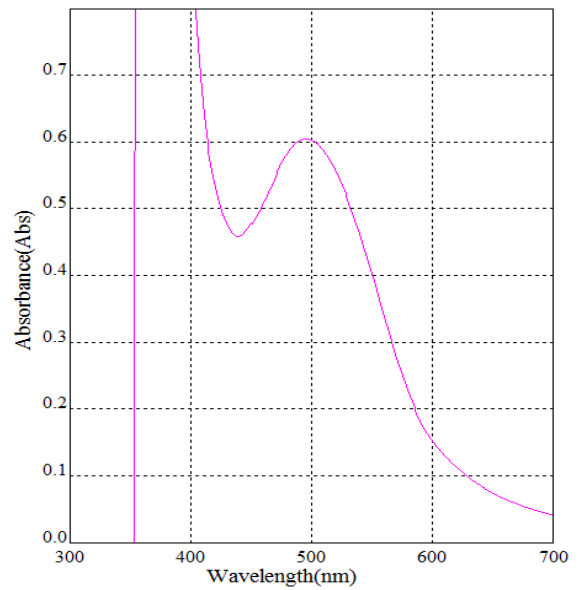
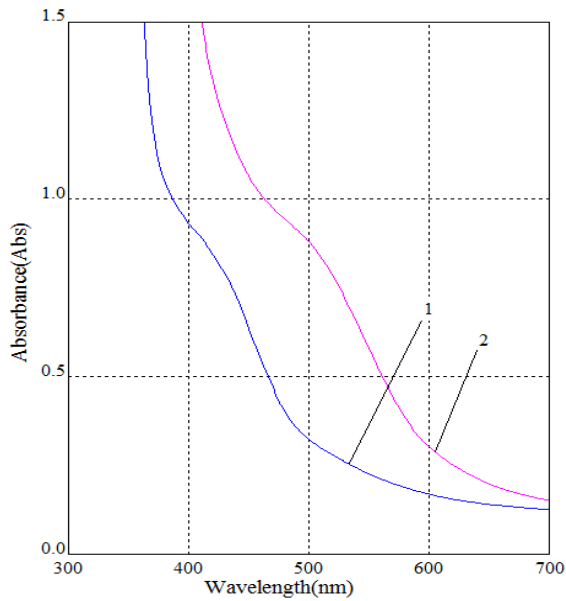
1 мл раствора А помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят до метки щелочно-аммиачным (щ-а) раствором. Нулевым раствором и раствором сравнения выступает раствор, полученный следующим образом: 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем до метки 70% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН.

Раствор Б (ревеня лекарственного). В термостойкую колбу на 250 мл помещают 1,0 г измельченных корней ревеня лекарственного, 100 мл 60% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ОН и взвешивают, присоединяют обратный холодильник и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут, выдерживают при воздействии ультразвука мощностью 60 Вт, частотой 40 кГц и температуре 40°C 15 минут. Остывшее извлечение взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы, добавляя недостающее количество экстрагента, затем фильтруют во флакон темного стекла.

1 мл раствора Б помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят до метки щелочно-аммиачным раствором. Нулевым раствором и раствором сравнения выступает раствор, полученный следующим образом: 1 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем до метки 60% этанолом.

Исследование электронных спектров щелочно-аммиачных растворов водно-спиртовых извлечений корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного показало четкий батохромный сдвиг в области от 500 до 550 нм, что свидетельствует о вкладе антраценпроизводных в кривую поглощения электронных спектров сравниваемых видов растений (рис. 4.2, 4.3) [48, 89, 114, 117, 130].

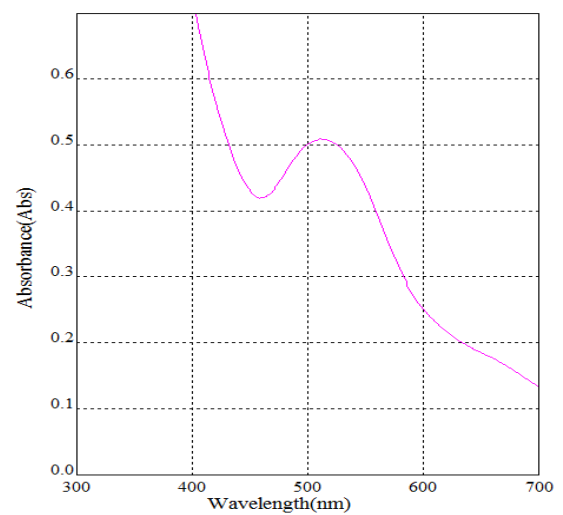
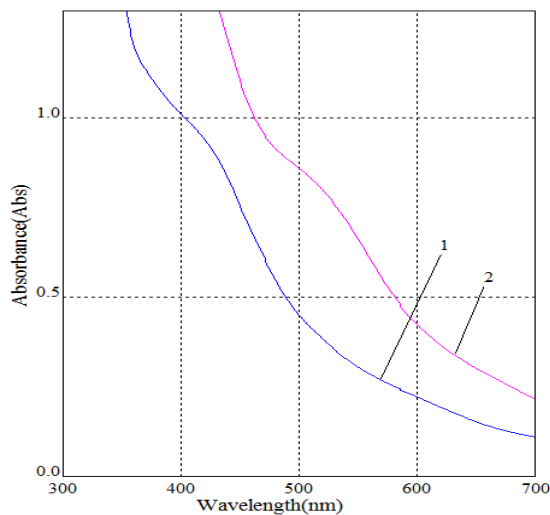




А

Б

Рисунок 4.2 – А – Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского; Б – Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского в условиях дифференциальной спектрофотометрии.



А

Б

Рисунок 4.3 – А – Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного; Б – Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного в условиях дифференциальной спектрофотометрии.

#### 4.2. Выделение индивидуальных веществ из корней ревеня тангутского

В качестве объекта исследования использовали промышленный образец корней ревеня тангутского (ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край). Разделение и выделение БАС из корней ревеня тангутского проводили методом разделительной колоночной хроматографии [39, 89, 90]. Непосредственно проводили экстракцию высушенных корней ревеня тангутского (150 г) трижды до полного извлечения действующих веществ 70 % раствором спирта этилового, комбинируя классический метод мацерации в течение 24 ч и нагревание в течение 30 минут на водяной бане при 80 °С. Все три извлечения объединяли и сгущали до 30 мл в роторном испарителе. Полученное густое извлечение смешивали с сорбентом (силикагель L 40/100) и высушивали. Высушенный порошок с экстрактом распределяли сверху по чистому силикагелю. Подвижной фазой выступили хлороформ, спирт этиловый и их смеси (табл. 4.1).

Таблица 4.1 – Схема элюирования веществ из экстракта корней ревеня тангутского методом колоночной хроматографии

Хлороформ %	Этанол %	Объем, мл	Номер фракции, №
100%	-	700 мл	1-7
99%	1%	400 мл	8-11
98%	2%	400 мл	12-15
97%	3%	400 мл	16-19
95%	5%	400 мл	20-23
93%	7%	400 мл	24-27
90%	10%	400 мл	28-31
85%	15%	400 мл	32-35
80%	20%	400 мл	36-39
75%	25%	400 мл	40-43
70%	30%	400 мл	44-47
60%	40%	400 мл	48-51
50%	50%	400 мл	52-55
40%	60%	400 мл	56-59
30%	70%	400 мл	60-63
20%	80%	400 мл	64-67
-	100%	400 мл	68-71

Поскольку первоначальный объем фракций составлял около 100 мл, было необходимо сконцентрировать их выпариванием под вакуумом до 8-10 мл. После выпаривания концентраты переносили в подписанные небольшие флаконы соответствующего объема и изучали. Контролировали правильность проведения процесса хроматографии визуально по изменению цвета и интенсивности фракций и используя метод ТСХ. С этой целью на хроматографические пластины наносили капиллярно концентраты фракций и хроматографировали в системе растворителей: этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10). Детекцию осуществляли в дневном и УФ-свете (254 и 365 нм) и после реакции с раствором ДСК. Стандартом выступало водно-спиртовое извлечение из корней ревеня тангутского 1:10 на 70 % этаноле [39, 89].

#### **4.3. Исследование фракций, содержащих перспективные индивидуальные вещества, выделенные из корней ревеня тангутского**

ТСХ анализ, проведенный в процессе разделения и выделения веществ методом колоночной хроматографии, позволил выявить перспективные для дальнейшего исследования фракции. Такими оказались фракция 14 (элюент – хлороформ и этанол 98:2), фракция 35 (элюент – хлороформ и этанол 85:15). Завершающую стадию очистки фракции 35 проводили также методом колоночной хроматографии, сорбентом выступил полиамид SC 6. Колонку элюировали водой, водно-спиртовыми растворами различной концентрации и раствором натрия гидрокарбоната с завершающей нейтрализацией 10% соляной кислотой. Кристаллы чистого вещества были получены при элюировании 70 % концентрацией водного раствора этилового спирта [39, 89].

#### **4.4. Выделение индивидуальных веществ из корней ревеня лекарственного**

Объектом исследования служили промышленные образцы корней ревеня лекарственного (ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков). Разделение и выделение

БАС из корней ревеня лекарственного проводили методом разделительной колоночной хроматографии [39, 89, 90]. Непосредственно проводили экстракцию высушенных корней ревеня лекарственного (150 г) трижды до полного извлечения действующих веществ 70 % раствором спирта этилового, комбинируя классический метод мацерации в течение 24 ч и нагревание в течение 30 минут на водяной бане при 80 °С. Все три извлечения объединяли и сгущали до 30 мл в роторном испарителе. Полученное густое извлечение смешивали с сорбентом (силикагель L 40/100) и высушивали. Высушенный порошок с экстрактом распределяли сверху по чистому силикагелю. Подвижной фазой выступили хлороформ, спирт этиловый и их смеси (табл. 4.2).

Таблица 4.2 – Схема элюирования веществ из экстракта корней ревеня лекарственного методом колоночной хроматографии

Хлороформ %	Этанол %	Объем, мл	Номер фракции, №
100%	-	800 мл	1-8
99%	1%	400 мл	9-12
98%	2%	400 мл	13-16
97%	3%	400 мл	17-20
95%	5%	400 мл	21-24
93%	7%	400 мл	25-28
90%	10%	400 мл	29-32
85%	15%	400 мл	33-36
80%	20%	400 мл	37-40
75%	25%	400 мл	41-44
70%	30%	400 мл	45-48
60%	40%	400 мл	49-52
50%	50%	400 мл	53-56
40%	60%	400 мл	57-60
30%	70%	400 мл	61-64
20%	80%	400 мл	65-68
-	100%	400 мл	69-72

Поскольку первоначальный объем фракций составлял около 100 мл, было необходимо сконцентрировать их выпариванием под вакуумом до 8-10 мл. После

выпаривания концентраты переносили в подписанные небольшие флаконы соответствующего объема и изучали. Контролировали правильность проведения процесса хроматографии визуально по изменению цвета и интенсивности фракций и используя метод ТСХ. С этой целью на различные хроматографические пластины наносили капиллярно концентраты фракций и хроматографировали в системе растворителей: этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10). Детекцию осуществляли в дневном и УФ-свете (254 и 365 нм) и после реакции с раствором ДСК. Стандартом выступало водно-спиртовое извлечение из корней ревеня лекарственного 1:10 на 70 % этаноле [39, 89].

#### **4.5. Исследование фракций, содержащих перспективные индивидуальные вещества, выделенные из корней ревеня лекарственного**

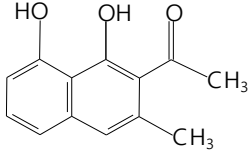
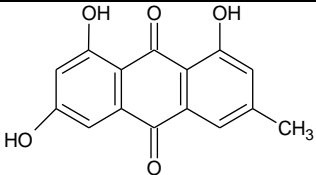
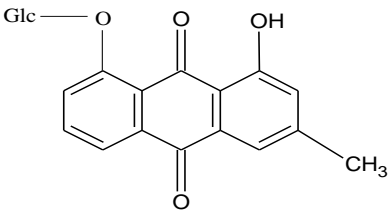
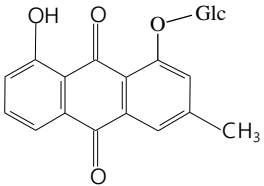
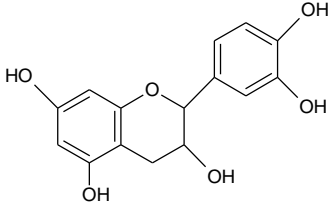
ТСХ анализ, проведенный в процессе разделения и выделения веществ методом колоночной хроматографии, позволил выявить перспективные для дальнейшего исследования фракции. Такими оказались фракция 5 (элюент-хлороформ), фракции 40-41 (элюент- смесь хлороформа и спирта 80:20 и 75:25 соответственно). Завершающую стадию очистки фракции 35 проводили рехроматографией на колонке с полиамидом SC 6. Колонку элюировали водой, водно-спиртовыми растворами различной концентрации и раствором натрия гидрокарбоната с завершающей нейтрализацией 10% соляной кислотой. Кристаллы чистого вещества были получены при элюировании 100% концентрацией этанола.

#### **4.6. Идентификация выделенных веществ и их характеристики**

Индивидуальные вещества ревеня тангутского и ревеня лекарственного, выделенные из фракций №14, 35 и 5, 40-41 соответственно, анализировали методами гидролиза, различными вариантами хроматографии и спектральными методами.

Спектральные, а также физико-химические характеристики веществ, выделенных из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Физико-химические константы выделенных соединений

	Название, химическая формула	Состав	M <sup>+</sup>	Тпл. С°	λ <sub>max</sub> (EtOH), нм
1.	 <p>Неподин (1,8-дигидрокси-2-ацетил-3-метилнафталин)</p>	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	M <sup>+</sup> 216	162- 164	228, 266, 304, 320, 335
2.	 <p>Франгула-эмодин (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон)</p>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	M <sup>+</sup> 270	254- 255	222, 250, 268, 290, 439, 461
3.	 <p>Хризофанеин (8-О-β-D-глюкопиранозид хризофанола)</p>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	M <sup>+</sup> агли кона 254	243- 246	222, 258, 284, 412
4.	 <p>Пальматин (1-О-β-D-глюкопиранозид хризофанола)</p>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	M <sup>+</sup> агли кона 254	243- 246	222, 258, 284, 412
5.	 <p>Катехин (3,5,7,3',4'-пентагидроксифлаван)</p>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	M <sup>+</sup> 290	146- 148	281

**1. Неподин** (1,8-дигидрокси-2-ацетил-3-метилнафталин). Кристаллы светло-желтого цвета состава  $C_{13}H_{12}O_3$ , т.пл. 161-163 °С (хлороформ-гексан). УФ-спектр (EtOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 227, 265, 303, 319, 334. Спектр ЯМР  $^1H$  (300 МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 2.23 (3H, с, ароматическая  $CH_3$  при C-3), 2.52 (3H, с,  $COCH_3$  при C-2), 6.72 (1H, д, J = 8, H-7), 7.08 (1H, с, H-4), 7.18 (1H, дд, J = 1.0 и 8, H-5), 7.27 (1H, т, J = 7.5, H-6). Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): m/z 455.1345  $[2M+Na]^+$ , m/z 471.1088  $[2M+K]^+$ .  $^{13}C$ -ЯМР спектр (126,76 МГц). МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta_C$ , м.д.): C-1 (153.97), C-2 (136.26), C-3 (133.05), C-4 (119.06), C-5 (119.25), C-6 (128.09), C-7 (118.63), C-8 (152.89), C-4a и C-8a (108.41), CO ацетоксигруппы (204.27),  $CH_3$  ацетоксигруппы (32.09), ароматическая  $CH_3$  (19.69).

**2. Франгула-эмодин** (1,6,8-тригидрокси-3-метилантрахинон). Игольчатые кристаллы оранжевого цвета состава  $C_{15}H_{10}O_5$ , Масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %):  $M^+$  270 (100 %), т.пл. 252-253 °С (хлороформ-EtOH). УФ-спектр (EtOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 221, 251, 267, 288, 435, 460 нм. Спектр ЯМР  $^1H$  (300 МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 2.36 (3H, с, ароматическая  $CH_3$  при C-3), 6.52 (1H, д, J = 2.5, H-7), 7.11 (2H, с, H-2 и H-4), 7.46 (1H, д, J = 2.5, H-5), 11,20 (1H, уш. с, 6-OH-группа), 11.94 и 12.00 (1H, с, OH-группы при C-1 и C-8).

**3. Хризофанеин** (8-O- $\beta$ -D-глюкопиранозид хризофанола). Кристаллы оранжевого цвета состава  $C_{21}H_{20}O_9$ , т.пл. 242-244 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH,  $\lambda_{max}$ , нм): 222, 258, 284, 412. Спектр ЯМР  $^1H$  (300 МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д., J/Гц): 2.41 (3H, с, ароматическая  $CH_3$  при C-3), 3.2-4.6 (6H глюкопиранозы), 5.14 (1H, д, J = 7, H-1<sup>1</sup> глюкопиранозы), 7.19 (1H, с, H-2), 7.53 (1H, с, H-4), 7.70 (1H, дд, J = 1 и 8, H-7), 7.76 (1H, дд, J = 1 и 8, H-5), 7.86 (1H, т, J = 7.5, H-6), 11.96 (1H, с, OH-группа при C-1).  $^{13}C$ -ЯМР спектр (126,76 МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta_C$ , м.д.): C-1 (158.43), C-2 (119.40), C-3 (147.69), C-4 (121.33), C-5 (135.24), C-6 (124.34), C-7 (122.71), C-8 (161.63), C-9 (187.72), C-10 (182.19), C-1a (135.99), C-4a (132.18), C-5a (134.79), C-8a (136.24), C-1' глюкозы (100.48), C-5' (77.29), C-2' и C-3' (76.61), C-4' (73.72), C-6' (60.61), ароматическая  $CH_3$  (21.81). Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): m/z 439.0974  $[M+Na]^+$ , m/z 855.2044  $[2M+Na]^+$ , m/z 871,1741  $[2M+K]^+$ .

**4. Пальматин** (1-O-β-D-глюкопиранозид хризофанола). Кристаллы оранжевого цвета состава C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>, т.пл. 232-235 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ<sub>max</sub>, нм): 222, 259, 284, 410. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (300 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ, м.д., J/Гц): 2.32 (3H, с, ароматическая CH<sub>3</sub> при C-3), 3.2-4.6 (6H глюкопиранозы), 5.15 (1H, д, J = 7, H-1<sup>1</sup> глюкопиранозы), 7.198 (1H, с, H-2), 7.52 (1H, с, H-4), 7.71 (1H, дд, J = 1 и 8, H-7), 7.75 (1H, дд, J = 1 и 8, H-5), 7.87 (1H, т, J = 7.5, H-6), 11.83 (1H, с, OH-группа при C-1). <sup>13</sup>C-ЯМР-спектр (126,76 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub>, м.д.): C-1 (161.42), C-2 (118.33), C-3 (147.43), C-4 (120.61), C-5 (134.48, C-6 (124.09), C-7 (122.47), C-8 (158.23), C-9 (187.52), C-10 (182.16), C-1a (135.99), C-4a (132.42), C-5a (134.79), C-8a (135.99), C-1' глюкозы (100.48), C-5' (77.26), C-2' и C-3' (76.54), C-4' (73.34), C-6' (60.61), ароматическая CH<sub>3</sub> (21.51). Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): m/z 439.0974 [M+Na]<sup>+</sup>.

**5. Катехин** (3,5,7,3<sup>1</sup>,4<sup>1</sup>-пентагидроксифлаван). Белое кристаллическое вещество состава C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> с т. пл. 146-148 °С (водный спирт). λ<sub>max</sub> EtOH 281 нм. Масс-спектр (ESI-MS, 180 °С, m/z): 313 [M + Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-ЯМР спектр (300 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ, м.д., J/Гц): 9,15 (1H, с, 5-OH), 8,93 (1H, с, 7-OH), 8,04 (1H, с, 4<sup>1</sup>-OH), 8,00 (1H, с, 3<sup>1</sup>-OH), 6,75 (1H, д, 2,5 Гц, H-2<sup>1</sup>), 6,68 (1H, д, 9 Гц, H-5<sup>1</sup>), 6,59 (1H, дд, 2,5 и 9 Гц, H-6<sup>1</sup>), 5,90 (1H, д, 2,5 Гц, H-8), 5,70 (1H, д, 2,5 Гц, H-6), 4,93 (1H, д, 6 Гц, 3-OH), 4,49 (1H, д, 8 Гц, H-2ax), 3,82 (1H, м, H-3ax), 2,68 (1H, дд, 6 и 16 Гц, H-4), 2,36 (1H, дд, 8 и 16 Гц, H-4). <sup>13</sup>C-ЯМР спектр (126,76 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub>, м.д.): 27,91 (C-4), 66,14 (C-3), 81,04 (C-2 и C-5), 93,86 (C-6), 95,13 (C-8), 99,08 (C-10), 115,10 (C-2<sup>1</sup>), 114,56 (C-5<sup>1</sup>), 118,45 (C-6<sup>1</sup>), 130,62 (C-11), 144,87 (C-3<sup>1</sup> и C-4<sup>1</sup>), 156,39 (C-7), 156,20 (C-5), 156,49 (C-9).

В <sup>1</sup>H-ЯМР-спектре соединения **1** наблюдаются трехпротонные синглетные сигналы ароматической CH<sub>3</sub>-группы при 2.23 м.д. и ацетоксигруппы при 2.52 м.д., которые отнесены к положениям C-2 и C-3 соответственно. Кроме того, в <sup>1</sup>H-ЯМР-спектре соединения **1** обнаружен однопротонный синглетный сигнал при 7.08 при м.д., отнесенный к положению C-4. В <sup>1</sup>H-ЯМР-спектре соединения **1** присутствуют также сигналы протона H-5 в виде двойного дублета с константой



спин-спинового взаимодействия (КССВ) 1 и 8 Гц, протона Н-7 в виде двойного дублета с КССВ 1 и 8 Гц и протона Н-6 в виде триплета с КССВ 7.5 Гц. Данные результаты свидетельствуют о том, что ОН-группы находятся в положениях 1 и 8 молекулы соединения **1**. Данный вывод подтверждается результатами  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии: сигналы углеродных атомов при С-1 и С-8 резонируют при 153.97 м.д. и 152.89 м.д. соответственно (рис. 4.4, 4.6).

Наличие в соединении **1** ацетоксигруппы подтверждается данными  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра, в котором присутствует сигнал карбонильной группы при 204.27 м.д., а также сигнал  $\text{CH}_3$ -группы в ацетоксигруппе при 32.09 м.д. (рис. 4.4, 4.6).

Совокупность данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-, УФ- и масс-спектров, а также физико-химических констант позволяет соединение **1** идентифицировать как неподин (рис. 4.4, 4.5, 4.6) [104].

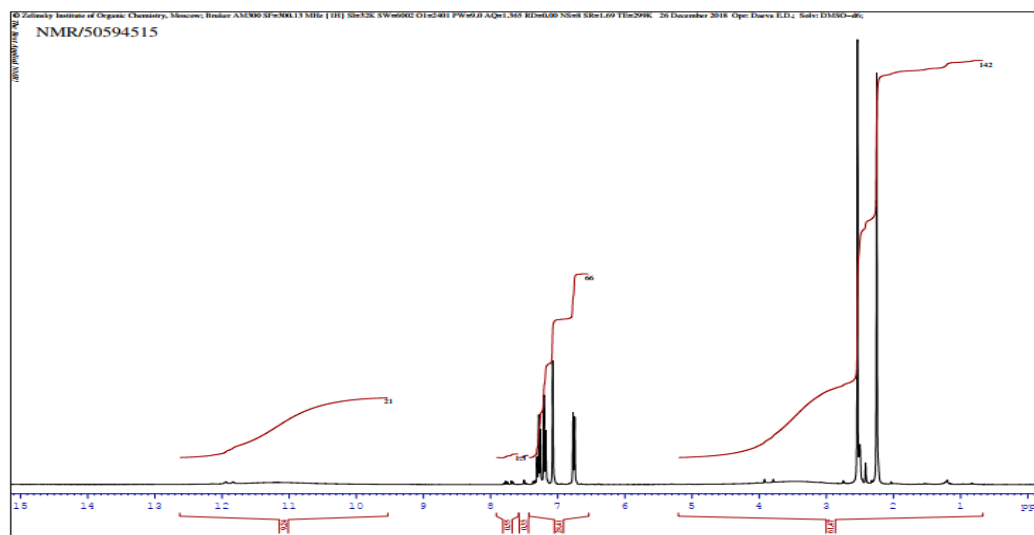


Рисунок 4.4 –  $^1\text{H}$ -ЯМР спектр неподина в ДМСО- $d_6$ .

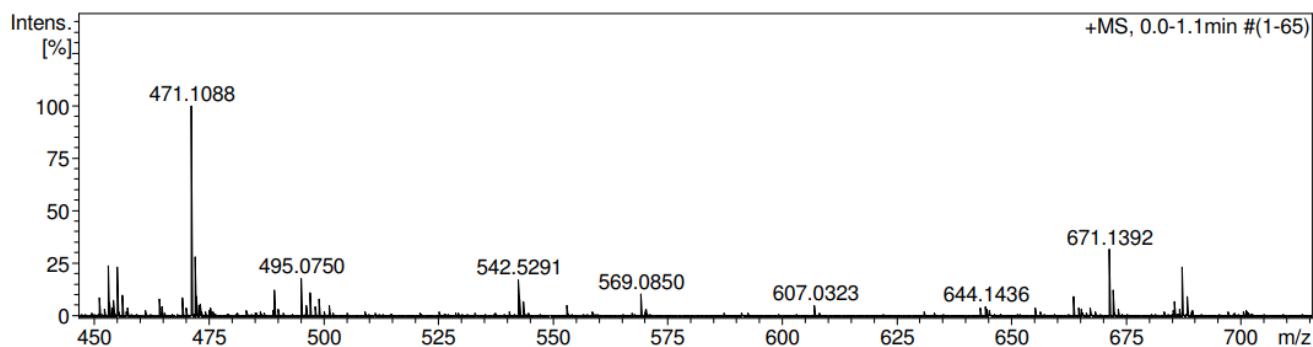


Рисунок 4.5 – Масс-спектр неподина.

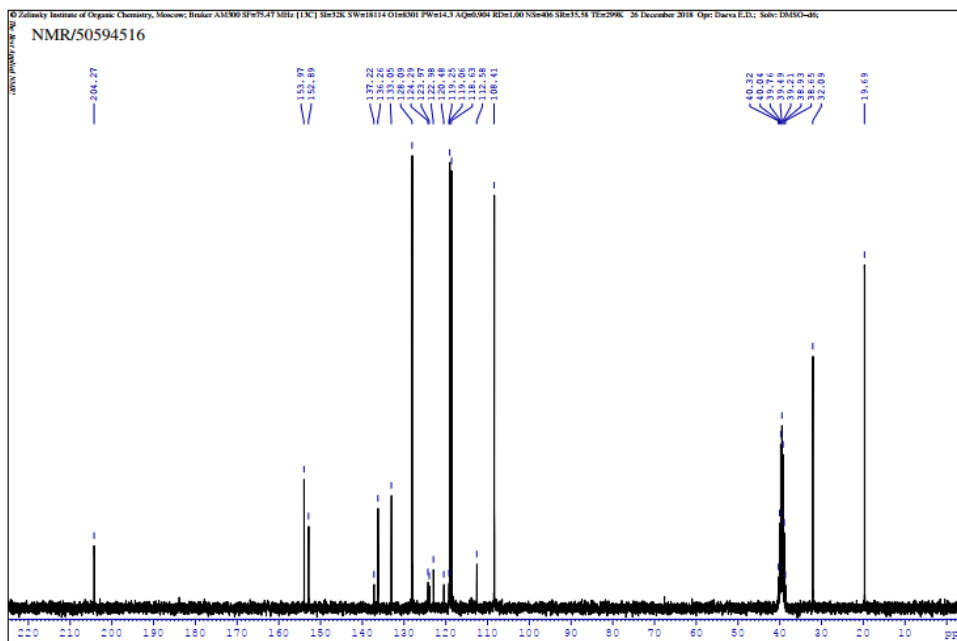


Рисунок 4.6 –  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектр неподина в  $\text{DMSO-d}_6$ .

В слабом поле  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра (11.94 м.д. и 12.00 м.д.) соединений **2** наблюдаются два однопротонных синглетных сигнала, характерные для ОН-групп при С-1 и С-8 молекулы антрахинона. В  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре соединения **2** присутствует трехпротонный синглетный сигнал при 2.36 м.д., который свидетельствует о наличии ароматической  $\text{CH}_3$ -группы при С-3. В  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре соединения **2** обнаружен также двухпротонный синглетный сигнал при 7.11 м.д., что характерно для протонов Н-2 и Н-4. Кроме того, в  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре соединения **2** присутствуют два однопротонных синглетных сигнала с КССВ 2.5 Гц при 6.52 Гц и 7.46 Г, которые подтверждают наличие протонов Н-7 и Н-5.

Совокупность данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-, УФ- и масс-спектров, а также физико-химических констант позволяет идентифицировать соединение **2** как франгулаэмодин [104].

Антрахиноновая природа соединений **3** и **4** подтверждается данными  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров, в каждом из которых обнаруживаются сигналы С-9 и С-10, в частности, в соединении **3** при 187.52 и 182.16 м.д. соответственно.

Данные  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров соединений **3** и **4** свидетельствует о том, характер замещения в бензольном кольце обоих веществ (ОН-группа при С-8) соответствует

соединению **1**. Кроме того, в молекуле обоих соединений обнаружены трехпротонные синглетные сигналы при 2.41 м.д. и 2.32 м.д., принадлежащих ароматическим метильным группам. Наличие в  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрах соединений **3** и **4** дублетных сигналов при 5,14 м.д. и 5.15 м.д., принадлежащих аномерным протонам глюкозы, свидетельствует о гликозидной природе данных веществ. В результате кислотного гидролиза соединений **3** и **4** образуются одинаковые компоненты - глюкоза и хризофанол (агликон). Присоединение глюкозы к ОН-группе в положении С-8 в соединении **3** и к ОН-группе в положении С-1 в соединении **4** подтверждается значениями химических сдвигов сигналов углеродных атомов С-1 и С-8 в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектрах (рис. 4.7).

Совокупность данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-, УФ- и масс-спектров, а также физико-химических констант позволяет соединения **3** и **4** идентифицировать как 8-О-глюкопиранозид хризофанола (хризофанин) и 1-О-глюкопиранозид хризофанола (пальматин) [104].

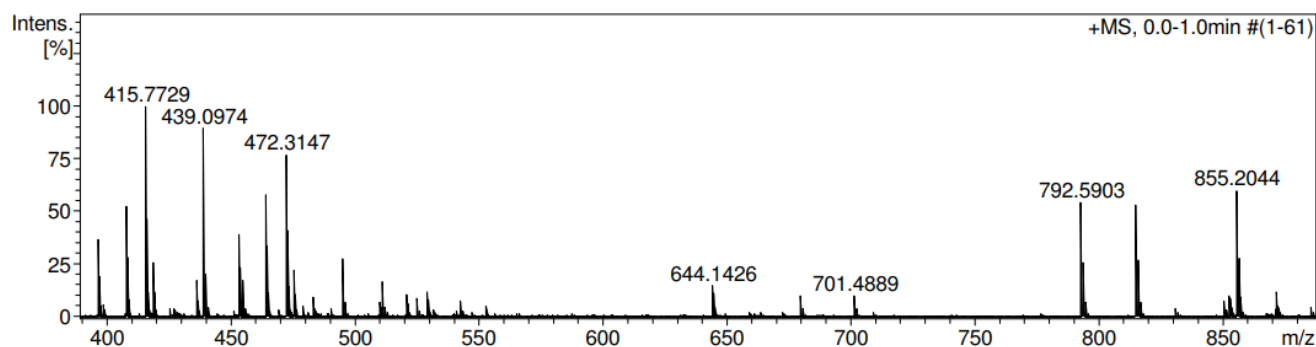


Рисунок 4.7 – Масс-спектр хризофанина.

В  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектре соединения **5** присутствуют характерные сигналы протонов Н-2<sup>1</sup> (1Н, д, 2,5 Гц), Н-5<sup>1</sup> (1Н, д, 9 Гц), Н-6<sup>1</sup> (1Н, дд, 2,5 и 9 Гц), Н-8 (1Н, д, 2,5 Гц) и Н-6 (1Н, д, 2,5 Гц), 6,75 м.д., 6,68 м.д., 6,59 м.д., 5,90 м.д. и 5,70 м.д. Совокупность данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-, УФ- и масс-спектров, а также физико-химических констант позволяет соединение **5** идентифицировать как катехин (3,5,7,3<sup>1</sup>,4<sup>1</sup>-пентагидроксифлаван).

## ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Предварительный фитохимический анализ извлечений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного методом тонкослойной хроматографии позволил определить, что состав корней данных видов рода Ревень не идентичен.

2. При анализе методом ТСХ в извлечении из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного было обнаружено доминирующее пятно франгула-эмолина с темно-оранжевой флуоресценцией ( $R_f$  около 0,9) и пятно катехина с яркой голубой флуоресценцией ( $R_f$  около 0,72). В корнях ревеня тангутского обнаруживаются хризофанеин и пальматин одним пятном ярко-желтого цвета с яркой желто-оранжевой флуоресценцией ( $R_f$  около 0,65), а в ревете лекарственном темно-коричневое пятно неподина ( $R_f$  около 0,85).

3. Во всех электронных спектрах исследуемых образцов ревеня тангутского и ревеня лекарственного при добавлении щелочно-аммиачного раствора обнаруживается батохромный сдвиг длинноволновой полосы, что свидетельствует о вкладе антраценпроизводных в кривую поглощения спектров. В условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается максимум поглощения в области 506 - 510 нм, что позволяет рекомендовать использование в качестве СО франгула-эмолина, имеющего максимум поглощения при длине волны  $510 \pm 2$  нм.

4. Из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного выделены и идентифицированы с использованием спектрофотометрии,  $^1\text{H}$ -ЯМР-,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также результатов химических превращений 5 индивидуальных соединений: франгула-эмодин, хризофанеин, пальматин, катехин, неподин.

5. В результате проведенных фитохимических исследований сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного, было выявлено присутствие франгула-эмолина в обоих видах. Данный факт повышает интерес к изучению корней ревеня лекарственного как перспективного нового источника БАС и дальнейшего использования его в медицинской практике, что расширит сырьевую базу рода Ревень.

6. Результаты сравнительного фитохимического анализа корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного взяты за основу при разработке методик стандартизации и числовых показателей.

## ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ И РАЗРАБОТКЕ МЕТОДОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО И РЕВЕНЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО

Ревень тангутский (*Rheum palmatum* L.) и ревень лекарственный (*Rheum officinale* B.) – одни из самых активно используемых растений в традиционной и нетрадиционной медицине азиатских стран. Корни данных растений широко применяются в медицине в качестве слабительного средства [20, 27, 42, 55, 56, 61, 62, 63, 64]. Основным фармакологическим эффектом корней ревеня обусловлен содержанием антраценпроизводных, а именно франгула-эмодином и реином [48, 67, 68].

В настоящее время фармакопейные статьи по стандартизации сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного опубликованы в следующих фармакопеях: Государственная фармакопея Республики Беларусь (2016г.), Британская фармакопея (2009 г.), Европейская фармакопея (2018 г.), Японская фармакопея (2006 г.), Германская гомеопатическая фармакопея (1978 г.), Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания (2018). Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания в ФС.2.5.0092.18 для целей качественного анализа предусматривает ТСХ в системе растворителей хлороформ – 96% этиловый спирт (9:1), использование в качестве СО раствора франгула-эмодина и детектирование в УФ-свете. Для определения дубильных веществ рекомендована реакция осаждения с 1% раствором желатина. Для количественного определения антраценпроизводных в корнях ревеня ФС.2.5.0092.18 предусматривает спектрофотометрическую методику определения суммы веществ в пересчете на франгула-эмодин, при этом условия экстракции БАС: при нагреве на кипящей водяной бане (60 минут) измельченных корней ревеня с 70% спиртом в соотношении сырье-экстрагент 1:50 [31], данная методика проста в исполнении, но существенным минусом является ее продолжительность, соответственно

актуальными являются исследования по сокращению времени анализа. С целью сокращения времени исследования и увеличения полноты экстракции антраценпроизводных в методику количественного анализа корней ревеня тангутского ввели стадию экстракции под воздействием ультразвука, что является новым методическим подходом. Ультразвук усиливает разрушение мембран растительных клеток, благодаря чему увеличивается концентрация БАС в извлечении. Увеличение интенсивности экстракции обусловлено следующими физико-химическими процессам: диспергированием, разрушением мицеллярной структуры и возрастанием межфазной удельной поверхности БАС [16, 58, 71]. ГФ РФ XIV издания в ФС.2.5.0092.18 не нормирует количественное содержание дубильных веществ в корнях ревеня тангутского. Однако ОФС по определению дубильных веществ в сырье предлагает два метода количественного анализа: спектрофотометрический и титриметрический. Титриметрический метод заключается в определении суммы дубильных веществ в пересчете на танин, а спектрофотометрический метод позволяет определять сумму дубильных веществ в пересчете на пирогаллол [30].

Фармакопея Республики Беларусь (2016 г.) ссылается на Европейскую фармакопею (2016 г.) и рекомендует для определения качественного состава корней ревеня тангутского реакцию эфирного извлечения с водным раствором аммиака, при этом водный слой приобретает цвет от красного до фиолетового, а также разделение методом тонкослойной хроматографии подкисленного эфирного извлечения с раствором сравнения – эмодином в системе растворителей: кислота муравьиная безводная – этилацетат – петролейный эфир (1:25:75) с детектированием в УФ-свете при 365 нм и обнаружением пяти флуоресцирующих зон (хризофанол, фисцион, эмодин, реин, алоэ-эмодин), которые после обработки раствором гидроксида калия в метаноле приобретают цвет от красного до фиолетового. Количественно определяется содержание суммы гидроксиантраценпроизводных в пересчете на реин и истизин методом спектрофотометрии [28, 29, 74, 105].

Европейская, Британская, Японская и Германская гомеопатическая фармакопеи относят к производящим растениям сырья ревеня не только ремень тангутский, но и ремень лекарственный, не делая различия в методиках качественного и количественного определения [28, 29, 74, 99, 105]. Британская фармакопея использует описанные выше методики Европейской фармакопеи. Германская гомеопатическая фармакопея рекомендует для качественного определения как реакцию очищенного подкисленного эфирного извлечения с водным раствором аммиака, при этом водный слой приобретает красный цвет, так и тонкослойную хроматографию. Для количественного анализа суммы гидроксипроизводных предложен метод спектрофотометрии при 515 нм и в пересчете на реин [74, 99, 105]. Европейская фармакопея содержит методику определения дубильных веществ в пересчете на таннин методом спектрофотометрии с использованием молибдата аммония [74, 105].

Методики, используемые Японской фармакопеей, отличаются от описанных выше: для качественного определения используется тонкослойная хроматография водно-тетрафуранового извлечения (3:7) на силикагеле в системе пропанол – этилацетат – вода – уксусная кислота (40:40:30:10) с детектированием в УФ-свете при 365 нм, в качестве раствора сравнения используют сеннозид А. Количественный анализ проводят методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с определением площади пика сеннозида А, мобильной фазой служит смесь разведенной уксусной кислоты и ацетонитрила (4:1) [74].

Таким образом, не смотря на наличие фармакопейной статьи ФС.2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корня» в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания, проблемы совершенствования стандартизации остаются актуальными ввиду наличия близкородственного вида – ревеня лекарственного.

В результате проведенного анализ фармакопей стран мира можно сделать вывод, что ремень лекарственный широко используется в мировой практике наравне с ременем тангутским. Однако единообразия методов качественного и количественного анализа нет. Также мало используются современные высокоинформативные методы анализа, что свидетельствует о перспективности



данных видов растений для более глубокого изучения их химической структуры и подготовки нормативной документации.

## **5.1. Качественный анализ корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного**

### **5.1.1. Метод тонкослойной хроматографии**

Для доказательства подлинности и видовой специфичности корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного использовали ТСХ, заключающуюся в определении доминирующих действующих веществ, таких как франгула-эмодин, хризофанеин, пальматин, неподин и катехин.

В ходе исследования подбирались наиболее подходящие условия для хроматографии. В качестве подвижной фазы испытывались различные системы, содержащие как неполярные органические растворители, такие как хлороформ, *n*-бутанол, этилацетат, так и полярные – растворы муравьиной и уксусной кислот, этиловый спирт, воду, в различных соотношениях. Наиболее подходящей по результатам проведенных испытаний оказалась система этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10), поскольку именно она позволяет обеспечить разделение и идентификацию доминирующих веществ. Именно эта смесь была рекомендована нами для целей качественного анализа [89].

При сравнительном анализе хроматограммных пластинок «Сорбфил ПТСХ-ПА-УФ» с водно-спиртовым извлечением корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного в видимой области спектра и в УФ-свете (254 нм, 365 нм) обнаруживаются соединения характерные для обоих видов: доминирующее пятно франгула-эмодин при  $R_f \approx 0,9$  с темно-оранжевой флуоресценцией; катехин одним пятном с ярко-голубой флуоресценцией ( $R_f \approx 0,72$ ) (рис. 4.1, рис. 5.1, 5.2). Соединения хризофанеин и пальматин идентифицируются одним пятном ярко-желтого цвета с желто-оранжевой флуоресценцией ( $R_f \approx 0,65$ ) исключительно на пластинках с водно-спиртовым извлечением корней ревеня тангутского, а неподин обнаруживается темно-коричневым пятном ( $R_f$  около 0,85) на хроматограммах с

водно-спиртовым извлечением корней ревеня лекарственного. Данные отличия в химическом составе сравниваемых видов легко обнаруживаются при проведении ТСХ. Для наглядности нами предложены схематические рисунки пластинок ТСХ, отражающие основные диагностически значимые соединения сырья анализируемых видов растений (рис. 5.1, 5.2).

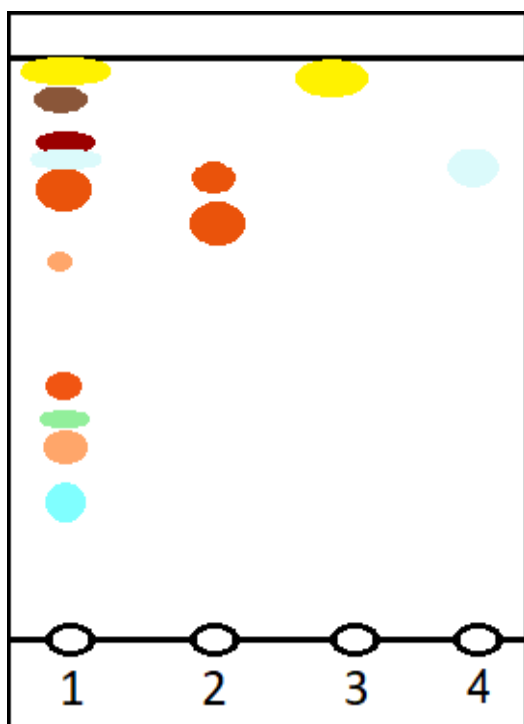


Рисунок 5.1 – Иллюстрация хроматографической пластины водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского.

*Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение из корней ревеня тангутского; 2 – пальматин и хризофанеин; 3 – фрнагула-эмодин; 4 – катехин.*

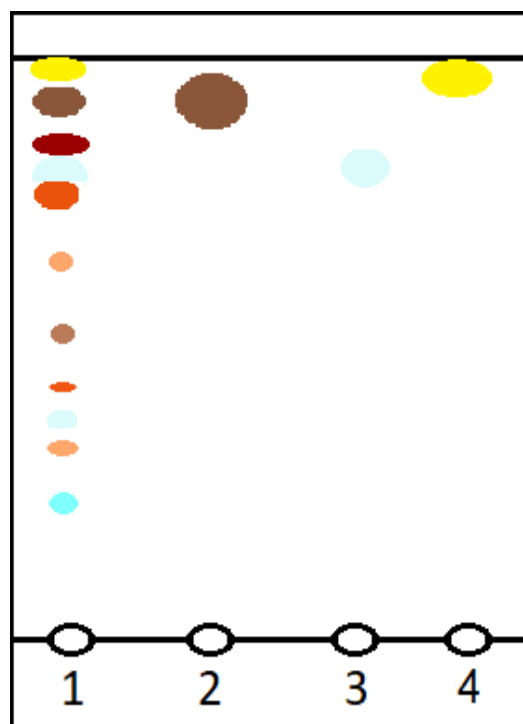


Рисунок 5.2 – Иллюстрация хроматографической пластины водно-спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного.

*Обозначения: 1 – водно-спиртовое извлечение из корней ревеня лекарственного; 2 – неподин; 3 – катехин; 4 – фрнагула-эмодин.*

Методика исследования корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного с помощью ТСХ: 1 г частиц порошка ( $\approx 1$  мм) корней ревеня тангутского (ревеня лекарственного) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют

30 мл 70%  $C_2H_5OH$ . Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса).

На хроматографическую пластинку капиллярно наносят водно-спиртовое извлечение и 0,1 % растворы РСО франгула-эмолина, пальматина, хризофанеина, неподина и катехина (0,01 мл), помещают в камеру с подвижной фазой: этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10) и хроматографируют восходящим способом. Величина пробега растворителя 8 см. После высушивания пластину изучают под УФ и детектируют раствором диазобензолсульфоокислоты (ДСК) в  $Na_2CO_3$  с термостатированием в сушильном шкафу при температуре 110 °С в течение 2 мин [12, 43, 48, 85, 89, 125, 130].

### 5.1.2. Метод спектрофотометрии

Анализ качественных показателей корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного осуществляли методом спектрофотометрии.

Для проведения спектрофотометрического анализа антраценпроизводных использовали водно-спиртовое извлечение, приготовленное в соответствии со следующей методикой: в термостойкую колбу на 250 мл помещают 1,0 г измельченных корней ревеня тангутского (ревеня лекарственного), прибавляют 100 мл экстрагента (раствор этанола 70% – для ревеня тангутского; 60% этанола для ревеня лекарственного), взвешивают. Дефлегматор присоединяют к колбе и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут, в течение 15 минут подвергают воздействию ультразвука при температуре 40 °С, частоте 40 кГц и мощности 60 Вт. После остывания доводят до первоначальной массы с использованием 60% и 70%  $C_2H_5OH$  соответственно, далее фильтруют (раствор А) [89].

Для анализа антраценпроизводных готовят: 4 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с требованиями ГФ РФ

XIV издания [30]. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 4 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем до метки 70%  $C_2H_5OH$  – для ревеня тангутского; 60%  $C_2H_5OH$  для ревеня лекарственного.

Для исследования дубильных веществ спектрофотометрическим методом анализировали водный экстракт: 1 г измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до  $\pm 0,01$ , присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 15 минут после закипания. Охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы  $H_2O$ . Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят  $H_2O$ .

Полученные спектры водно-спиртовых извлечений из сырья анализируемых растений имеют максимумы при  $282 \pm 2$  нм (рис. 5.8, 5.9), а также плечо от 500 до 550 нм (рис. 5.5, 5.6), что характерно для дубильных веществ и антраценпроизводных соответственно. На электронных спектрах щелочно-аммиачных растворов водно-спиртовых извлечений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного отмечается батохромный сдвиг в области от 500 до 550 нм, что характерно для антраценпроизводных. Для электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгула-эмолина характерен максимум поглощения при  $510 \pm 2$  нм (рис. 5.7), а для раствора катехина – при  $282 \pm 2$  нм (рис. 5.10) [89].

### 5.1.3 Метод ИК-спектроскопии

В качестве дополнительного качественного анализа нами предпринята попытка проведения спектроскопического исследования сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного в инфракрасной области спектра [21, 48, 57]. Данное исследование проводили с использованием доминирующего соединения – франгула-эмолина, идентифицированного на основе ЯМР-, УФ- и масс-спектров.

При проведении ИК-спектроскопического анализа готовили извлечение: 1 г корней ревеня тангутского (ревеня лекарственного), с размером частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой и прибавляют 50 мл 70% спирта этилового. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем в течение 15 минут подвергают воздействию УЗ при температуре 40 °С, частоте 40 кГц и мощности 60 Вт. Извлечение отстаивают 10 мин, фильтруют через бумажный фильтр с красной полосой в мерную колбу вместимостью 200 мл. Из полученного экстракта готовят образец методом полива: 100 - 250 мкл экстракта помещают на горизонтальную подложку. Материал подложки – селенид цинка. Сушат подложку с образцом при комнатной температуре. После полного удаления растворителя на подложке остается тонкая пленка исследуемого образца. Полученный таким способом образец помещают в инфракрасный фурье-спектрометр «ИнфраЛИОМ ФТ - 02». ИК - спектр снимают в диапазоне 500 - 4000 см<sup>-1</sup>. В качестве стандартного образца при снятии спектров используют пластину из того же материала и той же толщины, что и подложка для заливки пленок. В случае, когда значения оптической плотности полученного пленочного образца не позволяют сделать однозначные выводы, заливка проводится многократно до получения достоверных значений [48, 71, 89].



Рисунок 5.3 – ИК-спектр водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского. Обозначения: 1– ИК-спектр водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского; 2– ИК-спектр франгула-эмолина.



Рисунок 5.4 – ИК-спектр водно-спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного.

Обозначения: 1– ИК-спектр водно-спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного; 2– ИК-спектр франгула-эмодина.

Для фенольных соединений полосы поглощения ИК-спектров находятся в области  $1200-1400\text{ см}^{-1}$  (рис. 5.3, 5.4), таких как антраценпроизводные и флавоноиды. Выраженная полоса поглощения при  $1640\text{ см}^{-1}$  свидетельствует о наличии карбонильной группы ( $\text{C}=\text{O}$ ) у антраценпроизводных (рис. 5.3, 5.4) [48, 89]. В области ИК-спектров от  $2900$  до  $3000\text{ см}^{-1}$  находится полоса поглощения, обусловленная валентными колебаниями ароматических групп  $\text{C}=\text{C}$  (рис. 5.3, 5.4) [48, 89].

В результате предпринятой попытки проведенного исследования нами установлено, что спектры имеют характерные полосы поглощения как для водно-спиртовых извлечений корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, так и для франгула-эмодина, соответственно данный анализ дополнительно подтверждает присутствие доминирующего компонента.

## 5.2 Разработка методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного

В ходе диссертационного исследования нами выделены диагностически значимые соединения из сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного, к

которым относятся: пальматин, хризофанеин, франгула-эмодин, катехин, неподин. Доминирующим антраценпроизводным в изучаемых видах является франгула-эмодин, соответственно содержание суммы антраценпроизводных необходимо осуществлять в пересчете на данное соединение.

Далее с целью разработки методик количественного определения проводилась экстракция при различных соотношениях «сырье-экстрагент», варьировалось время экстракции на водяной бане, а также для сокращения времени исследования и увеличения полноты экстракции антраценпроизводных в разрабатываемые методики ввели стадию экстракции под воздействием ультразвука, что является новым методическим подходом (табл. 5.1, 5.2). В итоге подобраны оптимальные условия экстрагирования антраценпроизводных из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного: соотношение «сырье-экстрагент» – 1:100; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 30 мин, 15 минут экстракция при воздействии ультразвука при 40 °С, мощности ультразвука 60 Вт и частоте 40 кГц, экстрагент для корней ревеня тангутского 70% этанол, для ревеня лекарственного – 60% этанол (табл. 5.1, 5.2) [71].

Таблица 5.1 – Факторы, влияющие на полноту извлечения антраценпроизводных из корней ревеня тангутского

Концентрация экстрагента-этилового спирта, %	Соотношение «сырье: экстрагент»	Время экстракции, мин	УЗ, мин	% содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин
40%	1:50	90	15	1,71±0,11
50%	1:50	90	15	1,86±0,12
60%	1:50	90	15	2,29±0,14
70%	1:50	90	15	2,51±0,16
80%	1:50	90	15	2,24±0,14
95%	1:50	90	15	2,22±0,14
70%	1:50	60	15	1,78±0,11
70%	1:50	30	15	1,78±0,11
80%	1:50	60	15	2,13±0,13
80%	1:50	30	15	1,97±0,12

Концентрация экстрагента-этилового спирта, %	Соотношение «сырье: экстрагент»	Время экстракции, мин	УЗ, мин	% содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин
70%	1:50	60	-	1,91±0,12
70%	1:50	30	-	1,72±0,11
70%	1:25	90	15	2,02±0,13
70%	1:100	90	15	2,93±0,19
70%	1:100	15	-	2,63±0,17
70%	1:100	15	15	2,85±0,18
70%	1:100	30	-	2,63±0,17
70%	1:100	30	15	<b>3,00±0,19</b>
70%	1:100	60	-	2,63±0,17
70%	1:100	60	15	2,74±0,17

Таблица 5.2 – Факторы, влияющие на полноту извлечения антраценпроизводных из корней ревеня лекарственного

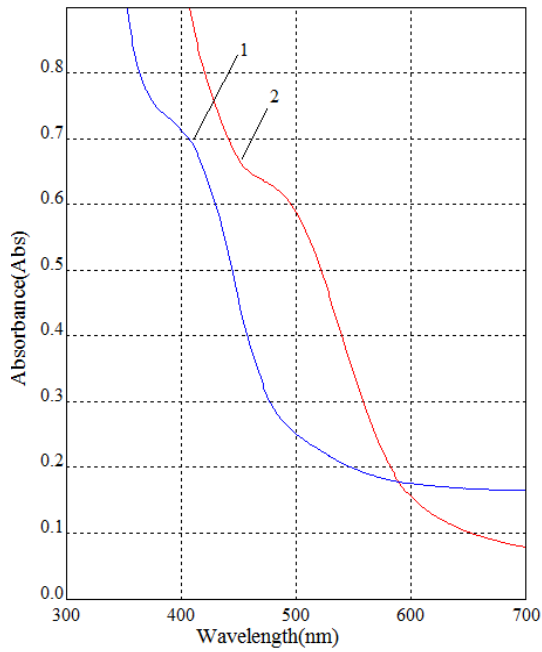
Концентрация экстрагента-этилового спирта, %	Соотношение «сырье: экстрагент»	Время экстракции, мин	УЗ, мин	% содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин
40%	1:50	90	-	1,93±0,13
			15	1,91±0,13
50%	1:50	90	-	2,16±0,14
			15	2,17±0,14
60%	1:50	90	-	2,38±0,15
			15	2,52±0,16
70%	1:50	90	-	2,41±0,16
			15	2,01±0,13
80%	1:50	90	-	2,05±0,13
			15	2,18±0,14
95%	1:50	90	-	1,90±0,12
			15	1,72±0,11
60%	1:50	60	-	1,80±0,12
			15	1,74±0,11
60%	1:50	30	-	1,71±0,11
			15	1,85±0,12



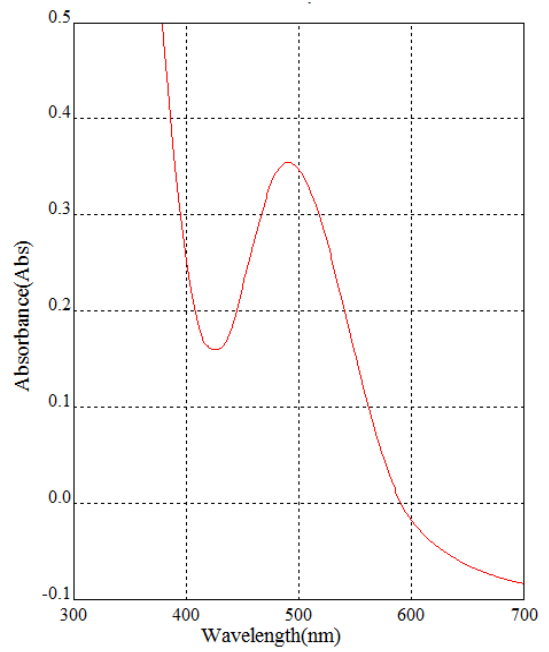
Концентрация экстрагента-этилового спирта, %	Соотношение «сырье: экстрагент»	Время экстракции, мин	УЗ, мин	% содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин
60%	1:25	90	-	1,91±0,12
			15	1,74±0,11
60%	1:100	90	-	2,58±0,17
			15	2,67±0,17
60%	1:100	60	-	2,67±0,17
			15	2,60±0,17
60%	1:100	30	-	2,70±0,18
			15	<b>2,80±0,18</b>
60%	1:100	15	-	2,59±0,17
			15	2,68±0,18

В ходе исследования были изучены спектры щ-а растворов водно-спиртовых извлечений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

На электронных спектрах щелочно-аммиачных растворов водно-спиртовых извлечений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного отмечается батохромный сдвиг в области от 500 до 550 нм (рис. 5.5 А, 5.6 А), на спектрах в условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается четкий максимум при 508±2 нм (рис. 5.5 Б, 5.6 Б). Для электронного спектра щелочно-аммиачного раствора франгула-эмодина характерен максимум поглощения при 510±2 нм (рис. 5.7). Данный факт обосновывает использование доминирующего антраценпроизводного франгула-эмодина как СО и значение 510 нм в качестве аналитической длины волны. [31, 103].

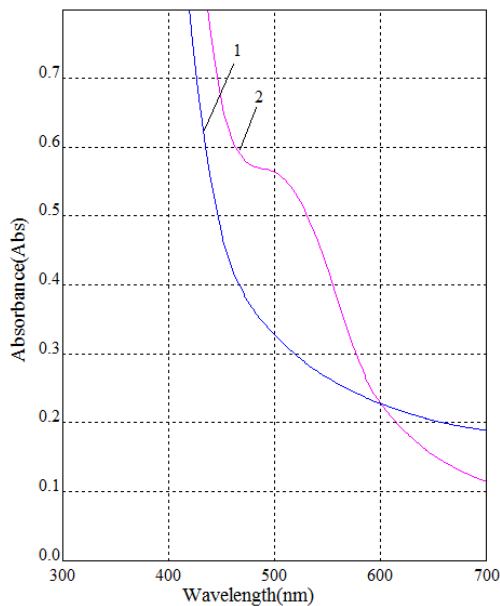


А

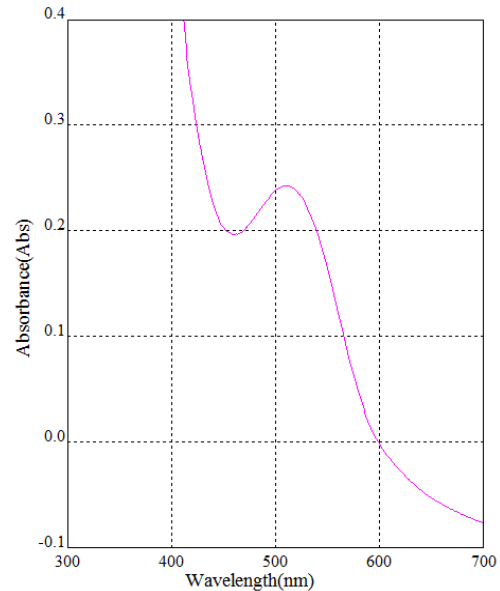


Б

Рисунок 5.5 – А- Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского; Б – Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского в условиях дифференциальной спектрофотометрии.



А



Б

Рисунок 5.6 – А - Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно-аммиачного раствора (2) водно-спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного; Б - Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного в условиях дифференциальной спектрофотометрии.

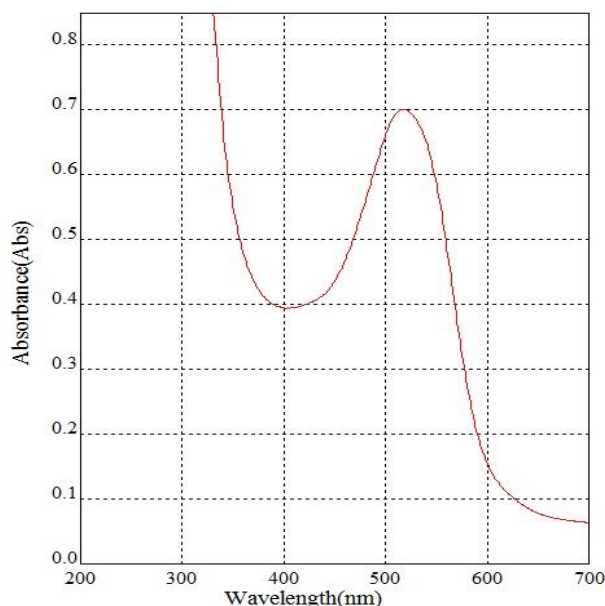


Рисунок 5.7 – Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора франгула-эмодина.

С применением разработанной методики был проведен анализ ряда образцов корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного (табл. 5.3). Содержание антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского колеблется в пределах 2,50-3,50%, а в корнях ревеня лекарственного 2,30-2,80%. Основываясь на полученный интервал концентраций антраценпроизводных в корнях ревеня, можно предложить нижнюю границу содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин 2,5% для ревеня тангутского и 2,3% для корней ревеня лекарственного.

Таблица 5.3 – Содержание суммы антраценпроизводных в образцах корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Ревень тангутский	
Образцы сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в абсолютно сухом сырье в пересчете на франгула-эмодин, %
ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, (2016 г.)	3,48±0,22
ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, (2017 г.)	2,92±0,18

Образцы сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в абсолютно сухом сырье в пересчете на франгула-эмодин, %
ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, (2018 г.)	3,00±0,19
ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край, г. Горячий ключ, (2016 г.)	2,75±0,17
ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край, г. Горячий ключ, (2017 г.)	3,22±0,20
ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край, г. Горячий ключ, (2018 г.)	3,53±0,22
Ботанический сад СамГМУ(сентябрь 2016 г.)	2,58±0,16
Ботанический сад СамГМУ (сентябрь 2017 г.)	2,72±0,16
Ботанический сад СамГМУ(сентябрь 2018 г.)	3,51±0,22
<b>Ревень лекарственный</b>	
ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков (2016 г.)	2,91±0,18
ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков (2017 г.)	2,71±0,17
ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков (2018 г.)	2,80±0,18
Ngelius Domini, Россия, г. Москва, (2016 г.)	2,48±0,16
Ngelius Domini, Россия, г. Москва, (2017 г.)	2,96±0,19

Образцы сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в абсолютно сухом сырье в пересчете на франгула-эмодин, %
Ngelius Domini, Россия, г. Москва, (2018 г.)	2,62±0,17
Россия, Р. Крым, (сентябрь 2016 г.)	2,53±0,16
Россия, Р. Крым, (сентябрь 2017 г.)	2,31±0,15
Россия, Р. Крым, (сентябрь 2018 г.)	2,67±0,17

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного представлены в таблице 5.4. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных составляет ±6,30% и 6,50% для ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

Таблица 5.4 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сырье ревеня тангутского и ревеня лекарственного

	<i>F</i>	$\bar{x}$	<i>S</i>	<i>P</i> , %	<i>t</i> ( <i>P</i> , <i>f</i> )	$\Delta X$	<i>E</i> , %
Сырье ревеня тангутского	10	2,99	0,084	95	2,23	±0,18	±6,30
Сырье ревеня лекарственного	10	2,7	0,078	95	2,23	±0,17	±6,50

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1 г измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 70% спирта этилового для ревеня тангутского или 60% спирта этилового для ревеня лекарственного, закрывают пробкой, взвешивают с

точностью до  $\pm 0,01$ , присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 минут. Затем в течение 15 минут проводят экстракцию при воздействии ультразвука при  $40^{\circ}\text{C}$ , частоте 40 кГц и мощности 60 Вт, далее взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 4 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания [30]. После охлаждения измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 510 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 4 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем до метки 70%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  для ревеня тангутского или 60%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  для ревеня лекарственного.

Формула для расчета суммы антраценпроизводных (1):

$$X = \frac{E \times m_o \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{E_o \times m \times 100 \times 4 \times 25 \times (100 - W)}, \quad (1) \text{ где:}$$

$E$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$W$  – потеря в массе при высушивании, в процентах;

$E_o$  – оптическая плотность раствора СО франгула-эмолина;

$m_o$  – масса СО франгула-эмолина, г;

$m$  – масса сырья, г.

В случае отсутствия СО франгула-эмолина возможно использование теоретического значения удельного показателя поглощения = 465, для ревеня тангутского и ревеня лекарственного формула (2) выглядит следующим образом:

$$X = \frac{E \times 100 \times 25 \times 100}{m \times 465 \times 4 \times (100 - W)}, \quad (2) \text{ где:}$$

465 - удельный показатель поглощения франгула-эмолина.

### **5.3. Разработка методики количественного определения суммы дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного**

Помимо слабительного фармакологического эффекта сырье ревеня тангутского и ревеня лекарственного обладает вяжущими свойствами, которые обусловлены содержанием большого количества дубильных веществ. Соответственно, на наш взгляд, стандартизацию сырья и водных экстрактов необходимо проводить не только на наличие и содержание антраценпроизводных, но и дубильных веществ. Так, в процессе изучения химического состава корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного был выделен и идентифицирован с помощью инструментальных методов катехин. При использовании метода тонкослойной хроматографии катехин был обнаружен в виде доминирующего пятна с голубой флуоресценцией (рис. 5.1, 5.2), что стало основанием для его использования в количественном анализе сравниваемых видов.

В ходе разработки методики количественного определения суммы дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного изучены спектры водных извлечений из данного сырья. В результате обнаружено, что при спектрофотометрическом анализе максимум поглощения водного извлечения из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного находится в коротковолновой области спектра при  $282 \pm 2$  нм (рис. 5.8, 5.9). Для электронного спектра водного раствора катехина характерен аналогичный максимум поглощения ( $282 \pm 2$  нм) (рис. 5.10), что обосновывает его использование в качестве стандартного образца, а значение 282 нм в качестве аналитической длины волны.

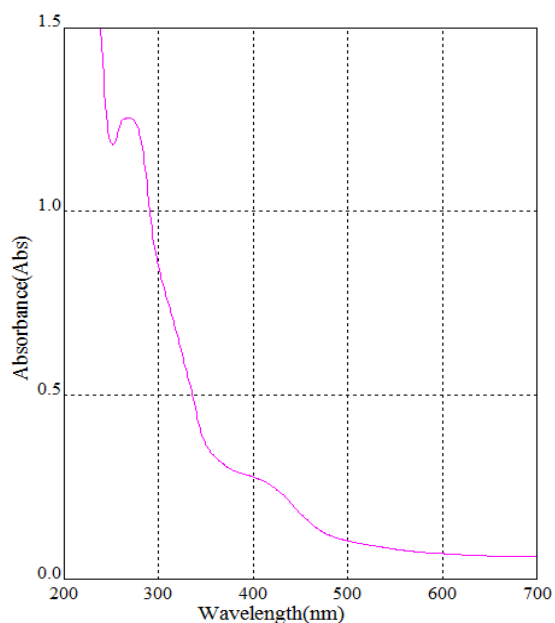


Рисунок 5.8 – Электронный спектр водного извлечения из корней ревеня тангутского.

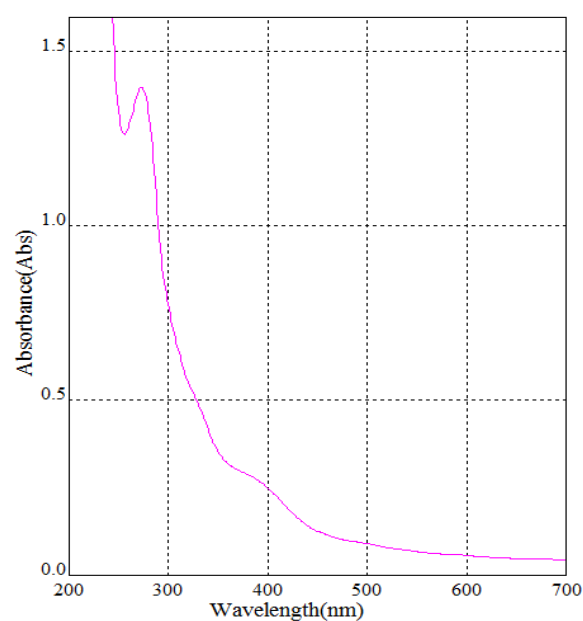


Рисунок 5.9 – Электронный спектр водного извлечения из корней ревеня лекарственного.

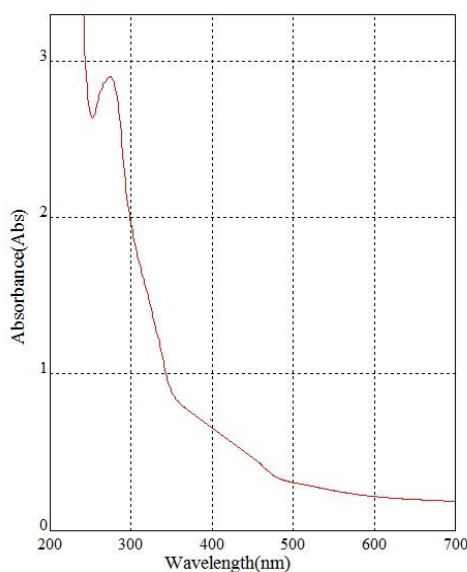


Рисунок 5.10 – Электронный спектр исходного раствора катехина.

Методика количественного определения суммы дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1 г измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до  $\pm 0,01$ , присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 15 минут после закипания.



Охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят водой до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при аналитической длине волны 282 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Формула для расчета суммы дубильных веществ (3) [89, 120]:

$$X = \frac{E \times m_o \times 50 \times 1 \times 50 \times 100 \times 100}{E_o \times m \times 100 \times 1 \times 25 \times (100 - W)}, \quad (3) \text{ где:}$$

$E$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$W$  – потеря в массе при высушивании, в процентах;

$E_o$  – оптическая плотность раствора стандартного образца катехина;

$m_o$  – масса стандартного образца катехина, г;

$m$  – масса сырья, г.

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$  катехина (144) используют при отсутствии его стандартного образца.

Формула (4) выглядит следующим образом:

$$X = \frac{E \times 50 \times 50 \times 100}{144 \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (4) \text{ где:}$$

144 - удельный показатель поглощения катехина.

С применением разработанной методики был проведен анализ ряда образцов корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного (табл. 5.5). Содержание дубильных веществ в корнях ревеня тангутского колеблется от 21,1 до 24,6%, а в корнях ревеня лекарственного 22,3 – 28,1%. Основываясь на полученный интервал концентраций дубильных веществ в корнях ревеня, можно предложить нижний предел содержания суммы дубильных веществ 21% для корней ревеня тангутского и 22% для корней ревеня лекарственного.

Таблица 5.5 – Содержание суммы дубильных веществ в образцах корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Ревень тангутский	
Образцы сырья	Содержание суммы дубильных веществ в абсолютно сухом сырье в пересчете на катехин, %
ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, (2016 г.)	24,21±1,79
ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, (2017 г.)	23,59±1,75
ООО «Старослав», Россия, Новосибирская обл., г. Бердск, (2018 г.)	21,17±1,57
ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край, г. Горячий ключ, (2016 г.)	22,98±1,70
ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край, г. Горячий ключ, (2017 г.)	24,68±1,83
ООО «Энергия трав», Россия, Краснодарский край, г. Горячий ключ, (2018 г.)	24,55±0,29
Ботанический сад СамГМУ(сентябрь 2016 г.)	23,91±1,77
Ботанический сад СамГМУ(сентябрь 2017 г.)	24,01±1,55
Ботанический сад СамГМУ(сентябрь 2018 г.)	23,17±1,72
Ревень лекарственный	
ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков (2016 г.)	27,19±1,58

Образцы сырья	Содержание суммы дубильных веществ в абсолютно сухом сырье в пересчете на катехин, %
ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков (2017 г.)	24,21±1,40
ООО «Мир Трав», Украина, г. Харьков (2018 г.)	22,54±1,31
Angelus Domini, Россия, г. Москва, (2016 г.)	28,17±1,63
Angelus Domini, Россия, г. Москва, (2017 г.)	26,23±0,41
Angelus Domini, Россия, г. Москва, (2018 г.)	25,22±1,48
Россия, Р. Крым, (сентябрь 2016 г.)	22,34±1,30
Россия, Р. Крым, (сентябрь 2017 г.)	26,62±1,54
Россия, Р. Крым, (сентябрь 2018 г.)	27,28±1,58

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного представлены в таблице 5.6. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения дубильных веществ для корней ревеня тангутского составляет  $\pm 7,40\%$ , а для ревеня лекарственного  $\pm 5,80\%$ .

Таблица 5.6 – Метрологические характеристики методики количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного

	$F$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P,f)$	$\Delta X$	$E, \%$
Сырье ревеня тангутского	10	23,67	0,785	95	2,23	$\pm 1,75$	$\pm 7,40$
Сырье ревеня лекарственного	10	25,35	0,607	95	2,23	$\pm 1,35$	$\pm 5,80$

#### 5.4. Валидационные характеристики методик количественного определения действующих веществ корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Валидация аналитической методики – это экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач. Обычно определяются показатели линейности, прецизионности (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, межлабораторной прецизионности), правильности, специфичности, а также аналитической области [69, 89].

##### 5.4.1. Валидационные характеристики методик количественного определения суммы антраценпроизводных корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Валидационные характеристики методики спектрофотометрического определения антраценпроизводных были определены по следующим показателям: линейности, прецизионности (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, межлабораторной прецизионности), правильности, специфичности, а также аналитической области [4, 69, 89]. Определение линейности проводили на 5 уровнях концентраций от теоретического содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин в исследуемых объектах (табл. 5.11; рис.5.11-5.12). Растворы готовили путем разбавления аликвоты и увеличения аликвоты для измерения количественного содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин в растворах, имеющих

концентрацию 50, 75, 100, 125 и 150%. Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99. Специфичность валидируемой методики может быть доказана также соответствующей статистической обработкой результатов анализов реальных объектов, которая представлена метрологическими характеристиками (табл. 5.10-5.11). Аналитическая область методики может быть установлена по диапазону экспериментальных данных, удовлетворяющих линейной модели (табл. 5.7, рис. 5.11-5.12) [4, 69].

Таблица 5.7 – Определение линейности методики определения антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного

№ Измерения	Аликвота, %	Аликвота, Мл	Оптическая плотность, D	Содержание антраценпроизводных в аликвоте, С, %
Корни ревеня тангутского				
1	50	2	0,2423	1,48
2	75	3	0,3470	2,12
3	100	4	0,4910	3,00
4	125	5	0,6105	3,73
5	150	6	0,7317	4,47
Корни ревеня лекарственного				
1	50	2	0,2242	1,37
2	75	3	0,3372	2,06
3	100	4	0,4583	2,80
4	125	5	0,5647	3,45
5	150	6	0,6760	4,13

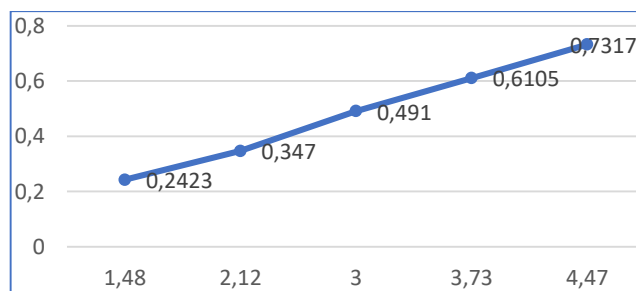


Рисунок 5.11 – График зависимости оптической плотности извлечения из корней ревеня тангутского от концентрации.

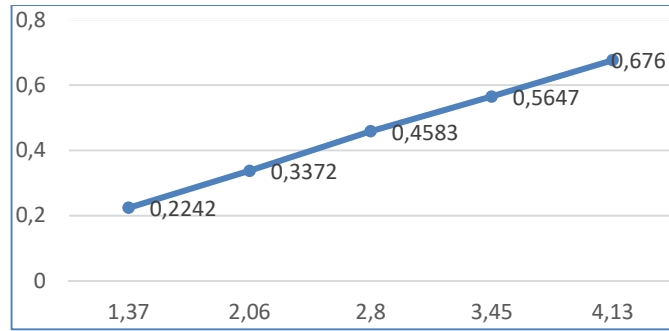


Рисунок 5.12 – График зависимости оптической плотности извлечения из корней ревеня лекарственного от концентрации.

Данные для расчета коэффициента корреляции представлены в таблицах 5.8 и 5.9.

Таблица 5.8 – Данные для расчета коэффициента корреляции

D	C	DC	D <sup>2</sup>	C <sup>2</sup>
Корни ревеня тангутского				
0,2423	1,48	0,3585	0,0587	2,1904
0,3470	2,12	0,7356	0,1204	4,4944
0,4910	3	1,4731	0,2411	9
0,6105	3,73	2,2773	0,3727	13,9129
0,7317	4,47	3,2705	0,5353	19,9809
$\Sigma D=2,4244$	$\Sigma C=14,8$	$\Sigma DC=8,12$	$\Sigma D^2=1,328$	$\Sigma C^2=49,5786$
Корни ревеня лекарственного				
0,2242	1,37	0,3072	0,0503	1,8769
0,3372	2,06	0,6946	0,1137	4,2436
0,4583	2,8	1,2833	0,2100	7,84
0,5647	3,45	1,9482	0,3189	11,9025
0,6760	4,13	2,7919	0,457	17,0569
$\Sigma D=2,2604$	$\Sigma C=13,81$	$\Sigma DC=7,025$	$\Sigma D^2=1,15$	$\Sigma C^2=42,92$

Таблица 5.9 – Расчет коэффициента корреляции

Объекты исследования	$SSx = \frac{\Sigma D^2 - (\Sigma D)^2}{/5}$	$SSy = \frac{\Sigma C^2 - (\Sigma C)^2}{/5}$	$SPxy = \frac{\Sigma DC - (\Sigma D \cdot \Sigma C)/5}{/5}$	$r = \frac{SPxy}{\sqrt{SSx \cdot SSy}}$
Корни ревеня тангутского	0,1546	5,7706	0,9445	0,999
Корни ревеня лекарственного	0,1279	4,7767	0,7819	0,997

где  $SS_x$  - сумма квадратов отклонения баллов (D) испытуемых от среднего арифметического;

$SS_y$  - сумма квадратов отклонения баллов (C) испытуемых от среднего арифметического;

$SP_{xy}$  - сумма попарных произведений;

$r$  - коэффициент корреляции.

Коэффициенты корреляции для исследуемых объектов составили более 0,99 (табл. 5.9). Следовательно, можно сказать, что методика является линейной. Для определения повторяемости методики брали один образец сырья и проводили исследование в 11 повторностях. Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 10%. Для корней ревеня тангутского эта величина составила 6,30% (таблица 5.10), для корней ревеня лекарственного – 6,50% (таблица 5.11) [69].

Таблица 5.10 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сырье ревеня тангутского

$F$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P,f)$	$\Delta X$	$E, \%$
10	2,99	0,084	95	2,23	$\pm 0,18$	$\pm 6,30$

Таблица 5.11 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в сырье ревеня лекарственного

$F$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P,f)$	$\Delta X$	$E, \%$
10	2,7	0,078	95	2,23	$\pm 0,17$	$\pm 6,50$

Для определения внутрилабораторной прецизионности методики брали 3 образца сырья и исследовали в трех повторностях двумя исследователями (табл. 5.12 – 5.13). Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 15% [69].

Таблица 5.12 – Результаты определения внутрилабораторной прецизионности разработанной методики для корней ревеня тангутского

Повторность	Содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин в корнях ревеня тангутского, %			
		Сырье 1	Сырье 2	Сырье 3
1	Аналитик 1	2,94	2,98	3,07
2		3,03	3,07	2,92
3		3,06	3,03	3,06
4	Аналитик 2	3,05	3,06	3
5		2,89	2,89	2,95
6		2,97	3,04	3,03
Среднее значение		3,00	2,99	3,01
Относительное стандартное отклонение (%)		±6,32	±6,60	±6,00

Таблица 5.13 – Результаты определения внутрилабораторной прецизионности разработанной методики для корней ревеня лекарственного

Повторность	Содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин в корнях ревеня лекарственного, %			
		Сырье 1	Сырье 2	Сырье 3
1	Аналитик 1	2,80	2,74	2,83
2		2,68	2,69	2,74
3		2,69	2,84	2,85
4	Аналитик 2	2,69	2,83	2,7
5		2,65	2,83	2,72
6		2,8	2,84	2,7
Среднее значение		2,72	2,795	2,76
Относительное стандартное отклонение (%)		±6,49	±6,41	±6,65

Проведенные нами исследования показали, что относительное стандартное отклонение не превышает 15%, что свидетельствует о том, что разработанная методика воспроизводима в указанных условиях.



Для определения межлабораторной прецизионности методики определяли количественное содержание образцов сырья на трех спектрофотометрах Specord 40 (Analytik Jena), СФ-2000, UNICO 2800 (табл. 5.14). Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 15% [69].

Таблица 5.14 – Результаты определения межлабораторной прецизионности разработанной методики для корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Анализируемое лекарственное растительное сырье	Содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин (корни ревеня тангутского и ревеня лекарственного), %			Относительное стандартное отклонение (%)
	Спектрофотометр - Specord 40 (Analytik Jena)	Спектрофотометр - СФ-2000	Спектрофотометр - UNICO 2800	
Корни ревеня тангутского	3,05	2,93	3,03	±6,43
Корни ревеня лекарственного	2,89	2,81	2,76	±6,56

При определении правильности методики устанавливали содержание антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин в извлечениях, полученных при добавлении определенного количества 0,25 мл, 0,50 мл, 0,75 мл рабочего стандартного раствора (франгула-эмодина) к полученному нами извлечению для получения различных концентраций. Критерием приемлемости методики является величина среднего процента восстановления при применении растворов определенных концентраций, скорректированная на 100%. Средняя величина критерия приемлемости определяется рамками  $100 \pm 5\%$  [69].

Таблица 5.15 – Результаты определения правильности методики  
(эксперименты с добавками франгула-эмодина) для двух видов ревеня

№	Содержание антрацен-производных мг, в пересчете на франгула-эмодин	Добавлено РСО Франгула-эмодина, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное Содержание, мг	Полученная ошибка, %	Статистические Характеристики
Корни ревеня тангутского						
1	3,00	0,125	3,125	3,123	99,936	$\bar{X}=100,01\%$ $S =2,8702$ $\Delta X =\pm 6,4006$ $E =\pm 6,40\%$
2	3,00	0,125	3,125	3,128	100,096	
3	3,00	0,125	3,125	3,127	100,064	
4	3,00	0,250	3,25	3,251	100,0308	
5	3,00	0,250	3,25	3,248	99,93846	
6	3,00	0,250	3,25	3,252	100,0615	
7	3,00	0,375	3,375	3,377	100,0593	
8	3,00	0,375	3,375	3,374	99,97037	
9	3,00	0,375	3,375	3,373	99,94074	
Средняя ошибка 100,01%						
Корни ревеня лекарственного						
1	2,80	0,125	2,925	2,923	99,93162	$\bar{X}=100,02\%$ $S =2,8616$ $\Delta X =\pm 6,3813$ $E =\pm 6,38\%$
2	2,80	0,125	2,925	2,927	100,0684	
3	2,80	0,125	2,925	2,926	100,0342	
4	2,80	0,250	3,05	3,048	99,93443	
5	2,80	0,250	3,05	3,051	100,0328	
6	2,80	0,250	3,05	3,053	100,0984	
7	2,80	0,375	3,175	3,177	100,063	
8	2,80	0,375	3,175	3,173	99,93701	
9	2,80	0,375	3,175	3,176	100,0315	
Средняя ошибка 100,02%						

Проведенные исследования показали, что процент восстановления в разработанной методике для ревеня тангутского и ревеня лекарственного варьирует от 99,94% до 100,1%, и от 99,93% до 100,1% соответственно, при этом средняя величина его составила 100,01% для ревеня тангутского и 100,02% для

лекарственного. Как видно из данных, приведенных в таблице 5.15, в разработанной методике отсутствует систематическая ошибка, относительная ошибка при доверительной вероятности 95% не превышает  $\pm 6,40\%$  для ревеня тангутского и  $\pm 6,38\%$  для ревеня лекарственного.

Результаты проведенных исследований позволили установить, что разработанные спектрофотометрические методики определения суммы антраценпроизводных в исследуемых растениях достаточно воспроизводимы, линейны в исследуемом диапазоне концентраций, непродолжительны по времени выполнения, доступны, для их выполнения не требуются дорогостоящие реактивы. С использованием разработанной методики проанализирован ряд промышленных образцов корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного и показано, что содержание суммы антраценпроизводных в образцах сырья варьирует в пределах от 2,87% до 3,15% в ревете тангутском и от 2,64% до 2,99% в ревете лекарственном (в пересчете на франгула-эмодин) (табл. 5.16) [69].

Таблица 5.16 – Содержание суммы антраценпроизводных в различных образцах корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на абсолютно сухое сырье и франгула-эмодин, %
Корни ревеня тангутского		
1	Корни ревеня тангутского ( <i>Rheum palmatum</i> L.), заготовленные в сентябре 2016 г. в Краснодарском крае.	2,87 $\pm$ 0,18
2	Корни ревеня тангутского ( <i>Rheum palmatum</i> L.), заготовленные в сентябре 2017 г. в Краснодарском крае.	2,97 $\pm$ 0,18
3	Корни ревеня тангутского ( <i>Rheum palmatum</i> L.), заготовленные в сентябре 2018 г. в Краснодарском крае.	3,15 $\pm$ 0,20

Корни ревеня лекарственного		
1	Корни ревеня лекарственного ( <i>Rheum officinale</i> В.), заготовленные в сентябре 2016 г. в Р. Крым	2,99±0,19
2	Корни ревеня лекарственного ( <i>Rheum officinale</i> В.), заготовленные в сентябре 2017 г. в Р. Крым	2,64±0,17
3	Корни ревеня лекарственного ( <i>Rheum officinale</i> В.), заготовленные в сентябре 2018 г. в Р. Крым	2,80±0,18

#### 5.4.2. Валидационные характеристики методик количественного определения суммы дубильных веществ корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Валидационные характеристики методики спектрофотометрического определения дубильных веществ были определены по следующим показателям: линейности, прецизионности (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, межлабораторной прецизионности), правильности, специфичности, а также аналитической области [4, 92]. Определение линейности проводили на 5 уровнях концентраций от теоретического содержания суммы дубильных веществ в пересчете на катехин в исследуемых объектах (табл. 5.17 рис. 5.13 - 5.14). Растворы готовили путем разбавления аликвоты и увеличения аликвоты для измерения количественного содержания суммы дубильных веществ в пересчете на катехин в растворах, имеющих концентрацию 50, 75, 100, 125 и 150%. Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99. Специфичность валидируемой методики может быть доказана также соответствующей статистической обработкой результатов анализов реальных объектов, которая представлена метрологическими характеристиками (табл. 5.20-5.21). Аналитическая область методики может быть установлена по диапазону

экспериментальных данных, удовлетворяющих линейной модели (табл. 5.17, рис. 5.13 - 5.14) [4, 92].

Таблица 5.17 – Определение линейности методики

№ Измерения	Аликвота, %	Аликвота, мл	Оптическая плотность, D	Содержание дубильных веществ в аликвоте, С, %
Корни ревеня тангутского				
1	50	0,5	0,6007	11,85
2	75	0,75	0,8987	17,73
3	100	1	1,1998	23,67
4	125	1,25	1,5008	29,61
5	150	1,5	1,7974	35,46
Корни ревеня лекарственного				
1	50	0,5	0,5941	11,72
2	75	0,75	0,8977	17,71
3	100	1	1,2849	25,35
4	125	1,25	1,4776	29,15
5	150	1,5	1,8755	37

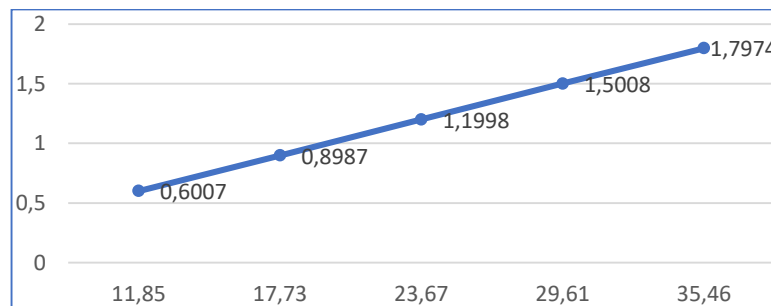


Рисунок 5.13 – График зависимости оптической плотности извлечения из корней ревеня тангутского от концентрации.

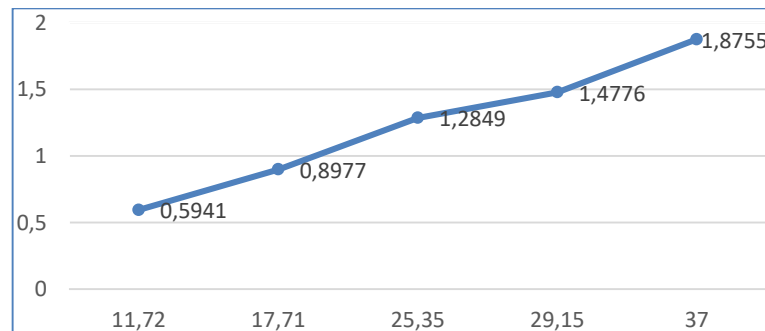


Рисунок 5.14 – График зависимости оптической плотности извлечения из корней ревеня лекарственного от концентрации.

Данные для расчета коэффициента корреляции представлены в таблицах 5.18 и 5.19.

Таблица 5.18 – Данные для расчета коэффициента корреляции

D	C	DC	D <sup>2</sup>	C <sup>2</sup>
Корни ревеня тангутского				
0,6007	11,85	7,1183	0,3608405	140,4225
0,8987	17,73	15,934	0,8076617	314,3529
1,1998	23,67	28,3993	1,43952	560,2689
1,5008	29,61	44,4387	2,2524006	876,7521
1,7974	35,46	63,7358	3,2306468	1257,412
$\Sigma D=5,9974$	$\Sigma C=118,32$	$\Sigma DC=159,626$	$\Sigma D^2=8,0911$	$\Sigma C^2=3149,208$
Корни ревеня лекарственного				
0,5941	11,72	6,96285	0,3530	137,3584
0,8977	17,71	15,8983	0,8059	313,6441
1,2849	25,35	32,5722	1,6510	642,6225
1,4776	29,15	43,072	2,1833	849,7225
1,8755	37	69,3935	3,5175	1369
$\Sigma D=6,1298$	$\Sigma C=120,93$	$\Sigma DC=167,899$	$\Sigma D^2=8,5106$	$\Sigma C^2=3312,348$

Таблица 5.19 – Расчет коэффициента корреляции

Объекты исследования	$SS_x = \frac{\Sigma D^2 - (\Sigma D)^2}{/5}$	$SS_y = \frac{\Sigma C^2 - (\Sigma C)^2}{/5}$	$SP_{xy} = \frac{\Sigma DC - (\Sigma D \cdot \Sigma C)/5}{/5}$	$r = \frac{SP_{xy}}{\sqrt{SS_x \cdot SS_y}}$
Корни ревеня тангутского	0,8973	349,2835	17,7035	1,000
Корни ревеня лекарственного	0,9957	387,5348	19,6435	1,000

где  $SS_x$  - сумма квадратов отклонения баллов (D) испытуемых от среднего арифметического;

$SS_y$  - сумма квадратов отклонения баллов (C) испытуемых от среднего арифметического;

$SP_{xy}$  - сумма попарных произведений;

r - коэффициент корреляции.

Коэффициенты корреляции для исследуемых объектов составили более (табл. 5.19). Следовательно, можно сказать, что методика является линейной. Для определения повторяемости методики брали один образец сырья и проводили

исследование в 11 повторностях. Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 10%. Для корней ревеня тангутского эта величина составила 7,40% (табл. 5.20), для корней ревеня лекарственного – 5,80% (табл. 5.21) [89].

Таблица 5.20 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы дубильных веществ в сырье ревеня тангутского

$F$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P,f)$	$\Delta X$	$E, \%$
10	23,67	0,785	95	2,23	$\pm 1,75$	$\pm 7,40$

Таблица 5.21 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы дубильных веществ в сырье ревеня лекарственного

$F$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P,f)$	$\Delta X$	$E, \%$
10	25,35	0,607	95	2,23	$\pm 1,35$	$\pm 5,80$

Для определения внутрилабораторной прецизионности методики брали 3 образца сырья и исследовали в трех повторностях двумя исследователями (табл. 5.22 - 5.23). Определяли величину относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 15% [89].

Таблица 5.22 – Результаты определения внутрилабораторной прецизионности разработанной методики для корней ревеня тангутского

Повторность	Содержание дубильных веществ в пересчете на катехин в корнях ревеня тангутского, %			
		Сырье 1	Сырье 2	Сырье 3
1	Аналитик 1	23,78	23,74	23,71
2		23,68	23,69	23,59
3		23,55	23,69	23,54
4	Аналитик 2	23,70	23,78	23,71
5		23,68	23,75	23,72
6		23,67	23,58	23,69
Среднее значение		23,68	23,71	23,66
Относительное стандартное отклонение (%)		$\pm 7,39$	$\pm 7,06$	$\pm 7,59$

Таблица 5.23 – Результаты определения внутрилабораторной прецизионности разработанной методики для корней ревеня лекарственного

Повторность	Содержание дубильных веществ в пересчете на катехин в корнях ревеня лекарственного, %			
		Сырье 1	Сырье 2	Сырье 3
1	Аналитик 1	25,29	25,3	25,31
2		25,41	25,44	25,42
3		25,38	25,33	25,28
4	Аналитик 2	25,26	25,29	25,33
5		25,30	25,32	25,30
6		25,35	25,38	25,41
Среднее значение		25,33	25,34	25,33
Относительное стандартное отклонение (%)		±5,78	±5,68	±5,91

Проведенные нами исследования показали, что относительное стандартное отклонение не превышает 15%, что свидетельствует о воспроизводимости разработанной методики в указанных условиях.

Для определения межлабораторной прецизионности методики определяли количественное содержание образцов сырья на трех спектрофотометрах Specord40 (Analytik Jena), СФ-2000, UNICO 2800 (табл. 5.24). Определяли значение величины относительного стандартного отклонения, которое не должно превышать 15% [69].

Таблица 5.24 – Результаты определения межлабораторной прецизионности разработанной методики для корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

Анализируемое лекарственное растительное сырье	Содержание дубильных веществ в пересчете на катехин (корни ревеня тангутского и ревеня лекарственного), %			Относительное стандартное отклонение (%)
	Спектрофотометр - Specord 40 (Analytik Jena)	Спектрофотометр - СФ-2000	Спектрофотометр - UNICO 2800	
Корни ревеня тангутского	23,76	23,68	23,61	±7,51
Корни ревеня лекарственного	25,41	25,37	25,29	±6,11



Таблица 5.25 – Результаты определения правильности методики (эксперименты с добавками катехина) для ревеня тангутского и ревеня лекарственного

№	Содержание дубильных веществ мг, в пересчете на катехин	Добавлено РСО катехина на мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Полученная ошибка, %	Статистические характеристики
Корни ревеня тангутского						
1	23,67	0,125	23,795	23,815	100,084	$\bar{X}=100,01\%$ $S = 3,332$ $\Delta X = \pm 7,432$ $E = \pm 7,43\%$
2	23,67	0,125	23,795	23,821	100,109	
3	23,67	0,125	23,795	23,772	99,903	
4	23,67	0,25	23,92	23,908	99,949	
5	23,67	0,25	23,92	23,941	100,087	
6	23,67	0,25	23,92	23,931	100,046	
7	23,67	0,375	24,045	24,035	99,958	
8	23,67	0,375	24,045	24,052	100,029	
9	23,67	0,375	24,045	24,033	99,950	
Средняя ошибка 100,01%						
Корни ревеня лекарственного						
1	25,35	0,125	25,475	25,487	100,047	$\bar{X}=100,02\%$ $S = 2,637$ $\Delta X = \pm 5,882$ $E = \pm 5,88\%$
2	25,35	0,125	25,475	25,469	99,976	
3	25,35	0,125	25,475	25,471	99,984	
4	25,35	0,25	25,6	25,629	100,113	
5	25,35	0,25	25,6	25,593	99,972	
6	25,35	0,25	25,6	25,615	100,058	
7	25,35	0,375	25,725	25,713	99,953	
8	25,35	0,375	25,725	25,738	100,050	
9	25,35	0,375	25,725	25,709	99,937	
Средняя ошибка 100,02%						

При определении правильности методики устанавливали содержание дубильных веществ в пересчете на катехин полученных при добавлении определенного количества 0,25 мл, 0,50 мл, 0,75 мл рабочего стандартного раствора (катехина) к полученному нами извлечению для получения различных концентраций. Критерием приемлемости методики является величина среднего процента восстановления при применении растворов определенных концентраций,

корректированная на 100%. Средняя величина критерия приемлемости определяется рамками  $100 \pm 5\%$  [69].

Проведенные исследования показали, что процент восстановления в разработанной методике для ревеня тангутского и ревеня лекарственного варьирует от 99,90% до 100,08%, и от 99,94% до 100,11% соответственно, при этом средняя величина его составила 100,01% для ревеня тангутского и 100,02% для лекарственного. Как видно из данных, приведенных в таблице 5.25, в разработанной методике отсутствует систематическая ошибка, относительная ошибка при доверительной вероятности 95% не превышает  $\pm 7,43\%$  для ревеня тангутского и  $\pm 5,88\%$  для ревеня лекарственного.

Результаты проведенных исследований позволили установить, что разработанные спектрофотометрические методики определения суммы антраценпроизводных в исследуемых растениях достаточно воспроизводимы, линейны в исследуемом диапазоне концентраций, непродолжительны по времени выполнения, доступны, для их выполнения не требуются дорогостоящие реактивы. С использованием разработанной методики проанализирован ряд промышленных образцов корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного и показано, что содержание суммы дубильных веществ в образцах сырья варьирует в пределах от 23,65 % до 23,73% в ревене тангутском и от 25,32% до 25,43% в ревене лекарственном (в пересчете на катехин) (табл. 5.26) [89].

Таблица 5.26 – Содержание суммы дубильных веществ в различных образцах корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на абсолютно сухое сырье и катехин, %
Корни ревеня тангутского		
1	Корни ревеня тангутского ( <i>Rheum palmatum</i> L.), заготовленные в сентябре 2016 г. в Краснодарском крае.	23,65 $\pm$ 0,17

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на абсолютно сухое сырье и катехин, %
2	Корни ревеня тангутского ( <i>Rheum palmatum</i> L.), заготовленные в сентябре 2017 г. в Краснодарском крае.	23,68±0,18
3	Корни ревеня тангутского ( <i>Rheum palmatum</i> L.), заготовленные в сентябре 2018 г. в Краснодарском крае.	23,73±0,18
<b>Корни ревеня лекарственного</b>		
1	Корни ревеня лекарственного ( <i>Rheum officinale</i> В.), заготовленные в сентябре 2016 г. в Р. Крым	25,43±0,15
2	Корни ревеня лекарственного ( <i>Rheum officinale</i> В.), заготовленные в сентябре 2017 г. в Р. Крым	25,32±0,15
3	Корни ревеня лекарственного ( <i>Rheum officinale</i> В.), заготовленные в сентябре 2018 г. в Р. Крым	25,37±0,15

### **5.5. Числовые показатели корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного**

В НД на ЛРС обязательным является раздел «Испытания», в котором отражены следующие числовые показатели: влажность, зола, органические, минеральные примеси и т.д. Данные числовые показатели рассчитывали по методикам ГФ РФ XIV издания [30, 31], объектами исследования служило цельное сырье ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Результаты отображены в таблицах 5.31 и 5.32.

При хранении корней ревеня тангутского и лекарственного в течение 3 лет в сухом, хорошо проветриваемом помещении с температурой 18 - 20°C изменений в количественном содержании антраценпроизводных не наблюдалось, соответственно это и позволило нам рекомендовать срок годности сырья 3 года [30, 31].

Таблица 5.27 – Результаты определения числовых показателей сырья ревеня тангутского

№	Поставщик	Дата сбора сырья	Дата Анализа	Содержание суммы антрацен-производных, %	Содержание суммы дубильных в-в, %	Влажность, %	Зола, %	Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl, %	Органической примеси, %	Минеральной примеси, %	Частиц, не проходящих с/ сито 2мм, %	Корней почерневших в изломе, %	Корневых остатками стеблей, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Ботанический сад, г.Самара	09.2016	10.2016	2,58	21,10	11,7	7,5	0,9	0,4	0,3	4,8	3,5	4,4
2	Ботанический сад, г.Самара	10.2016	11.2016	2,55	22,71	11,5	7,6	0,8	0,3	0,4	4,5	4,5	4,7
3	Ботанический сад, г.Самара	09.2017	09.2017	2,72	23,75	11,5	7,7	0,7	0,45	0,35	4,0	3,8	4,5
4	Ботанический сад, г.Самара	10.2017	10.2017	3,34	23,89	10	7,4	0,9	0,35	0,45	4,2	4,7	4,8
5	Ботанический сад, г.Самара	09.2018	09.2018	3,51	24,60	11,8	7,8	0,8	0,4	0,34	3,9	4,2	4,0

Таблица 5.28 – Результаты определения числовых показателей сырья ревеня лекарственного

№	Поставщик	Дата сбора сырья	Дата Анализа	Содержание суммы антрацен-производных, %	Содержание суммы дубильных в-в, %	Влажность, %	Зола, %	Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl, %	Органической примеси, %	Минеральной примеси, %	Частиц, не проходящих с/ сито 2мм, %	Корней почерневших в изломе, %	Корневищ с остатками стеблей, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Республика Крым	09.2016	10.2016	2,53	22,31	11,7	7,8	0,98	0,47	0,48	4,0	4,9	4,5
2	Республика Крым	10.2016	11.2016	2,68	24,44	11,5	7,4	0,9	0,46	0,44	3,9	4,5	4,4
3	Республика Крым	09.2017	09.2017	2,31	25,52	11,0	7,2	0,8	0,44	0,4	4,5	4,3	4,0
4	Республика Крым	10.2017	10.2017	2,65	27,38	11,2	7,7	0,75	0,4	0,39	4,8	4,5	4,4
5	Республика Крым	09.2018	09.2018	2,67	28,10	11,8	7,4	0,7	0,46	0,37	4,9	4,8	4,7

Обобщая вышеизложенные исследования, для корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного были рассчитаны числовые показатели цельного сырья. В результате проведенных исследований мы можем рекомендовать нижний предел содержания антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского 2,5%, в корнях ревеня лекарственного – 2,3%, дубильных веществ – 21,0 и 22,0%, влажность не более 12%, зола не более 8%, зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте, не более 1%, органические примеси не более 0,5%, минеральные примеси не более 0,5%, корней, почерневших в изломе, не более 5%, корневищ с остатками стеблей не более 5%. Измельченность сырья. Цельное сырье: частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, не более 5%. Полученные данные легли в основу проекта фармакопейных статей «Ревеня дланевидного корни» и «Ревеня лекарственного корни».

## ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Разработана методика качественного анализа корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного методом тонкослойной хроматографии, с использованием стандартных образцов франгула-эмолина, катехина, неподина, хризофанеина, пальматина. В качестве оптимальной системы растворителей, подобрана смесь – этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10).

2. Определены характеристики кривой поглощения водно-спиртового извлечения из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, на электронных спектрах обнаружены два максимума поглощения: при длине волны около  $282 \pm 2$  нм и  $510 \pm 2$  нм.

3. В результате исследования компонентного состава водно-спиртовых извлечений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного методом ИК-спектроскопии установлено, что франгула-эмодин имеет важное диагностическое значение.

4. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Содержание суммы антраценпроизводных в образцах сырья варьирует в пределах от 2,50% до 3,50% в ревете тангутском и от 2,30% до 2,80% в ревете лекарственном (в пересчете на франгула-эмодин). Следовательно, в качестве нижнего предела содержания антраценпроизводных следует рекомендовать значение 2,5% для ревеня тангутского и 2,3% для ревеня лекарственного. Для подтверждения правильности модифицированных методик был проведен расчет валидационных характеристик. Результаты проведенных исследований позволили установить, что разработанные спектрофотометрические методики определения суммы антраценпроизводных в исследуемых растениях воспроизводимы, линейны в исследуемом диапазоне концентраций, непродолжительны по времени выполнения, доступны, для их выполнения не требуется дорогостоящих реактивов.

5. Разработана методика количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Содержание суммы дубильных веществ в образцах сырья варьирует в пределах от 21,1 % до 24,6% в ревете тангутском и от 22,3% до 28,1% в ревете лекарственном (в пересчете на катехин). В качестве нижнего предела содержания дубильных веществ следует рекомендовать значение 21% для ревеня тангутского и 22% для ревеня лекарственного. Для подтверждения правильности разработанных методик был проведен расчет валидационных характеристик. Результаты проведенных исследований позволили установить, что разработанные спектрофотометрические методики определения дубильных веществ в исследуемых растениях воспроизводимы, линейны в исследуемом диапазоне концентраций, непродолжительны по времени выполнения, доступны, для их выполнения не требуется дорогостоящих реактивов.

6. Рассчитаны следующие числовые показатели для корней ревеня тангутского, ревеня лекарственного: количественное содержание, влажность, зола, зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте, органические и минеральные примеси.

7. Предложенные методики качественного и количественного анализа и числовые показатели для корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного включены в проект фармакопейной статьи «Ревеня лекарственного корни», а также дополнения к ФС 2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение»).



## **ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ПОДБОР МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ КОРНЕЙ РЕВЕНЯ ТАНГУТСКОГО**

В Российской Федерации в качестве фармакопейного лекарственного растительного сырья зарегистрированы корни ревеня тангутского (дланевидного) как источник слабительных средств благодаря высокому содержанию антраценпроизводных. Ранее в Государственном реестре лекарственных средств были зарегистрированы немногочисленные препараты на основе ревеня тангутского («Измельченный порошок корней ревеня», «Спиртовая настойка корней ревеня», «Ревеня сироп», «Ревеня таблетки») [72, 74], но на сегодняшний день зарегистрированных препаратов нет, соответственно разработка новых лекарственных препаратов на основе ревеня является актуальной. За рубежом корни ревеня тангутского и препараты на его основе активно применяются в официальной медицине. В США существует большое количество комбинированных препаратов, обладающих мягчительным действием, таких фирм, как «Mason natural», «Nature's life», «Now foods», среди которых есть препараты, разрешенные к применению даже у детей [73, 118].

### **6.1. Разработка способа получения и стандартизации лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»**

Антраценпроизводные, содержащиеся в корнях ревеня тангутского и обладающие слабительным эффектом, действуют только в просвете тонкого кишечника, а кислая среда желудка способствует переходу активных кетоформ антрахинонов в гидроксильные формы, что снижает их фармакологическое действие [98, 102, 124, 125], поэтому актуальна разработка

лекарственной формы на основе корней ревеня тангутского в виде кишечнорастворимой лекарственной формы [73].

### **6.1.1. Подбор методики изготовления экстракта корней ревеня тангутского**

Изготовление лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» в лабораторных условиях начинали с получения экстракта. Получение экстракта из корней ревеня осуществляли разными способами: перколяцией (от лат. *percolatio* – процеживание), т. е. процеживанием экстрагента через растительный материал, реперколяцией, заключающейся в многократной и повторной перколяции сырья для повышения выхода конечного продукта, методом мацерации и дробной мацерации с ультразвуком [10, 94, 118]. Полученные водно-спиртовые извлечения упаривали до густых экстрактов с содержанием влаги не более 25%.

В результате проведения исследований наиболее эффективным способом получения экстракта корней ревеня тангутского оказался метод дробной мацерации с ультразвуком. Данный способ заключается в последовательном настаивании сырья в соотношении «сырье – экстрагент» (1:6) 70% этиловым спиртом, разделенным на 3 части. Настаивание с первой порцией экстрагента составило сутки, со второй и третьей по 12 ч. Данный подход обеспечил максимальное истощение сырья. Общее время мацерации двое суток. Дальнейшую экстракцию проводили в течение получаса на водяной бане, при температуре 90 °С и 15 мин под воздействием ультразвука, при температуре 40°С, мощности ультразвука 60 Вт и частоте 40 кГц, далее извлечение фильтровали [26, 94].

При использовании вышеуказанного метода выход антраценпроизводных из сырья максимальный. Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин в густом экстракте

корней ревеня тангутского, полученного разработанным методом, составило  $8,33 \pm 0,04\%$ . Количественное содержание антраценпроизводных в густых экстрактах представлено в таблице 6.1 [32, 97].

Таблица 6.1 – Результаты количественного содержания суммы антраценпроизводных в густых экстрактах корней ревеня тангутского на спирте этиловом 60% (1:6) в зависимости от способа получения

№	Метод	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин, %
1.	Мацерация	$6,85 \pm 0,02$
2.	Дробная мацерация с ультразвуком	$8,33 \pm 0,04$
3.	Перколяция	$7,81 \pm 0,03$
4.	Реперколяция	$8,07 \pm 0,03$

#### 6.1.2. Количественное определение суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского

Нами была модифицирована методика количественного определения антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского спектрофотометрическим методом в пересчете на франгула-эмодин для количественного анализа густого экстракта, поскольку данное вещество является доминирующим антраценпроизводным [31].

В ходе количественного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского изучены спектры щ-а раствора водно-спиртового раствора густого экстракта. Регистрацию спектров проводили спектрофотометрами Unico 2800, Specord 40 (Analytik Jena), СФ-2000 [71].

На электронном спектре щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового раствора густого экстракта корней ревеня тангутского

наблюдается плечо от 480 до 520 нм, свидетельствующее о вкладе антраценпроизводных в кривую поглощения спектра (рис. 6.1). Поскольку в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного доминирующим антраценпроизводным является франгула-эмодин, то он выступает в качестве стандартного образца, а в качестве аналитической длины волны принимается значение 510 нм. В расчетной формуле используется  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  франгула-эмодина – 465 [70, 113].

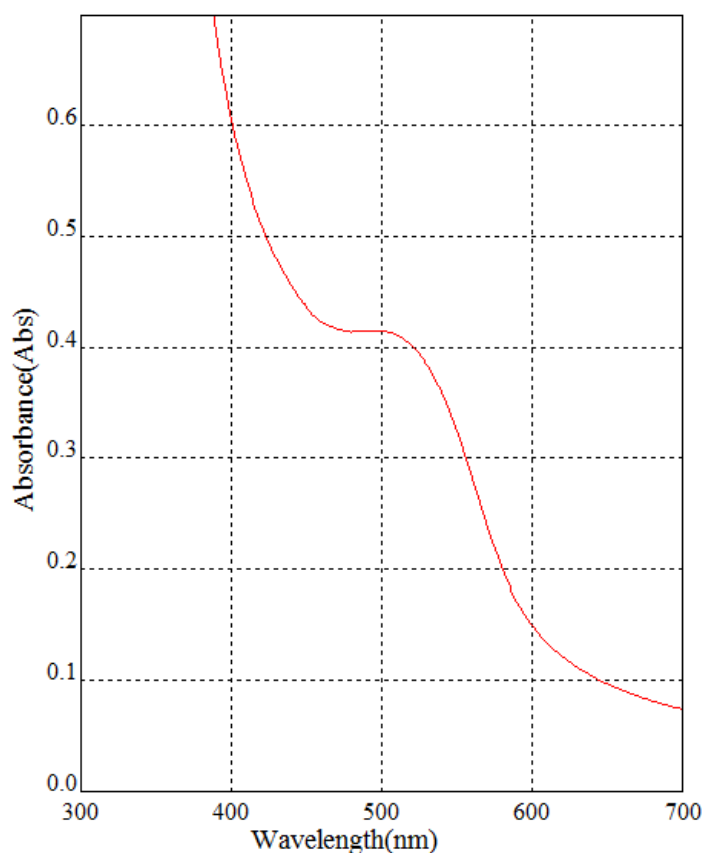


Рисунок 6.1 – Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового раствора густого экстракта корней ревеня тангутского.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского представлены в таблице 6.2. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского составляет  $\pm 6,30\%$ .

Таблица 6.2 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского

$F$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P,f)$	$\Delta X$	$E, \%$
10	8,33	0,236	95	2,23	$\pm 0,52$	$\pm 6,30$

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского. Навеску густого экстракта (0,2 г) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 15 мл 70% спирта. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры фильтруют через бумажный фильтр (марки «красная лента») в мерную колбу вместимостью 50 мл. Дублируют с той же колбой и фильтром. Доводят объем раствора до метки 70% спиртом и перемешивают (раствор А).

1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором, приготовленным в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания, и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при аналитической длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора спиртом 70% до метки [89].

Содержание суммы антраценпроизводных в густом экстракте корней ревеня тангутского (X) в пересчете на франгула-эмодин в процентах вычисляют по формуле (9) [89]:

$$X = \frac{E \times 50 \times 50}{m \times 465 \times 1}, (9) \text{ где:}$$

$E$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$m$  – масса сырья, г;

465 - удельный показатель поглощения франгула-эмодина.

### **6.1.3. Разработка состава лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»**

Лекарственный препарат «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» изготавливался с использованием густого экстракта корней ревеня тангутского. Данный густой экстракт был получен разработанным нами методом дробной мацерации с ультразвуков и содержит не более 25% влаги. Для расчета вспомогательных веществ (талька и картофельного крахмала), густой экстракт взвешивали. При помешивании до однородности в теплый густой экстракт корней ревеня тангутского вмешивался тальк (3%), смесь охлаждалась и затем в нее вводился крахмал в соотношении 1:0,8 [40, 57]. Массу оставляли на сутки до высыхания, после с помощью ступки и пестика измельчали её до порошкообразного состояния. Полученным порошком заполняли кишечнорастворимую капсулу [79]. Масса нетто наполненной капсулы составила 0,5 г. Ниже представлен состав лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»:

густой экстракт ревеня тангутского	0,27 г
Тальк	0,01 г
крахмал картофельный	0,22 г

### **6.1.4. Количественное определение суммы антраценпроизводных в лекарственном препарате «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»**

При сравнительном анализе спектров щ-а растворов водно-спиртового извлечения из разработанного нами препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах», наблюдается плечо в области 480-530 нм, что характерно как для щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения из сырья ревеня тангутского, так и для щелочно-аммиачного раствора франгула-эмодина (рис.

6.2, 5.5, 5.7). Соответственно франгула-эмодин может быть использован в качестве СО при аналитической длине волны 510 нм (рис. 5.7).

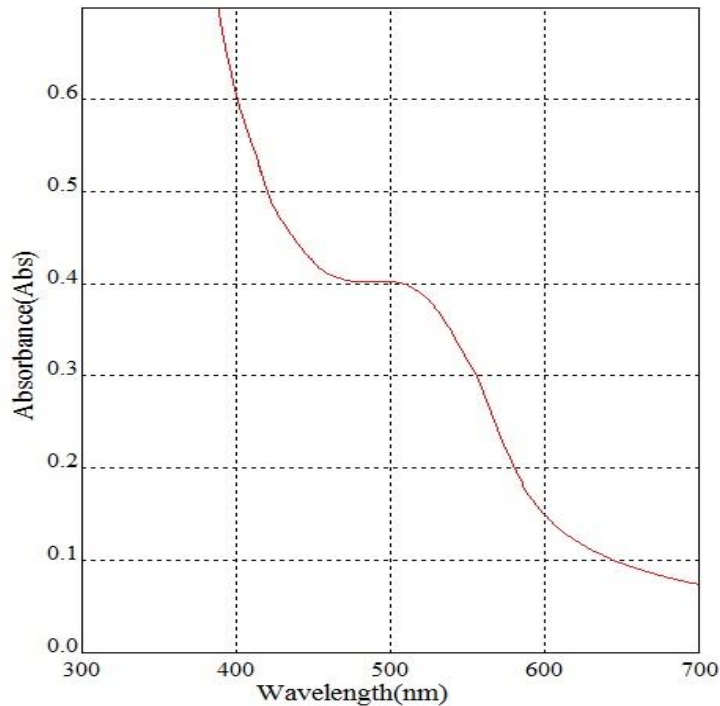


Рисунок 6.2 – Электронный спектр щелочно-аммиачного раствора водно-спиртового извлечения лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах».

В результате проведенных исследований установлено, что в 1 капсуле разработанного нами препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» содержится 22,5 мг антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин. Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы антраценпроизводных в препарате «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» представлены в таблице 6.3. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в препарате «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» составляет  $\pm 7,30\%$ .

Таблица 6.3 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы антраценпроизводных в препарате «Ревеня тангутского экстракт в капсулах»

$F$	$\bar{X}$	$S$	$P, \%$	$t(P,f)$	$\Delta X$	$E, \%$
10	22,5	0,739	95	2,23	$\pm 1,64$	$\pm 7,30$

Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в препарате «Ревеня тангутского экстракт в капсулах». Взвешенное содержимое одной капсулы помещают в колбу со шлифом объемом 250 мл, добавляют 15 мл 70% этанола. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 минут. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (марки «красная лента») в мерную колбу вместимостью 50 мл. Дублируют с тем же фильтром. Доводят раствор до метки 70%  $C_2H_5OH$  (раствор А). 1 мл раствора А переносят в мерную колбу на 50 мл и доводят объем до метки щелочно-аммиачным раствором и выдерживают на водяной бане 15 минут. После охлаждения измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора спиртом 70% до метки. Содержание суммы антраценпроизводных в одной капсуле в пересчете на франгула-эмодин рассчитывают по формуле (9) [89]:

$$X = \frac{E \times 50 \times 50 \times P_c \times 1000}{E_0 \times 1 \times a \times 100} \quad (9), \text{ где}$$

$E$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$E_0$  – удельный показатель поглощения СО франгула-эмодина при длине волны 510 нм, равный 465;

50 – объем испытуемого раствора, мл;

50 – объем раствора А, мл;

1 – объем аликвоты р-ра А, мл;

$a$  – масса 1 таблетки или содержимого 1 капсулы, г;

$P_c$  – средняя масса содержимого 1 капсулы, г.



## **6.2. Испытания лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» по показателям качества**

Лекарственный препарат «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» является твердой лекарственной формой. В соответствии с ГФ РФ XIV издания капсулы кишечнорастворимые – капсулы, наполненные гранулами, микрокапсулами или другими частицами и покрытые устойчивой к действию желудочного сока оболочкой. Содержимое кишечнорастворимых капсул высвобождается в верхнем отделе кишечника [86].

Для данной лекарственной формы ГФ РФ XIV издания в ОФС.1.4.1.0005.15 «Капсулы» регламентирует испытание по показателю качества «Распадаемость» и «Растворение». Причем при проведении испытаний на растворение капсул испытание на распадаемость могут не проводиться. В результате проведенных испытаний согласно с ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» и ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул» разработанный нами лекарственный препарат «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» соответствует данным стандартам [30, 31].

### **Испытания капсул по показателю «Распадаемость»**

Испытание «Распадаемость» кишечнорастворимых капсул проводят в 0,1 М HCl в течение 2 ч, не используя диски. Кишечнорастворимые капсулы должны оставаться неповрежденными в 0,1 М HCl в течение времени, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации, но не менее 1 ч. Повреждением капсулы считается любое нарушение целостности стенки капсулы, позволяющее содержимому капсулы выйти в окружающую среду. Затем капсулы помещают в фосфатный буферный раствор со значением pH 6,8, если не указано иначе в фармакопейной статье или нормативной документации, и подвергают воздействию в течение 1 ч, используя диски [30, 31].

Методика. Для проведения испытания отбирают 18 образцов таблеток (или капсул), если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации. В каждую из 6 трубок помещают по одному образцу и, если предписано, диск. Опускают корзинку в сосуд с жидкостью, указанной в фармакопейной статье или нормативной документации, и включают прибор. По истечении установленного времени корзинку вынимают и исследуют состояние таблеток и капсул. Все образцы должны полностью распасться. Если 1 или 2 образца не распались, повторяют испытание на оставшихся 12 образцах. Не менее 16 из 18 образцов должны полностью распасться [30, 31].

**Интерпретация результатов.** Образец считается полностью распавшимся, когда кроме фрагментов нерастворимой оболочки таблетки (капсулы), находящихся на сетке или прилипших к нижней поверхности диска, если использовались диски, нет никакого остатка или остаток представляет собой мягкую массу, которая разрушается при легком прикосновении стеклянной палочки. Наличие такого остатка должно быть оговорено в фармакопейной статье или нормативной документации [30, 31].

## ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. В результате проведенных исследований подобран способ получения густого экстракта ревеня тангутского с целью разработки новых лекарственных форм, заключающийся в использовании метода дробной мацерации с ультразвуком.

2. Разработана методика количественного анализа густого экстракта ревеня тангутского. С применением разработанной методики были проанализированы густые экстракт ревеня тангутского, полученные различными методами. Метод дробной мацерации с ультразвуком позволил получить густой экстракт ревеня тангутского с содержанием антраценпроизводных  $8,33 \pm 0,04\%$  в пересчете на франгула-эмодин.

2. Разработан состав лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах».

3. Разработана методика количественного анализа лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» с использованием спектрофотометрии. С применением разработанной методики проанализирован ряд образцов, где содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин в одной капсуле лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» составляет 22,5 мг.

4. Проведены испытания по показателям качества лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» в соответствии с нормативной документацией.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного, что позволило сделать следующие **общие выводы**:

1. В результате сравнительного морфолого-анатомического исследования сырья близкородственных видов семейства Гречишные (*Polygonaceae*) – корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) выявлены общие структуры: крупные друзы оксалата кальция звездчатой формы, воронковидно-расширенные сердцевинные лучи, фрагменты темно-коричневой пробки, сетчатые сосуды.

2. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и корней ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) позволило выявить, что их главными отличительными признаками являются: слой склерид под пробковым слоем и особенности их люминесценции у корней ревеня лекарственного; крахмальные зерна овальной, каплевидной или почти округлой формы без центров кристаллизации и растрескивания у ревеня лекарственного; наличие кристаллических включений в лубяной паренхиме корней ревеня тангутского, люминесцирующих в УФ-свете с  $\lambda=360$  нм ярко-голубой флуоресценцией.

3. Анализ фитохимического состава извлечений из корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного методами тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии позволил определить, что состав корней данных видов рода ревень не идентичен. Из корней ревеня тангутского выделены и идентифицированы с использованием спектрофотометрии,  $^1\text{H}$ -ЯМР-,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии, а также результатов химических превращений 5 индивидуальных соединений: франгула-эмодин, 1-О-глюкозид хризофанина, 8-О-глюкозид хризофанина, катехин, неподин. Из корней ревеня лекарственного впервые выделены и идентифицированы катехин, неподин, а также доминирующий антрахинон – франгула-эмодин.

4. Разработаны методики качественного анализа корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного методом тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии с использованием стандартных образцов франгула-эмодин, катехина, неподина, хризофанеина, пальматина.

5. Разработаны методики количественного определения суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Содержание суммы антраценпроизводных в образцах сырья варьирует в пределах от 2,50% до 3,50% в ревете тангутском и от 2,30% до 2,80% в ревете лекарственном (в пересчете на франгула-эмодин). Следовательно, в качестве нижнего предела содержания антраценпроизводных следует рекомендовать значение 2,5% для ревеня тангутского и 2,3% для ревеня лекарственного. Для подтверждения правильности разработанных методик был проведен расчет валидационных характеристик. Результаты проведенных исследований позволили установить, что разработанные спектрофотометрические методики определения суммы антраценпроизводных в исследуемых растениях воспроизводимы, линейны в исследуемом диапазоне концентраций, непродолжительны по времени выполнения, доступны, для их выполнения не требуется дорогостоящих реактивов.

6. Разработана методика количественного определения дубильных веществ в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Содержание суммы дубильных веществ в образцах сырья варьирует в пределах от 21,2 % до 24,6% в ревете тангутском и от 22,3% до 28,1% в ревете лекарственном (в пересчете на катехин). В качестве нижнего предела содержания дубильных веществ следует рекомендовать значение 21% для ревеня тангутского и 22% для ревеня лекарственного. Для подтверждения правильности разработанных методик был проведен расчет валидационных характеристик. Результаты проведенных исследований позволили установить, что разработанные спектрофотометрические методики определения дубильных веществ в изучаемых растениях воспроизводимы, линейны в исследуемом диапазоне

концентраций, непродолжительны по времени выполнения, доступны, для их выполнения не требуется дорогостоящих реактивов.

7. Рассчитаны следующие числовые показатели для корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного: количественное содержание, влажность, зола, зола не растворимая в хлористоводородной кислоте, органические и минеральные примеси.

8. Подобран способ получения густого экстракта корней ревеня тангутского, заключающийся в использовании метода дробной мацерации с ультразвуком, который впоследствии использовался для разработки состава лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах». Для лекарственного препарата «Ревеня тангутского экстракт в капсулах» разработаны методики стандартизации, а также проведены испытания по показателю качества «Распадаемость».

9. На основе результатов фармакогностического исследования разработаны проекты ФС сырья «Ревеня лекарственного корни» и дополнения к ФС 2.5.0092.18 «Ревеня дланевидного корни» (раздел «Подлинность» и «Количественное определение»).

**Практические рекомендации.** Результаты диссертационной работы позволяют усовершенствовать подходы к стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные и фенольные соединения, и могут быть использованы в учебном процессе по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия», а также в организациях и предприятиях, специализирующихся в области разработки, стандартизации, сертификации и контроля качества лекарственных средств.

**Перспективы дальнейшей разработки темы.** Проведение диссертационного исследования имеет научно-практическое значение для фармакогнозии и фармацевтической химии с целью дальнейшего изучения химического состава растений, содержащих антраценпроизводные и

фенольные соединения, а также разработки методик анализа и стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- БАВ – биологически-активные вещества
- БАС – биологически активные соединения
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
- ГФ – Государственная Фармакопея
- НД – нормативная документация
- ЛРП – лекарственный растительный препарат
- ЛРС – лекарственное растительное сырье
- ОФС – общая фармакопейная статья
- РСО – рабочий стандартный образец
- РФ – Российская Федерация
- СО – стандартный образец
- ТСХ – тонкослойная хроматография
- УФ – спектр – ультрафиолетовый спектр
- ИК – спектр- инфракрасный спектр
- ФС – фармакопейная статья
- Щ-а – щелочно-аммиачный
- ЯМР – ядерный магнитный резонанс



**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Акопов, И.Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение [Текст] / И.Э. Акопов. – Ташкент: Медицина, 1990. – 444 с.
2. Андреева, И.И. Ботаника [Текст] / И.И. Андреева, Л.С. Родман. – 2-ое изд. перераб. и доп. – М.: КолосС, 2002. – 488 с.
3. Дикорастущие лекарственные растения Смоленской области [Текст] / С.З. Андреев, В.А. Баринов; Гл. аптечное упр. М-ва здравоохранения РСФСР. Смол. обл. аптечное упр. – [Б. м.]: Моск. рабочий, 1974. – 82 с.
4. Арзамасцев, А. П. Валидация аналитических методов [Текст] / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, Ю. Я. Харитонов // Фармация. – 2006. – № 4. – С. 8–12.
5. Арзамасцев, А.П. Основные аспекты совершенствования фармакопейного анализа [Текст] / А.П. Арзамасцев, В.Л. Багирова, Н.П. Садчикова // Хим.- фарм. журн. – 2000. – Т.34, № 5. – С.47-48.
6. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР [Текст] / отв. ред.: Л.Н. Зайко, А.И. Шретер. – М.: ГУГК, 1980. – 340 с.
7. Атлас лекарственных растений России [Текст] / под ред. В. А. Быкова. – М.: ВИЛАР, 2006. – 345 с.
8. Атлас и определитель плодов и семян, встречающихся в четвертичных отложениях СССР [Текст] / Н. Я. Кац, С. В. Кац, М. Г. Кипиани; Акад. наук СССР. Комис. по изучению четвертичного периода. – Москва: Наука, 1965. – 366 с.
9. Атлас по анатомии растений: Учеб. Пособие для вузов [Текст] / Г.А. Бавтуто, В.М. Еремин, М.П. Жигар. – Мн.: Ураджай, 2001. – 146 с.
10. Багирова, В. Л. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация [Текст] / В. Л. Багирова, В. А. Северцева. – СПб.: СпецЛит, 2001. – 223 с.
11. Барнаулов, О.Д. Лечебные свойства слабительных растений [Текст] / О. Д. Барнаулов. – Санкт-Петербург: Эко-Вектор, 2017. – 422 с.

12. Беленький, Б.Г. Тонкослойная хроматография. В кн.: Успехи хроматографии. К 100-летию со дня рождения М.С. Цвета [Текст] / Б.Г. Беленький. – М., 1972. – 296 с.
13. Березовская, Т.П. Методы микроскопического анализа ботанических объектов [Текст] / Т.П. Березовская, Н.В. Дошинская, Е.А. Серых. – Томск. – 1978. – 113 с.
14. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений [Текст] / под ред. Г.П. Яковлева. – 3-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2015. – 759 с.
15. Ботанико - фармакогностический словарь: справочное пособие [Текст] / Под. ред. К.Ф. Блиновой, Г.П. Яковлева. – М.: Высшая школа, 1990. – 336 с.
16. Брук, М.М. Получение лекарственных препаратов из растительного и животного сырья под действием ультразвука [Текст] / М.М. Брук. – Ростов-на-Дону, 1972. – 256 с.
17. Буданцев, А.Л. Дикорастущие полезные растения России [Текст] / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: СПХФА, 2001. – 663 с.
18. Быков, В.А. Фармацевтическая технология: руководство к лабораторным занятиям: учеб. пособие [Текст] / В.А. Быков, Н.Б. Демина, С.А. Скатков, М.Н. Анурова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 304 с.
19. Быков, В.А. Эффективность разработки лекарственных средств из растительного сырья [Текст] / В.А. Быков // Химия, технология, медицина: тр. Всерос. науч.-исслед. ин-та лекарственных и ароматических растений. – Москва. – 2000. – С. 177-185.
20. Вайс, Р.Ф. Фитотерапия [Текст] / Р.Ф. Вайс, Ф. Финтельманн / Руководство: Пер. с нем. – М.: Медицина, 2004. – 552 с.
21. Васильев, В.П. Аналитическая химия. Книга 2: Физико-химические метода анализа: учеб. для студ. вузов, обучающихся по химико-технол. спец.- 5-е изд., стереотип [Текст] / В.П. Васильев. – М.: Дрофа, 2005. – 383 с.
22. Вопросы диагностики и лечения запоров [Текст]: Методические рекомендации Минздрава РСФСР. – Москва, 1976. – 16 с.

23. Гаммерман, А.Ф. Дикорастущие лекарственные растения СССР [Текст] / А.Ф. Гаммерман, И.И. Гром. – М.: Медицина, 1976. – 286 с.
24. Гаммерман, А.Ф. Лекарственные растения (Растения-целители) [Текст]: справочное пособие / А.Ф. Гаммерман, Г.Н. Кадаев, А.А. Яценко-Хмелевский. – 4-е изд. перераб. и доп. – Москва: Высшая школа, 1990. – 544 с.
25. Георгиевский, В.П. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения [Текст] / В.П. Георгиевский, Н.А. Казаринов, М.О. Каррыев. – Ашхабад: Ылым, 1976. – 239 с.
26. Герсамия, В. Новые лекарственные средства из растительного сырья ГССР и их терапевтическое значение [Текст] / В. Герсамия. – Тбилиси, 1957. – 152 с.
27. Голыщенко, П.П. Лекарственные растения и их использование [Текст] / П.П. Голыщенко. – Саранск: Мордовское книжное издательство, 1982. – 312 с.
28. Государственная фармакопея Республики Беларусь [Электронный ресурс]: офиц. текст Т.2. – Министерство здравоохранения Республики Беларусь: Минск, 2007. – 471 с. – Режим доступа: [www.booksshare.net](http://www.booksshare.net). – (Дата обращения 21.06.2019)
29. Государственная фармакопея Республики Беларусь [Электронный ресурс]: офиц. текст Т.2. – 2-е изд., перераб. и доп.. – Министерство здравоохранения Республики Беларусь: Типография «Победа», 2016. – 1368 с. – Режим доступа: [www.booksshare.net](http://www.booksshare.net). – (Дата обращения 21.06.2019).
30. Государственная фармакопея Российской Федерации [Электронный ресурс]: офиц. текст Т.1. – 14-е изд., перераб. и доп..— М.: ФЭМБ, 2018. — 1814 с. – Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. – (Дата обращения 21.06.2019).
31. Государственная фармакопея Российской Федерации [Электронный ресурс]: офиц. текст Т.2. – 14-е изд., перераб. и доп..— М.: ФЭМБ, 2018. — 3262 с. – Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. – (Дата обращения 21.06.2019).

32. Государственная фармакопея Российской Федерации [Электронный ресурс]: офиц. текст Т.3. – 14-е изд., перераб. и доп.— М.: ФЭМБ, 2018. — 5187 с. – Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. – (Дата обращения 21.06.2019).
33. Государственная фармакопея Российской Федерации [Электронный ресурс]: офиц. текст Т.4. – 14-е изд., перераб. и доп. — М.: ФЭМБ, 2018. — 7019 с. – Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. – (Дата обращения 21.06.2019).
34. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа [Текст]: офиц. текст Т.1. – 11-е изд., перераб. и доп.— М.: Медицина, 1987. – 336 с.
35. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье [Текст]: офиц. текст Т.2. – 11-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
36. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]: офиц. текст. – М.: ООО «Информационно-издательское агентство «Ремедиум», 2008. – 1398 с. – Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>. – (Дата обращения 21.06.2019).
37. Гринкевич, Н.И. Фармакогнозия. Атлас [Текст] / Н.И. Гринкевич, Е.Я. Ладыгина. – М.: Медицина, 1989. – 512 с.
38. Долгова, А.А. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии [Текст] / А.А. Долгова, Е.Я. Ладыгина. – М.: Медицина, 1977. – 275 с.
39. Жидкостная колоночная хроматография [Текст] / Под ред. З. Дейла, К. Мацека, Я. Янака (пер. с англ.). – М.: Мир, 1978. – 428 с.
40. Инновационные технологии и оборудование фармацевтического производства [Текст] в 2-х т. Т.2 / Н.В. Меньшутина [и др.]. – М.: БИНОМ, 2013. – 480 с.
41. Киселева, Т.Л. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества [Текст] / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова. – М.: Издательство Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009. – 295 с.

42. Киселева, Т.Л. Лечебные свойства пищевых растений [Текст] / Т.Л. Киселева, А.А. Карпеев, Ю.А. Смирнова и др. – М.: Изд-во ФНКЭЦ NVLK Росздрава, 2007. – 533 с.
43. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография [Текст] в 2-х т. Т. 2 / Пер. с англ. Под ред. д.х.н., проф. В.Г. Березкина. – М.: Мир, 1981. – 1139 с.
44. Культурна флора СССР [Текст] в 20-ти т. Т. 12 / Под общ. ред. В.Ф. Дорофеева. – Л.: Агропромиздат, 1935. – 304 с.
45. Куркин, В.А. Актуальные аспекты создания импортозамещающих лекарственных растительных препаратов [Текст] / В.А. Куркин, И.К. Петрухина // Фундаментальные исследования. – 2014. – №11. – С. 366-371.
46. Куркин, В.А. Иллюстрированный словарь терминов и понятий в фармакогнозии [Текст]: 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.
47. Куркин, В.А. Основы фитотерапии [Текст]: учебное пособие / В.А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. – 963 с.
48. Куркин, В.А. Фармакогнозия [Текст]: учебник для фармацевтических вузов (факультетов) / В.А. Куркин. – 3-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2016. – 1279 с.
49. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия [Текст]: учебное пособие / Под ред. Г.П. Яковлева. СПб.: СпецЛит, 2006. – 845 с.
50. Лекарственные растения [Текст]: справочное пособие / Н.И. Гринкевич [и др.]. – М.: Высшая школа, 1992. – 398 с.
51. Лекарственные растения [Текст]: Справ. / Под ред. Чикова П.С. – Москва: Агропромиздат, 1989. – 431 с.
52. Лечение растениями: основы фитотерапии [Текст]: учеб. пособие / В.М. Баева. – М.: ООО «Издательство Астрель», 2004. – 202 с.

53. Лоскутникова, К. С. Тангутский ревень [Текст] / К. А. Лоскутникова; Всес. науч.-иссл. ин-т лекарств. растений "ВИЛАР". – Москва: Сельхозгиз, 1946. – 30 с.
54. Маевский, П.Ф. Флора средней полосы европейской части России [Текст] / П.Ф. Маевский. – 11-е издание. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 635 с.
55. Маркова, А.В. Тайны народной медицины. Полная энциклопедия [Текст] / сост. А.В. Маркова. – М., 2003. – 637 с.
56. Махлаюк, В.П. Лекарственные растения в народной медицине [Текст] / В.П. Махлаюк. – Саратов: Приволж. кн. изд-во, 1991. – 544 с.
57. Минина, С.А. Химия и технология фитопрепаратов [Текст]: учебное пособие / С.А. Минина, И.Е. Каухова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАРМедиа, 2009. – 560 с.
58. Молчанов, Г.И. Ультразвук в фармации [Текст] / Г.И. Молчанов. – Москва: Медицина, 1980. – 176 с.
59. Мордкович, М.С. Овощной ревень [Текст] / М. С. Мордкович, М. Н. Немчинова, С. И. Хлопина. – Москва: Сельхозгиз, 1956. – 30 с.
60. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия [Текст]: учебник. – 4-е изд., перераб. и доп. / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.
61. Носаль, М.А. Лекарственные растения и способы их применения в народе [Текст] / М.А. Носаль, И.М. Носаль. – Мн.: Полымя, 1993. – 272 с.
62. Носов, А.М. Лекарственные растения [Текст] / А.М. Носов. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 348 с.
63. Нуралиев, В. Лекарственные растения [Текст] / В. Нуралиев. – Душанбе: «Маориф», 1988. – 287 с.
64. Пастушенков, Л.В. Лекарственные растения: Использование в народной медицине и быту [Текст] / Л.В. Пастушенков, А.Л. Пастушенков, В.Л. Пастушенков. – Л.: Лениздат, 1990. – 384 с.

65. Практикум по фармакогнозии [Текст]: учеб. пособие для студентов ВУЗа / под общ. редакцией В.Н. Ковалева. – Харьков: Изд-во НФаУ: золотые страницы: МТК-Книга, 2004. – 512 с.
66. Производственная практика по стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов [Текст]: учеб. пособие для студентов фармацев. вузов / В.А. Куркин, В.Б. Браславский, Е.В. Авдеева, О.Е. Правдивцева и др. – Самара: Офорт, 2007. – 126 с.
67. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование [Текст]: семейства *Carpifoliaceae* - *Plantaginaceae* / Отв. ред. П.Д. Соколов, Ботанический ин-т им. В.Л. Комарова; [Сост. Т.А. Орлова и др.]. - Л.: Наука, 1990. – 325 с.
68. Самылина, И.А. Пути использования лекарственного растительного сырья и его стандартизация [Текст] / И.А. Самылина, И.А. Баландина // Фармация. – 2004. – № 2. – С. 39-41.
69. Семенюта К.Н. Валидационные характеристики методик количественного определения антраценпроизводных ревеня тангутского и ревеня лекарственного [Текст] // Молодой ученый. – 2019. – №24. –С. 50-56.
70. Семенюта, К.Н. Разработка методики количественного определения антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского [Текст] / К.Н. Семенюта, А.А. Шмыгарева, А.Н. Саньков, В.А. Куркин // Традиционная медицина. – 2019. –№4(59).–С. 35-38.
71. Семенюта К.Н. Ревень в трудах Абу Али ибн сине (Авиценны) [Текст] / К.Н. Семенюта, А.А. Шмыгарева // Сборник статей Международной научно - практической конференции «Концепции фундаментальных и прикладных научных исследований». – Оренбург, 2018. С. 169 –173.
72. Семенюта, К.Н. Сравнительный анализ номенклатуры группы растительных лекарственных средств, на основе ревеня тангутского, представленных на российском рынке [Текст] / К.Н. Семенюта, А.А. Шмыгарева // VIII Международная научно-практическая конференция «Наука, образование и инновации». – Екатеринбург, 2016. С. 226–229.

73. Семенюта К.Н. Сравнительный анализ номенклатуры группы растительных лекарственных средств, на основе корней ревеня тангутского, представленных на зарубежном рынке [Текст] // Молодой ученый. – 2019. – №31. –С. 25-27.
74. Семенюта К.Н. Сравнительный анализ подходов к стандартизации сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного, используемых в мировой фармацевтической практике [Текст] / К.Н. Семенюта, А.А. Шмыгарева // IV Гаммермановские чтения. Научно-методическая конференция. Сборник научных трудов 30-31 января 2019 г. – Москва, 2018. С. 273-276.
75. Семенюта, К.Н. Сравнительное анатомо-гистологическое исследование корней ревеня тангутского и ревеня лекарственного [Текст] / К.Н. Семенюта, А.А. Шмыгарева, А.Н. Саньков // Аспирантский вестник поволжья. –2019. – №5-6.– С.155-159.
76. Семенюта, К.Н. Сравнительный количественный анализ суммы антраценпроизводных в корнях ревеня тангутского и ревеня лекарственного [Текст] / К.Н. Семенюта, А.А. Шмыгарева, // IV Межвузовская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета «Современные проблемы фармакогнозии. Сборник материалов. – Самара, 2019. С. 99-105.
77. Соколов, С.Я. Справочник по лекарственным растениям (фитотерапия) [Текст]: справ. / Сост.: С.Я. Соколов, И.П. Замотаев. – М.: Медицина, 1988. – 463 с.
78. Фармакогнозия. Атлас [Текст]: учеб. пособие для студентов фармацевт. ин-тов и фармацевт. фак-тов мед. ин-тов / под ред. Н.И. Гринкевич, Е.Я. Ладыгиной. – М.: Медицина, 1989. – 511 с.
79. Фармацевтическая технология. Руководство к лабораторным занятиям [Текст]: учеб. пособие / В.А. Быков [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 304 с.



80. Федоров, Ф.В. Ревень, его возделывание и использование [Текст] / Ф. В. Федоров, Е. Н. Гриненко. – Чебоксары: Чуваш. кн. изд-во, 1981. – 36 с.
81. Флора СССР [Текст] в 30-ти т. Т. 5 / Глав. ред. акад. В. Л. Комаров. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1936. – 762 с.
82. Черепнин, В.Л. Пищевые растения Сибири [Текст] / В.Л. Черепнин. – Новосибирск: Наука, 1987. – 192 с.
83. Швачко, Д. К.Ревень - пищевой продукт [Текст] / Д. Швачко, Д. Оксенич. - Москва; Ленинград: [Огиз]. – Снабкоопзиз, 1931. – 32 с.
84. Шамрук, С.Г. Лекарственные растения: сбор, заготовка, применение [Текст]: справочное пособие / С.Г. Шамрук. – Минск: Ураджай, 1988. – 287 с.
85. Шаршунова, М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии [Текст] / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир, 1980. – 612 с.
86. Шмыгарева, А.А. Актуальные аспекты создания импортозамещающих слабительных лекарственных препаратов [Текст] / А.А. Шмыгарева, К.Н. Семенюта, М.В. Рыбалко, С.Н. Глущенко // IX Международная научно-практическая конференция «Проблемы и перспективы развития науки в России и мире». – Екатеринбург, 2017. – С. 135-137.
87. Шмыгарева, А.А. Разработка новых подходов к стандартизации корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) [Текст] / А.А. Шмыгарева // I Межвузовская студенческая научно-практическая конференция «Современные проблемы фармакогнозии». – Самара, 2016. – С. 157-162.
88. Шмыгарева, А.А. Сравнительное слабительное действие препаратов на основе коры крушины, плодов жостера и листьев сенны [Текст] / А.А. Шмыгарева, В.А. Куркин // Сеченовский вестник. – 2015. – №1(19). С. 138.
89. Шмыгарева, А.А. Фитохимическое исследование сырья фармакопейных растений, содержащих антраценпроизводные [Текст] / А.А. Шмыгарева, В.А. Куркин // IV Научно-практическая конференция «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине». – Москва, 2016. - С. 90-91.

90. Шмыгарева, А.А. Сравнительное фармакогностическое исследование крушины ломкой и крушины слабительной [Текст]: дис. канд. фарм. наук: 14.04.02 / Шмыгарева Анна Анатольевна. – М., 2012. – 190 с.
91. Энциклопедия лекарств. Регистр лекарственных средств России [Текст] / гл. ред. Г.Л. Вышковский. – М.: Изд-во РЛС-Медиа, 2010. – Вып. 18. – 1296 с.
92. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения [Текст]: учебное пособие / Г.П. Яковлев и К.Ф. Блинова и др. – СПб.: Специальная литература, 1999. – 407 с.
93. Яковлев, Г. П. Ботаника: учебник для вузов [Текст] / Г.П. Яковлев, В. А. Челомбитько // Под ред. чл. – корр. РАН, проф. Р.В. Камелина. – СПб.: Спецлит, Издательство СПХФА, 2001. – 680 с.
94. Bagur, M.G. The standard addition methodology for evaluation of results in chromatographic analysis [Text] / M.G. Bagur, D. Gazguer, M. Sanchervinas etc. // Analysis. - 1997. - Vol. 24, No. 9-10. - P. 374-380.
95. Bedevian, A.K. Illustrated polyglottic dictionary of plant names in Latin, Arabic, Armenian, English, French, German, Italian and Turkish languages [Text] / A.K. Bedevian. - Cairo, Argus & Papazian Press, 1936. – 1711 p.
96. Bisset, N.G. Herbal drugs and phytopharmaceuticals [Text] / N.G. Bisset. - Boca Raton, FL, CRC Press, 1994. - P. 463-469.
97. Bonati, A. Analysis by HPLC of anthraquinone drugs and relevant extracts. Part 1. Rhamnus frangula L. [Text] / A. Bonati, G. Forni // Phytoterapia. - 1977. - Vol. 48, No. 4. - P. 159-165.
98. Breimer, D.D. Pharmacokinetics and metabolism of anthraquinone laxatives [Electronic version] / D.D. Breimer, A.J. Baars. - Pharmacology, 1976. - Vol. 14, Suppl. 1. - P. 30-47. – Access mode: <https://pharmacologyonline.it/>– (Date of the application 24.08.2019).
99. British Pharmacopoeia 2009 [Electronic version]: official text / British\* Pharmacopoeia Commission\* Secretariat, part of the Medicines and Healthcare

products Regulatory Agency. – 2009. – 10952 p. – Access mode: <https://www.pharmacopoeia.com/>. – (Date of the application 15.05.2019).

100. Bruneton, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants [Text] / J. Bruneton. - Paris, Lavoisier, 1995.–1136 p.

101. Dean, P.D.G. Chromatography. A Practical Approach - IRL Press [Text] / P.D.G Dean, W.S. Johnson, F.A. Middle. - Oxford, England, 1985. – 215 p.

102. De Witte, P. Metabolism and pharmacokinetics of the anthranoids [Text] / P. De Witte. - Pharmacology. – 1993. - 47 (Suppl. 1). – P. 86-97.

103. Ebel, S. Zur Analytik von Anthrachinondrogen. I. Hydrolyse der Glycoside direct auf der DC-Platte [Text] / S. Ebel, M. Kaal // Planta Medica. – 1980. - Vol. 40, No. 3. - P. 271-277.

104. Ekor, M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety [Electronic version] / M. Ekor // Frontiers in Pharmacology. – 2014. - No. 4. – Article 177. –Access mode: <https://www.frontiersin.org/> – (Date of the application 24.08.2019).

105. European Pharmacopoeia Online 9.0 [Electronic version]: official text / European Pharmacopoeia Commission Secretariat, part of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. – 2018.– 18654p. – Access mode: <http://online6.edqm.eu/ep900/>. – (Date of the application 15.05.2019).

106. Evans W.C. Trease and Evans Pharmacognosy [Text] / W.C. Evans. – 16th edition. Edinburgh. – London: Saunders Elsevier, 2009. - 616 p.

107. Godding, E.W. Therapeutics of laxative agents with special reference to the anthraquinones [Text] / E.W. Godding // Pharmacology. – 1976. - 14 (Suppl. 1). - P.78-101.

108. Kommerell, B. Unerwunschte Arzneiwirkungen bei Laxantienabus [Text] / B. Kommerell. – Therapiewoche. - 1979. – Bd. 29. - P. 4667-4668; 4671-4672.

109. Kurkin, V.A. Anthraquinones and naphthalene derivatives of *Rumex confertus* [Electronic version] / V.A. Kurkin, N.V. Zaitseva, E.V. Avdeeva, E.D. Daeva, V.I. Kadentsev // Chemistry of Natural Compounds. – 2013. - № 1. – P. 135-

136. – Access mode: <https://www.chemweb.com/>. – (Date of the application 24.08.2019).
110. Labadie, R.P. Enzymatic hydrolysis of anthraglycosides on thin layer chromatograms [Text] / R.P. Labadie, M.B.M. Morrien // Pharm. Weekbl. – 1978. - Vol. 113, No. 1. - P. 1-9.
111. Leung, A.Y. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics, 2nd ed. [Text] / A.Y. Leung, S. Foster. - New York, NY, John Wiley & Sons, 1996.
112. Liu, R. Preparative isolation and purification of hydroxyanthraquinones and cinnamic acid from the Chinese medicinal herb *Rheum officinale* Willd. by high-speed counter-current chromatography [Electronic version] / R. Liu, A. Li, A. Sun // Journal of Chromatography A. - 2004. - Vol. 1052. - P. 217–221. –Access mode: <https://www.journals.elsevier.com/journal-of-chromatography-a/>. – (Date of the application 24.08.2019).
113. Muzychkina, R.A. Natural Anthraquinones. Biological properties and physicochemical characteristics [Text] / Ed. by G.A. Tolstikov. - Moscow: PHASIS, 1998. – 864 p.
114. Quercia, V. HPLC in the determination of some anthraquinone glycosides [Text] / V. Quercia // Pharmacology. - 1980. - Vol. 20, Suppl. 1. - P. 76-82.
115. Rai, P.P. Thin-layer densitometric determination of individual dehydroxyanthraquinone derivatives [Text] / P.P. Rai // Chromatographia. - 1980. - Vol. 13, No. 12. - P. 763-764.
116. Pal, S.K. Herbal medicine: current status and the future [Electronic version] / S.K. Pal, Y. Shukla // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. - 2003. – No. 4(4). - P. 281-288. – Access mode: <http://journal.waocp.org/>. – (Date of the application 24.08.2019).
117. Semeniuta K.N. Development of the technique of quantitative determination of anthracenederivatives in roots of *Rheum officinale* [Electronic version] / K.N. Semeniuta, V.A. Kurkin, A.A. Shmygareva, A.N. Sankov // Research Journal of

Pharmacy and Technology. –2019.–№12(10). –P. 4696-4698. –Access mode: <http://rjptonline.org>. – (Date of the application 24.12.2019).

118. Semeniuta K.N. Comparative quantitative study of the total anthracenederivatives in combined preparations of *Rheum palmatum* [Electronic version] / K.N. Semeniuta, V.A. Kurkin, A.A. Shmygareva, A.N. Sankov // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2020. №13(1). – P. 98-100. – Access mode: <http://rjptonline.org>. – (Date of the application 24.12.2019).

119. Shmygareva A.A. Method of obtaining extract by the method of modified maceration [Electronic version] / A.A. Shmygareva, V.A. Kurkin, A.A. Shmygareva, A.N. Sankov, M.V. Rybalko, K.N. Semeniuta, // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2019. №12(12). – P. 5956-5958. –Access mode: <http://rjptonline.org>. – (Date of the application 24.01.2020).

120. Semeniuta K.N. The development of new approaches of standardization of *Rheum palmatum* roots [Electronic version] / K.N. Semeniuta, V.A. Kurkin, A.A. Shmygareva, A.N. Sankov // International Journal of Innovative Pharmaceutical Sciences and Research. – 2020. – №08(02). – P. 1-8.. –Access mode: [www.ijipsr.com](http://www.ijipsr.com)– (Date of the application 27.02.2020).

121. Thompson, W.G. Laxatives: clinical pharmacology and rational use [Text] / W.G. Thompson. // Drugs, Basel. – 1980. - Vol. 19, No. 1. - P. 49-58.

122. Touchstone, J.C. Practice of Thin Layer Chromatography [Text] / J.C. Touchstone. – 3rd Ed. – New York. U.S.A.: John Wiley & Sons, 1992. – 400 p.

123. Tyler, V.E. The new honest herbal [Text] / V.E. Tyler. - George F. Stickley Company, Philadelphia, 1987. – 254 p.

124. Van, Os F.H.L Anthraquinone derivatives in vegetable laxatives [Text] / Os F.H.L Van. // Pharmacology. - 1976. - Vol. 14, Suppl. 1. - P. 7-17.

125. Van, Os F.H.L. Some aspects of the pharmacology of anthraquinone drugs [Text] / Os F.H.L Van. – Pharmacology. - 1976. - Vol.14. - Suppl. 1. - P. 18-29.

126. Vyth, A. Detection of anthraquinone laxatives in the urine [Text] / A. Vyth, P.E. Kamp. - Pharm, Weekbl. Sci. Ed. - 1979 - Vol. 1, No 4. - P. 456-459.

127. Wagner, H. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas [Text] / H. Wagner, S. Blatt. - Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag, 1996. - 384 p.
128. Wagner, H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe [Text] / H. Wagner. - Stuttgart-New York: Gustav Fischer Verlag, 1993. – 522 p.
129. Youngken, H.W. Textbook of pharmacognosy [Text] / H.W. Youngken, PA, Blakiston. – 6th ed. – Philadelphia : Blakiston Company 1950. – 1063 p.
130. Zwaving, J.N. Recent developments in the analysis of anthraquinone derivatives [Text] / J.N. Zwaving // Pharmacology - 1980. - Vol. 20. - Suppl. 1. - P. 65-75.

# ПРИЛОЖЕНИЯ

**Приложение 1. Проект фармакопейной статьи на ЛРС «Ревеня  
дланевидного корни»**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**

**УТВЕРЖДАЮ**

Директор Центра фармакопеи 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**

**Организация-разработчик:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

---

Ревеня дланевидного корни  
корни  
Rhei palmati radices

---

ФС.2.5.0092.18

Срок введения установлен  
с «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.  
до «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Собранные осенью или ранней весной в возрасте не менее 3 лет, разрезанные на части и высушенные корни культивируемого растения ревеня дланевидного – *Rheum palmatum* L. Maxim., сем. гречишных – *Polygonaceae*.

---

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА



## ПОДЛИННОСТЬ

**Внешние признаки.** *Цельное сырье.* Цельные или продольно разрезанные твердые куски корней различной формы длиной до 25 см, толщиной до 3 см. Крупные куски корней цилиндрические или конусовидные, прямые или слегка изогнутые, с продольно-морщинистой поверхностью. Куски корневищ встречаются редко, поверхность их поперечно-морщинистая. Излом неровный. Цвет корней снаружи темно-коричневый, на изломе – желто-коричневый или оранжево-коричневый; свежий излом зернистый, сероватый, с оранжевыми или розоватыми прожилками.

Запах своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

**Порошок.** При рассмотрении порошка под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки сырья различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет от светло-желтого до темно-коричневого.

Запах своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

**Микроскопические признаки.** *Цельное сырье.* При рассмотрении поперечных сечений фрагментов корня ревеня тангутского с поверхности хорошо заметен слой тёмно-коричневой пробки, значительно превышающий слой пробки сравниваемых образцов ревеня лекарственного (рис. 1.1). При рассмотрении на большом увеличении (x400) видно, что клетки пробковой ткани пигментированы за счет бурого содержимого протопластов и на более тонких срезах почти не окрашены (рис 1.1).

При облучении пробковой ткани УФ-светом с  $\lambda=360\text{нм}$  пигментированные слои пробки не люминесцируют. Напротив, молодые слои пробковой ткани светятся при данном облучении ярко-голубым цветом за счет простых фенольных соединений и дубильных веществ (рис 1.1). При этом изменение режима облучения на свет с  $\lambda=420\text{нм}$  меняет люминесценцию на желтый цвет (рис. 1.1).

В лубяной паренхиме корня обнаружены группы кристаллических включений, не окрашенных при просматривании в дневном свете, однако люминесцирующие ярко-голубым цветом при облучении светом с  $\lambda=360\text{нм}$ . При изменении режима облучения на дневной спектр с  $\lambda=420\text{нм}$  люминесценции обнаруженных кристаллов не выявил (рис. 1.2). Характер свечения говорит о фенольной природе обнаруженных кристаллических включений.

В паренхиме сердцевинных лучей, ближе к камбиальной зоне часто встречаются клетки с кристаллическими элементами протопласта, люминесцирующими рыжим цветом (антрацен производные) аналогичные описанным для основной паренхимы феллодермы (рис. 1.3).

Кроме того, в клетках основной паренхимы сердцевинных лучей аналогично ревеню лекарственному отмечается значительное содержание крахмальных зерен (рис. 1.4), а также друз оксалата кальция звездчатой формы (рис. 1.4).

Ксилема с хорошо развитыми сердцевинными лучами основной паренхимы (рис. 1.5, 1.6). При облучении ксилемной области срезов УФ-светом с  $\lambda=360\text{нм}$  хорошо видна серо-голубая люминесценция одревесневших оболочек сосудов ксилемы (рис. 1.5, 1.6).

Основная паренхима сердцевинных лучей, не окрашенная при рассмотрении в дневном свете, люминесцирует за счет протопластов клеток желто-оранжевым цветом (антрацен производные) (рис. 1.5, 1.6). При изменении режима облучения на дневной спектр с  $\lambda=420\text{нм}$  свечение всех выше описанных элементов одинаково желтое (рис. 1.5, 1.6).

Крахмальные зерна простые, округлой формы с характерным растрескиванием, отличающим их от крахмальных зерен ревеня лекарственного (рис. 1.4).

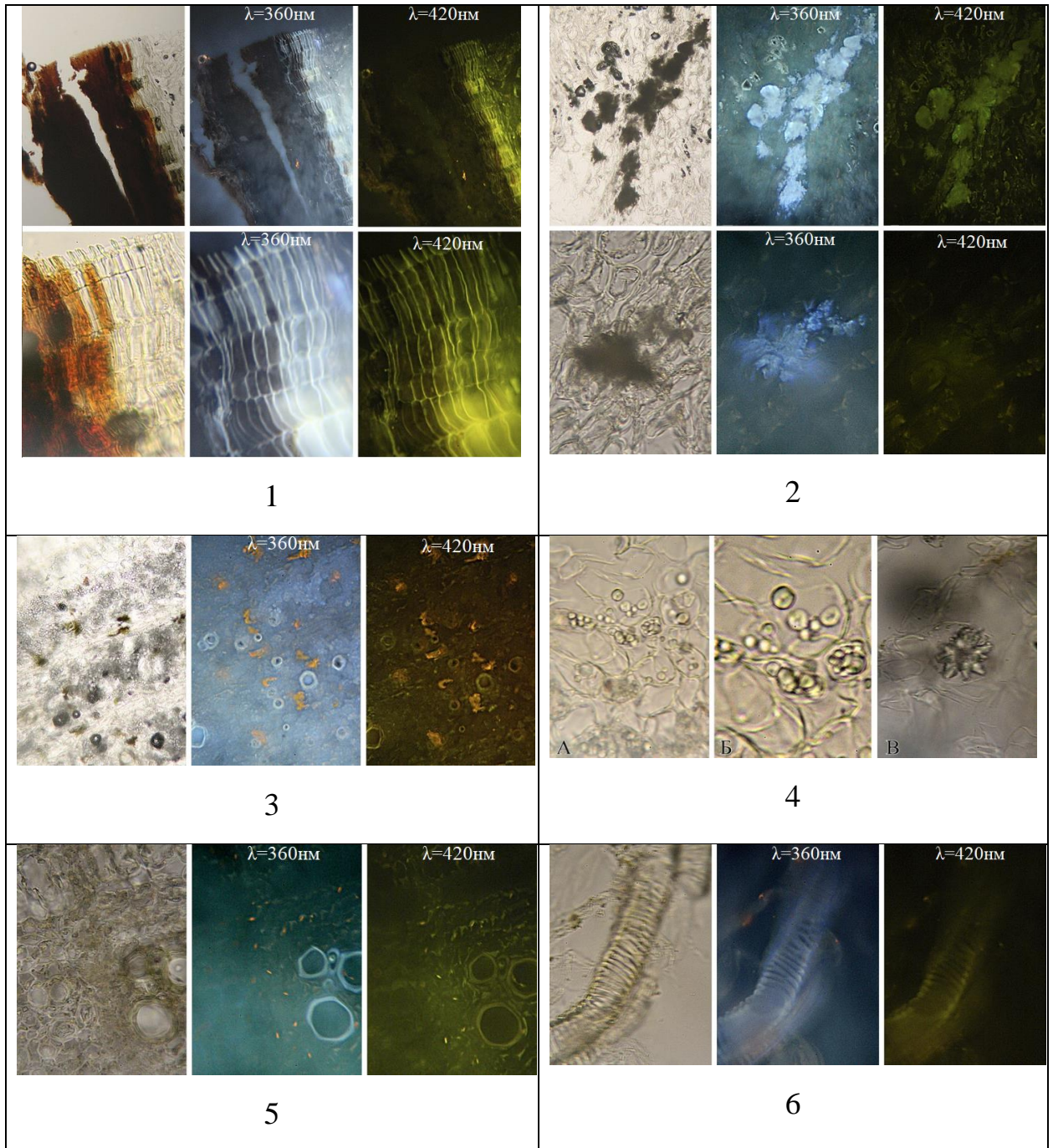


Рисунок 1 – Корни ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.). 1- коровая часть, поперечное сечение (x100), (x400) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 2- Кристаллические включения в лубяной паренхиме, поперечное сечение (x100), (x400) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 3- Паренхима сердцевинных лучей, поперечное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; Производные протопластов в клетках основной паренхимы сердцевинных лучей поперечное сечение (x400), (x1000); Ксилема, поперечное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; Люминесценция сосудов, продольное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм.

## Определение основных групп биологически активных веществ

1. Реакция с водяным извлечением (1:10): при добавлении к водному извлечению из корней ревеня тангутского нескольких капель 10% раствора натрия гидроксида образуется красное окрашивание.

### 2. Спектроскопия

Раствор А, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение антраценпроизводных» имеет батохромный сдвиг при длине волны  $510 \pm 2$  нм (рис. 2).

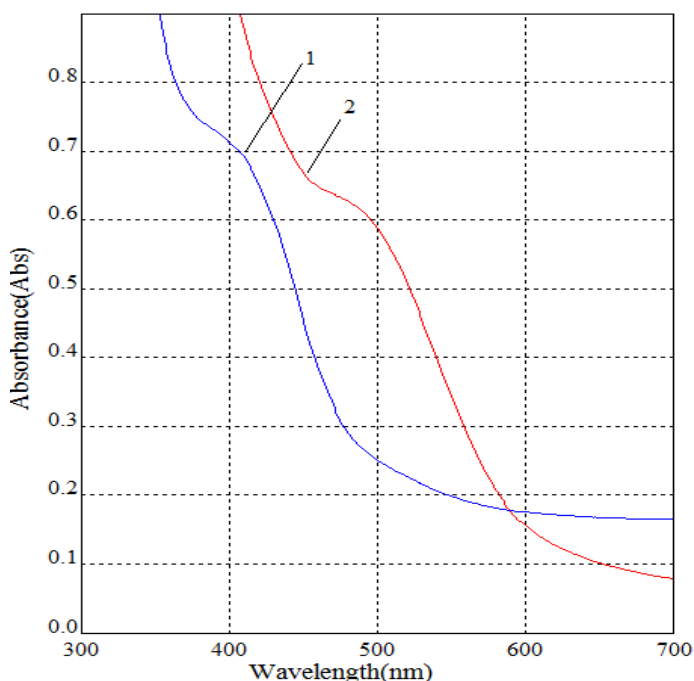


Рисунок 2 – Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно - аммиачного раствора (2) водно - спиртового извлечения из корней ревеня тангутского

### 3. Тонкослойная хроматография

#### *Приготовление растворов*

*СО франгула-эмодин.* 0,02 г СО франгула-эмодин растворяют в небольшом количестве спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают.

*СО хризофанеина и пальматина.* По 0,02 г СО хризофанола и пальматина растворяют в небольшом количестве спирта 96% в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают.

*СО катехина.* 0,02 г СО катехина растворяют в небольшом количестве воды в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствора для детектирования.* 0,01 г диазобензолсульфокислоты растворяют в 10 мл 10 % раствора натрия карбоната. Раствор используют свежеприготовленным.

1 г измельченного корней ревеня тангутского (с точностью до  $\pm 0,01$  г) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70% этилового спирта. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса).

На линию старта пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ» микропипеткой наносят 0,01 мл извлечение и 0,01 мл 0,1% раствора стандартного образца франгула-эмодина, хризофанеина, пальматина и катехина. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру со смесью растворителей этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 8 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 мин. и просматривают в УФ свете. Затем пластинку опрыскивают раствором диазобензолсульфокислоты и помещают в сушильный шкаф на 2 мин. при 100-105 °С. На хроматограмме четко делятся пятна франгула-эмодина ( $R_f$  около 0,9), хризофанеин и пальматин ( $R_f$  около 0,85), катехин ( $R_f$  около 0,72).

*Примечание:*

Подготовка пластинок. Пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ» (ТУ 26-11-17-89) перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105°С в течение 1 ч.

## ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье, порошок* – не более 12 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье, порошок* – не более 8 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье, порошок* – не более 1 %.

### **Измельченность сырья.**

*Цельное сырье.* Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм – не более 5%;

*Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, – не более 3 %.

### **Посторонние примеси**

**Корней, почерневших в изломе** – не более 5 %;

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

**Органическая примесь.** *Цельное сырье* – не более 0,5 %

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

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

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

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

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение.** *Цельное сырьё, порошок:* антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин - не менее 2,5 %; дубильных веществ – не менее 21 % в пересчете на катехин.

*Приготовление раствора.*

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

### **1. Сумма антрагликозидов в пересчете на франгула-эмодин.**

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, добавляют 100 мл 70% спирта этилового, закрывают пробкой, взвешивают с точностью до  $\pm 0,01$ , присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 минут. Затем в течение 15 мин, проводят экстракцию при воздействии ультразвука при температуре  $40^{\circ}\text{C}$ , мощности ультразвука 60Вт и частоте 40кГц, после чего колбу с извлечением взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 4 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором. После охлаждения измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 510 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 4 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 70% спиртом этиловым до метки. Содержание суммы антраценпроизводных проводят по формуле:

$$X = \frac{E \times 100 \times 25 \times 100}{m \times 465 \times 4 \times (100 - W)}, \text{ где:}$$

465- удельный показатель поглощения франгула-эмолина.

$E$ – оптическая плотность испытуемого раствора;

$m$  – масса сырья, г;

$W$  – потеря в массе при высушивании, в процентах.

## 2. Сумма дубильных веществ в пересчете на катехин.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до  $\pm 0,01$ , присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 15 минут с момента закипания экстрагента. После этого содержимое колбы охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы водой. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем раствора до метки водой. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при аналитической длине волны 282 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на катехин и абсолютно сухое сырье в процентах ( $X$ ) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{E \times 50 \times 50 \times 100}{144 \times m \times 1 \times (100 - W)}, \text{ где:}$$

$E$ – оптическая плотность испытуемого раствора;

144 - удельный показатель поглощения катехина;

$m$  – масса сырья, г;

$W$  – потеря в массе при высушивании, в процентах.



ФС.2.5.0092.18 с.10

**Упаковка, маркировка и транспортирование.** В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (ГФ РФ XIV издания).

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (ГФ РФ XIV издания).


Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ  
Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук, профессор

Зав. кафедрой фармакогнозии  
с ботаникой и основами фитотерапии  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
профессор

Соискатель кафедры фармакогнозии  
с ботаникой и основами фитотерапии  
ФГБОУ ВО СамГМУ  
Минздрава России

  
И.Л. Давыдкин  
«15» сентября 2020 г.

  
В.А. Куркин  
«15» сентября 2020 г.

  
К.Н. Семенюта  
«15» сентября 2020 г.

**Приложение 2. Проект фармакопейной статьи на ЛРС «Ревеня  
лекарственного корни»**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**

**УТВЕРЖДАЮ**

Директор Центра фармакопеи 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**

**Организация-разработчик:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ревеня лекарственного корни

ФС.2.5.

Вводится впервые

Rhei officinale radices

Срок введения установлен

с «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

до «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Собранные осенью или ранней весной в возрасте не менее 3 лет, разрезанные на части и высушенные корни культивируемого растения ревеня лекарственного – *Rheum officinale* В., сем. гречишных – *Polygonaceae*.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

## ПОДЛИННОСТЬ

**Внешние признаки.** *Цельное сырье.* Цельные или продольно разрезанные твердые куски корней различной формы длиной до 25 см, толщиной до 3 см. Крупные куски корней цилиндрические или конусовидные, прямые или слегка изогнутые, с продольно-морщинистой поверхностью. Куски корневищ встречаются редко, поверхность их поперечно-морщинистая. Излом неровный. Цвет корней снаружи темно-коричневый, на изломе – желто-коричневый или оранжево-коричневый; свежий излом зернистый, сероватый, с оранжевыми или розоватыми прожилками.

Запах своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

**Порошок.** При рассмотрении порошка под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки сырья различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет от светло-желтого до темно-коричневого.

Запах своеобразный. Вкус водного извлечения горьковатый, вяжущий.

**Микроскопические признаки.** *Цельное сырье.* На поперечном сечении корня ревеня лекарственного с поверхности видная пробковая ткань бурого цвета за счет клеточных стенок. Слой пробки не большой и насчитывает до 5ти рядов клеток (рис. 1.1, 1.2).

Непосредственно под пробковой тканью располагается феллодерма из тонкостенных разно размерных клеток, среди которых встречаются крупные тангентально уплощённые склереиды. Клеточные стенки склереид при дневном свете нативно окрашены в светло-желтый цвет (рис. 1.1). Необходимо отметить, что слой склереид тонкий и не распространяется в глубь лубяной паренхимы, а на против локализован в плотную к пробковому слою.

При облучении поперечного сечения корня ревеня лекарственного УФ-светом с  $\lambda=360\text{nm}$  уже на малом увеличении (x100) видно ярко-голубое свечение одревесневших оболочек склереид. Пробковый слой при этом не

люминесцирует (рис. 1.1). В лубяной паренхиме при данном облучении видны элементы протопластов, люминесцирующих красным или рыжим цветом. При облучении данной области среза светом с  $\lambda=420\text{нм}$  рыжий цвет люминесценции сохраняется (рис. 1.1). Клеточные стенки феллодермы и молодых слоёв пробки люминесцируют светло-голубым до белого цветом, что вероятно обусловлено содержанием в них простых фенольных соединений и дубильных веществ. При изменении режима облучения на  $\lambda=420\text{нм}$  люминесценция клеточных стенок феллодермы, а также склерейд изменяется на ярко-желтую (рис. 1.3). В основной паренхиме луба в значительном количестве диагностируются клетки идиобласты с крупными друзами звёздчатой формы (рис. 1.4). При этом сами друзы видны только при дневном свете на белом поле. При облучении микропрепаратов различными режимами освещения на тёмном поле друзы не видны, однако их часто окружают кристаллические элементы протопласта, люминесцирующие рыжим цветом и расписанные выше (рис. 1.4). Ксилема ревеня лекарственного лучистая с хорошо развитыми сердцевинными лучами основной паренхимы (рис. 1.5). При облучении ксилемной области срезов УФ-светом с  $\lambda=360\text{нм}$  хорошо видна серо-голубая люминесценция одревесневших оболочек сосудов ксилемы (рис. 1.5). Основная паренхима сердцевинных лучей, не окрашенная при рассмотрении в дневном свете, люминесцирует за счет протопластов клеток желто-оранжевым цветом (антоцен производные) (рис. 1.5). При изменении режима облучения на дневной спектр с  $\lambda=420\text{нм}$  свечение всех выше описанных элементов одинаково желтое (рис. 1.5). Паренхима сердцевинных лучей, представленная тонкостенными клетками, содержит значительное количество крахмальных зерен (рис. 1.5). Крахмальные зерна простые, мелкие, овальной, каплевидной или почти округлой формы не люминесцируют в изучаемых диапазонах облучения (рис. 1.6). В структуре крахмальных зерен не заметны центры кристаллизации и растрескивания (рис. 1.7).

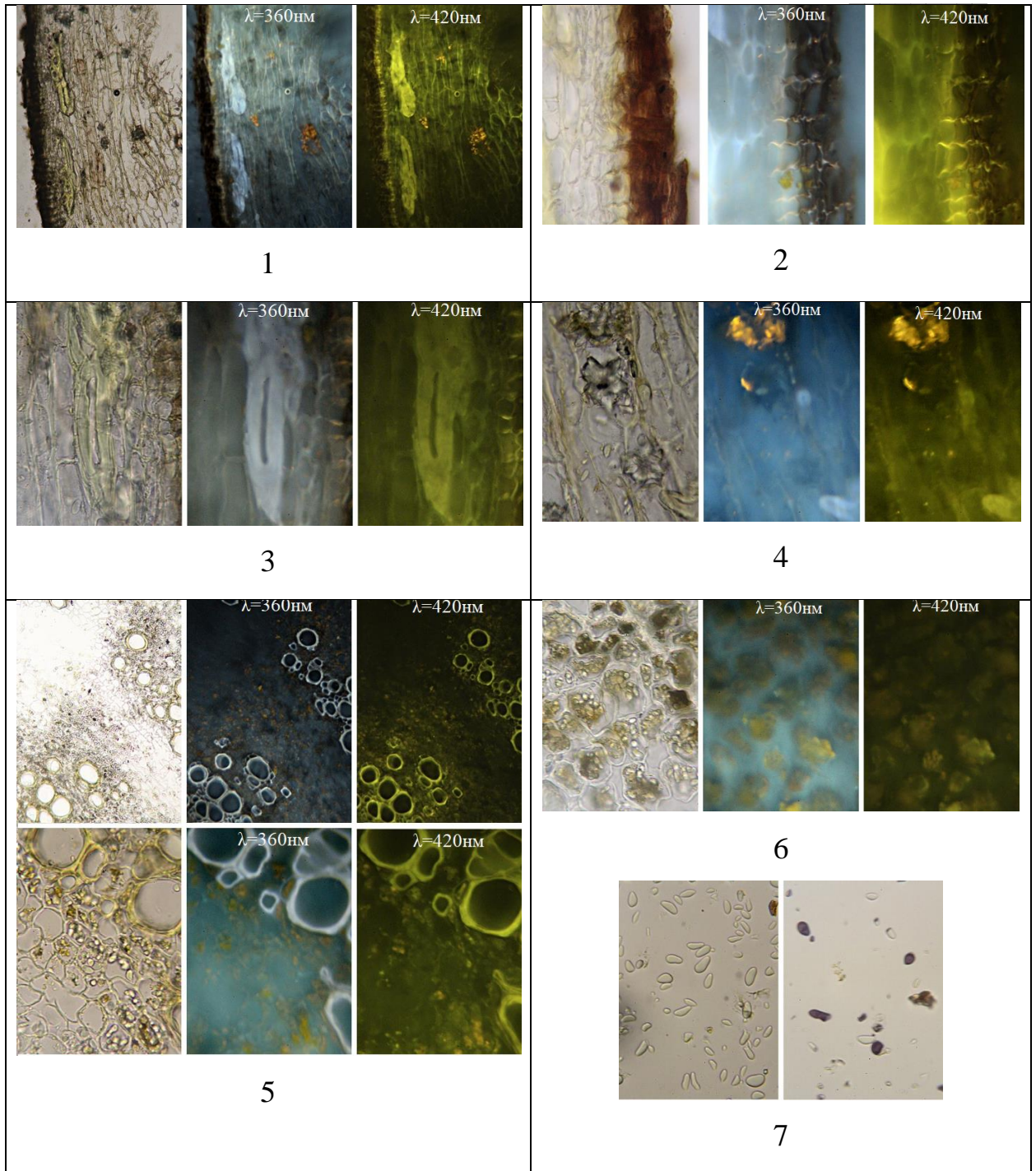


Рисунок 1 – Корни ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.) 1- коровая часть, поперечное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 2- перидерма, поперечное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 3- склереиды перидермы, поперечное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 4- друзы в паренхиме луба, поперечное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 5- ксилемная часть, поперечное сечение (x100), (x400) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 6- паренхима сердцевинного луча, поперечное сечение (x100) в видимом свете и люминесценции при  $\lambda$ -360нм и  $\lambda$ -420нм; 7- крахмальные зерна, поперечное сечение (x100): в видимом свете и при окраске 0,5% раствором Люголя.

### Определение основных групп биологически активных веществ

1. Реакция с водяным извлечением (1:10): при добавлении к водному извлечению из корней ревеня лекарственного нескольких капель 10% раствора натрия гидроксида образуется красное окрашивание.

### 2. Спектроскопия

Раствор А, приготовленный как указано в разделе «Количественное определение антраценпроизводных» имеет батохромный сдвиг при длине волны  $510 \pm 2$  нм (рис. 2).

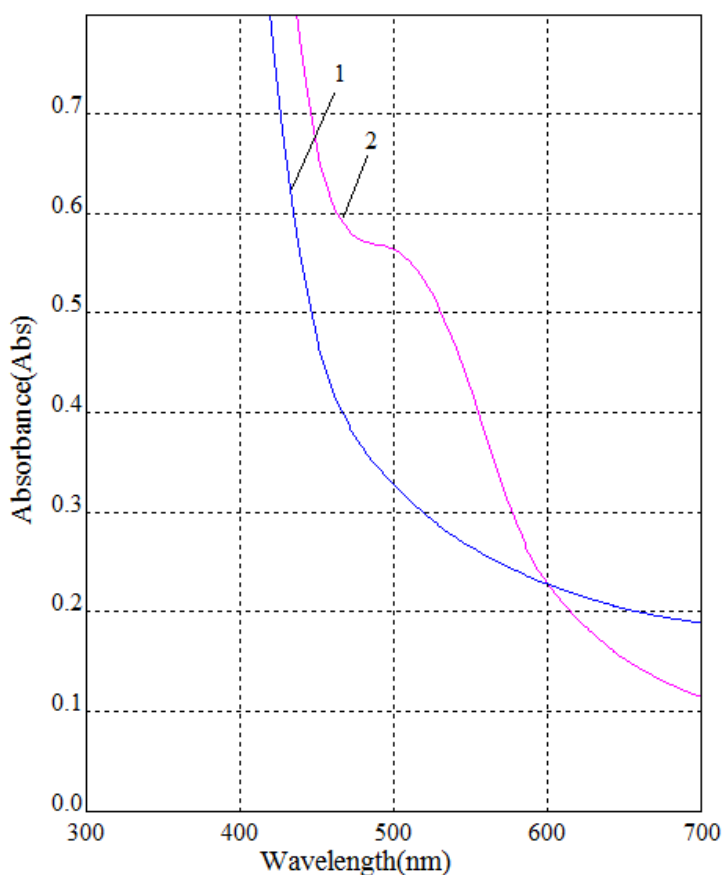


Рисунок 2 – Электронные спектры исходного раствора (1) и щелочно - аммиачного раствора (2) водно - спиртового извлечения из корней ревеня лекарственного



### 3. Тонкослойная хроматография

#### *Приготовление растворов*

*СО франгула-эмодин.* 0,02 г СО франгула-эмодин растворяют в небольшом количестве спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают.

*СО неподина.* По 0,02 г СО неподина растворяют в небольшом количестве спирта 96 % в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают.

*СО катехина.* 0,02 г СО катехина растворяют в небольшом количестве воды в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

*Раствора для детектирования.* 0,01 г диазобензолсульфоукислоты растворяют в 10 мл 10 % раствора натрия карбоната. Раствор используют свежеприготовленным.

1 г измельченного корней ревеня тангутского (с точностью до  $\pm 0,01$  г) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70% этилового спирта. Колбу присоединят к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 мин. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр («красная» полоса).

На линию старта пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ» микропипеткой наносят 0,01 мл извлечение и 0,01 мл 0,1% раствора стандартного образца франгула-эмодин, неподина и катехина. Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру со смесью растворителей этилацетат – этанол – вода (100:13,5:10) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 8 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 мин. и просматривают в УФ свете. Затем пластинку опрыскивают раствором диазобензолсульфоукислоты и помещают в сушильный шкаф на 2 мин. При

100-105 °С. На хроматограмме четко делятся пятна франгула-эмолина ( $R_f$  около 0,9), неподина ( $R_f$  около 0,85), катехин ( $R_f$  около 0,72).

*Примечание:*

Подготовка пластинок. Пластинки «Сорбфил-ПТСХ-АФ-А-УФ» (ТУ 26-11-17-89) перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105°С в течение 1 ч.

## ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Цельное сырье, порошок* – не более 12 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье, порошок* – не более 8 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье, порошок* – не более 1 %.

**Измельченность сырья.**

*Цельное сырье.* Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм – не более 5%;

*Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм – не более 5 %.

**Посторонние примеси**

*Корней, почерневших в изломе* – не более 5 %;

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

**Органическая примесь.** *Цельное сырье* – не более 0,5 %

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

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

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



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

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение.** *Цельное сырьё, порошок:* антраценпроизводных в пересчете на франгула-эмодин - не менее 2,3%; дубильных веществ – не менее 22 % в пересчете на катехин.

*Приготовление раствора.*

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

#### **1. Сумма антрагликозидов в пересчете на франгула-эмодин.**

Аналитическую пробу сырья измельчили до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1 г измельченного сырья (точная навеска) поместили в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавили 100 мл 60% спирта этилового, закрыли пробкой, взвесили с точностью до  $\pm 0,01$ , присоединили к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 30 минут. Затем в течение 15 мин, проводят экстракцию при воздействии ультразвука при температуре 40°C, мощности ультразвука 60Вт и частоте 40кГц, после чего колбу с извлечением взвесили и восполнили недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр («красная» полоса).

Испытуемый раствор готовили следующим образом: 4 мл полученного извлечения поместили в мерную колбу вместимостью 25 мл и довели объем раствора до метки щелочно-аммиачным раствором. После охлаждения измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 510 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный

следующим образом: 4 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 60% раствором спирта этилового до метки. Содержание суммы антраценпроизводных проводят по формуле:

$$X = \frac{E \times 100 \times 25 \times 100}{m \times 465 \times 4 \times (100 - W)}, \text{ где:}$$

$E$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

465 – удельный показатель поглощения франгула-эмолина;

$m$  – масса сырья, г;

$W$  – потеря в массе при высушивании, в процентах.

## 2. Сумма дубильных веществ в пересчете на катехин.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл, воды. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до  $\pm 0,01$ , присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 15 минут с момента закипания экстрагента. После этого содержимое колбы охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы водой. Полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем раствора до метки водой. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при аналитической длине волны 282 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на катехин и абсолютно сухое сырье в процентах ( $X$ ) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{E \times 50 \times 50 \times 100}{144 \times m \times 1 \times (100 - W)}, \text{ где:}$$

$E$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

144 – удельный показатель поглощения катехина;

$m$  – масса сырья, г;

$W$  – потеря в массе при высушивании, в процентах.

ФС.2.5.\_\_\_\_\_с.10

**Упаковка, маркировка и транспортирование.** В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (ГФ РФ XIV издания).

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (ГФ РФ XIV издания).

Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ  
Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук, профессор

Зав. кафедрой фармакогнозии  
с ботаникой и основами фитотерапии  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
профессор

Соискатель кафедры фармакогнозии  
с ботаникой и основами фитотерапии  
ФГБОУ ВО СамГМУ  
Минздрава России



И.Л. Давыдкин  
«15» \_\_\_\_\_ 2020 г.

В.А. Куркин  
«15» \_\_\_\_\_ 2020 г.

К.Н. Семенюта  
«15» \_\_\_\_\_ 2020 г.

## Приложение 3 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России

«Утверждаю»  
 Ректор ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава  
 России, профессор  
 И.В. МИРОШНИЧЕНКО  
 «    »    \* 1 \*    2019 г.

### АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Семенюта Ксении Николаевны «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры управление и экономика фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии: зав. кафедрой, к. м. н., доцента А.Н. Саныкова, к. б. н. О.А. Дорохиной, к. б. н. А.А. Кочуковой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенюта К.Н., посвященного фармакогностическому исследованию и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского и ревеня лекарственного в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют разработке объективных методик диагностики и определения качества сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного и препаратов на их основе. Используемые результаты исследования химического состава, а также разработанные подходы для стандартизации сырья являются методической и методологической основой для научного обоснования создания препаратов на основе ревеня тангутского.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой управления и экономики фармации,  
 фармацевтической технологии и фармакогнозии,  
 к. м. н., доцент

А.Н. САНЬКОВ

Доцент кафедры управления и экономики фармации,  
 фармацевтической технологии и фармакогнозии,  
 к. б. н.

О.А. ДОРОХИНА

Доцент кафедры управления и экономики фармации,  
 фармацевтической технологии и фармакогнозии,  
 к. б. н.

А.А. КОЧУКОВА

Личную подпись  
 заверяю  
 Начальник отдела кадров

## Приложение 4 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

«Утверждаю»  
Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук,  
профессор

 И. И. ДАВЫДКИН  
« 19 » ноября 2019 г.

### АКТ


о внедрении результатов диссертационной работы Семенова Николаевича Николаевича «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.)» 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 ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии: зав. кафедрой, д. фарм. н., профессора В.А. Куркина, д. фарм. н., доцента В.Б. Браславского, доцента, д. фарм. н. О.Е. Правдивцевой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенова К.Н., посвященного фармакогностическому исследованию и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского и ревеня лекарственного, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами и аспирантами, а также в научно-исследовательской работе.

Внедренные результаты способствуют разработке объективных методик диагностики и определения качества сырья ревеня тангутского и ревеня лекарственного и препаратов на их основе. Используемые результаты исследования химического состава, а также разработанные подходы для стандартизации сырья являются методической и методологической основой для научного обоснования создания препаратов на основе ревеня тангутского.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,  
д. фарм. н., профессор

 В.А. КУРКИН

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,  
д. фарм. н., доцент

 В.Б. БРАСЛАВСКИЙ

Доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,  
д. фарм. н., доцент

 О.Е. ПРАВДИВЦЕВА



## Приложение 5 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

«Утверждаю»  
Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук,  
профессор



*И.Л. Давыдкин*  
« 19 » ноября 2019 г.

о внедрении результатов диссертационной работы Семенюта Ксении Николаевны «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры управления и экономики фармации: зав. кафедрой управления и экономики фармации, профессора, д. фарм. н. И.К. Петрухиной, профессора, д. фарм. н. Е.П. Гладуновой, доцента, к. фарм. н. Е.Л. Абдулмановой подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенюта К.Н., посвященного изучению химического состава и разработке подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского и ревеня лекарственного, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области фармакоэкономических исследований слабительных средств.

Внедренные результаты способствуют научному обоснованию целесообразности создания конкурентоспособных лекарственных средств слабительного действия, в том числе импортозамещающих препаратов.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой управления и экономики фармации,  
д. фарм. н., профессор

И.К. ПЕТРУХИНА

Профессор кафедры управления и экономики фармации,  
д. фарм. н.

Е.П. ГЛАДУНОВА

Доцент кафедры управления и экономики фармации,  
к. фарм. н., доцент

Е.Л. АБДУЛМАНОВА

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

## Приложение 6 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

«Утверждаю»  
Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук,  
профессор

  
**И.Л. Давыдкин**  
«19» ноября 2019 г.

**АКТ**

о внедрении результатов диссертационной работы Семенюта Ксении Николаевны «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры химии фармацевтического факультета: зав. кафедрой химии фармацевтического факультета, к.фарм.н., доцента А.В. Воронина, доцента, к.х.н. С.Х. Шариповой доцента, к.б.н. Н.В. Расцветовой, подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенюта К.Н., посвященного изучению химического состава, определению диагностических признаков и обоснованию подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского и ревеня лекарственного, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области изучения лекарственного растительного сырья, содержащего антрагликозиды и дубильные вещества

Внедренные результаты способствуют повышению объективности стандартизации лекарственных препаратов на основе ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

Члены комиссии:

Зав. кафедрой химии фармацевтического факультета,  
к. фарм. н., доцент

 А.В. ВОРОНИН

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

 С.Х. ШАРИПОВА

Доцент кафедры химии фармацевтического факультета,  
к. б. н., доцент

 Н.В. РАСЦВЕТОВА

## Приложение 7 – Акт внедрения в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

«Утверждаю»  
Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,  
лауреат премии Правительства РФ,  
доктор медицинских наук,  
профессор

И.Г. Давыдкин  
« 19 ноября 2010 »

### АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Семенюта Ксении Николаевны «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* V.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) на кафедре фармацевтической технологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Комиссия в составе сотрудников кафедры фармацевтической технологии: зав. кафедрой фармацевтической технологии, д. фарм. н., профессора С.В. Первушкина, доцента, к. фарм. н. Л.Д. Климовой, старшего преподавателя, к. фарм. н. О.В. Бер подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенюта К.Н., посвященного изучению химического состава и обоснованию использования в медицине лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского, в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, а также в научно-исследовательской работе в области технологических исследований по производству лекарственных препаратов на основе антрагликозидов.

Используемые при этом результаты изучения химического состава, а также разработанные подходы к стандартизации сырья и лекарственных препаратов являются методической и методологической основой для научного обоснования ресурсосберегающих технологий.


Члены комиссии:  
Зав. кафедрой фармацевтической технологии,  
д. фарм. н., профессор

 С.В. ПЕРВУШКИН

Доцент кафедры фармацевтической технологии,  
к. фарм. н., доцент

 Л.Д. КЛИМОВА

Старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии,  
к. фарм. н.

 О.В. БЕР



**Приложение 8 – Акт внедрения ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения»**

«Утверждаю»

Директор ГАУЗ «ОИМЦ»

Е.С. Бурасова

«    »    2019 г.

**АКТ**

о внедрении результатов диссертационной работы Семенюта Ксении Николаевны «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» (ГАУЗ «ОИМЦ»)

Комиссия в составе сотрудников ГАУЗ «Оренбургский информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения»: заведующий контрольно-аналитической испытательной лабораторией Морозова С.В., начальник отдела физико-химического анализа и испытаний лекарственных средств Маврина В.А., провизор-аналитик Минкина В.Л. подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенюта К.Н., посвященного фармакогностическому изучению сырья и лекарственных препаратов ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы предприятия. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ и ИК-, УФ-спектроскопии. Методики определения подлинности сырья и препаратов ревеня тангутского и ревеня лекарственного, а также методики определения суммы антраценпроизводных и суммы дубильных веществ воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Семенюта К.Н., будет способствовать повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

**Члены комиссии:**

Заведующий контрольно-аналитической  
испытательной лабораторией ГАУЗ «ОИМЦ»



С.В. МОРОЗОВА

Начальник отдела физико-химического анализа  
и испытаний лекарственных средств ГАУЗ «ОИМЦ»



В.А. МАВРИНА

Провизор-аналитик ГАУЗ «ОИМЦ»



В.Л. МИНКИНА

## Приложение 9 – Акт внедрения ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»

«Утверждаю»

Начальник ГБУЗ

«Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области»



О.В. Осипова

ноября 2019 г.

### АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Семенюта Ксении Николаевны «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* В.)» 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 Жнякиной Л.Е., провизора-аналитика Власовой Г.И., провизора-аналитика Мироновой Е.Е. подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенюта К.Н., посвященного фармакогностическому изучению сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского и ревеня лекарственного. Разработанные методики качественного и количественного анализа апробированы в процессе работы предприятия. В основе разработанных методик лежат методологические подходы, предусматривающие использование ТСХ и ИК-, УФ-спектроскопии. Методики определения подлинности сырья и препаратов ревеня тангутского и ревеня лекарственного, а также методики определения суммы антраценпроизводных и суммы дубильных веществ воспроизводимы и удобны в работе.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Семенюта К.Н., будет способствовать повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

**Члены комиссии:**

Заместитель начальника ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», кандидат фармацевтических наук

 Л.Е. ЖНЯКИНА

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

 Г.И. ВЛАСОВА

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

 Е.Е. МИРОНОВА

## Приложение 10 – Акт внедрения ЗАО «Самаралектравы»

«Утверждаю»

Самарский директор  
 ЗАО «Самаралектравы»  
 \_\_\_\_\_ Н.Д. Лужнов  
 \_\_\_\_\_ 2020 г.



### АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Семенюта Ксении Николаевны «Сравнительное фармакогностическое исследование корней ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) в ЗАО «Самаралектравы»

Комиссия в составе сотрудников ЗАО «Самаралектравы» зав. производством ЗАО «Самаралектравы» А.Н. Загорянского, главного инженера А.В. Никитенкова подтверждает использование материалов диссертационного исследования Семенюта К.Н., посвященного определению диагностических признаков, исследованию химического состава, обоснованию подходов к стандартизации, а также разработке методик качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L.) и ревеня лекарственного (*Rheum officinale* B.) в работе предприятия.

Таким образом, внедрение результатов диссертационного исследования Семенюта К.Н., будет способствовать повышению объективности стандартизации сырья и лекарственных препаратов, ревеня тангутского и ревеня лекарственного.

#### Члены комиссии:

Заведующий производством ЗАО «Самаралектравы»  А.Н. ЗАГОРЯНСКИЙ  
 Главный инженер ЗАО «Самаралектравы»  А.В. НИКИТЕНКОВ



**Приложение 11 – Патент на изобретение «Способ получения экстракта  
ревеня тангутского в капсулах»**

