

Выделение, идентификация и количественное определение антраценпроизводных методом ВЭЖХ-УФ в сырье некоторых представителей рода Щавель (*Rumex*) трех сроков вегетации

А. М. Полуянов^{1,2}✉, А. Ю. Соколова², Е. А. Малащенко^{1,2}, Е. В. Сергунова²,
Н. В. Бобкова^{2,3}

¹ ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА»), 117246, Россия, г. Москва, Научный пр., д. 20, стр. 3

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

³ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (МГУ имени М. В. Ломоносова), факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, 119991, Россия, г. Москва, Ломоносовский пр-т., д. 27, корп. 1

✉ Контактное лицо: Полуянов Андрей Михайлович. E-mail: a.poluyanov@cpha.ru

ORCID: А. М. Полуянов – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>; А. Ю. Соколова – <https://orcid.org/0000-0002-7500-5880>; Е. А. Малащенко – <https://orcid.org/0000-0002-4183-7822>;
Е. В. Сергунова – <https://orcid.org/0000-0002-7194-5525>; Н. В. Бобкова – <https://orcid.org/0000-0003-1591-4019>.

Статья поступила: 06.10.2022

Статья принята в печать: 00.11.2022

Статья опубликована: 25.11.2022

Резюме

Введение. Создание новых высокоэффективных лекарственных препаратов требует тщательного изучения метаболома растительного сырья и проведения сравнительного фитохимического изучения подземных органов, повсеместно распространенных на территории России близкородственных видов Щавелей, таких как: Щ. курчавый, Щ. туполистный и Щ. водный. Отмечено, что они обладают сходным с официальным щавелем конским метаболомом, что в свою очередь подтверждает потенциал изучения данных видов. Научный и практический интерес представляет изучение динамики накопления ведущей группы биологически активных веществ – антраценпроизводных в зависимости от фенологических фаз развития растения.

Цель. Выделение, идентификация и количественное определение антраценпроизводных в подземных органах Щ. конского, Щ. курчавого, Щ. туполистного и Щ. водного, заготовленных в три различные вегетации.

Материалы и методы. В качестве анализируемых растворов использовались извлечения из подземных органов изучаемых растений полученные по методике из фармакопейной статьи на щавель конский. Растворы анализировали на хроматографе Nexera-i LC-2040 (Shimadzu Corporation, Япония), оснащенный термостатом колонок и образцов, дегазатором и автосамплером по индивидуально подобранному градиенту элюирования подвижной фазы (0,1%-й раствор ортофосфорной кислоты/ацетонитрил). Обработку первичных данных проводили при помощи программного обеспечения LabSolutions Single LC (Shimadzu Corporation, Япония). Соединения из группы антраценпроизводных идентифицировали по временам удерживания. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора с динамическим изменением длины волны поглощения в ходе анализа от 365 ± 2 нм до 254 ± 2 нм.

Результаты и обсуждение. Были получены спирто-водные извлечения из подземных органов Щавелей. Подобран градиент элюирования для одновременного определения 5-ти антраценпроизводных со временем единичного анализа 40 минут. Данные хроматографические условия позволили идентифицировать и определить количественное содержание эмодина, 8-О-β-D-глюкозида эмодина и хризофановой кислоты в подземных органах Щ. конского, Щ. водного, Щ. курчавого и Щ. туполистного трёх различных вегетаций. Гликозиды антраценпроизводных: глюкофрангулин А и франгулин А в изучаемых объектах обнаружены не были.

Заключение. Из подземных органов Щ. конского, Щ. водного, Щ. курчавого и Щ. туполистного были выделены антраценпроизводные, разработана методика количественного определения антраценпроизводных в спирто-водных извлечениях, обнаружены и количественно определены эмодин, 8-О-β-D-глюкозид эмодина и хризофановая кислота.

Ключевые слова: антраценпроизводные, эмодин, ВЭЖХ-УФ, корни, *R. confertus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius*, *R. aquaticus*

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. М. Полуянов и Н. В. Бобкова придумали и разработали эксперимент. А. М. Полуянов и А. Ю. Соколова провели исследования методом ВЭЖХ-УФ. А. М. Полуянов, А. Ю. Соколова, Е. А. Малащенко и Е. В. Сергунова участвовали в обработке данных. А. М. Полуянов, Е. А. Малащенко и Н. В. Бобкова участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Полуянов А. М., Соколова А. Ю., Малащенко Е. А., Сергунова Е. В., Бобкова Н. В. Выделение, идентификация и количественное определение антраценпроизводных методом ВЭЖХ-УФ в сырье некоторых представителей рода Щавель (*Rumex*) трех сроков вегетации. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):216–225. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-216-225>

Isolation, Identification and Quantitative Determination of Anthracene Derivatives by HPLC-UV Method in the Raw Materials of Some Representatives of the Genus *Rumex* of Three Vegetation Times

Andrey M. Poluyanov^{1,2}✉, Anna Yu. Sokolova², Evgeniya A. Malashenko^{1,2},
Ekaterina V. Sergunova², Natalia V. Bobkova^{2,3}

© Полуянов А. М., Соколова А. Ю., Малащенко Е. А., Сергунова Е. В., Бобкова Н. В., 2022

© Poluyanov A. M., Sokolova A. Yu., Malashenko E. A., Sergunova E. V., Bobkova N. V., 2022

¹ LLC "CPHA", 20/3, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia

² I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

³ Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine of Lomonosov Moscow State University, 27/1, Lomonosovskiy ave., Moscow, 119991, Russia

✉ Corresponding author: Andrey M. Poluyanov. E-mail: a.poluyanov@cpha.ru

ORCID: Andrey M. Poluyanov – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>; Anna Yu. Sokolova – <https://orcid.org/0000-0002-7500-5880>;

Evgeniya A. Malashenko – <https://orcid.org/0000-0002-4183-7822>; Ekaterina V. Sergunova – <https://orcid.org/0000-0002-7194-5525>;

Natalia V. Bobkova – <https://orcid.org/0000-0003-1591-4019>.

Received: 06.10.2022

Revised: 00.11.2022

Published: 25.11.2022

Abstract

Introduction. The creation of new highly effective drugs requires a thorough study of the metabolome of plant raw materials and a comparative phytochemical study of the underground organs of closely related species of *Rumex*, such as: *R. crispus*, *R. obtusifolius* and *R. aquaticus*, ubiquitous in Russia. It was noted that they have a metabolome like the official *R. confertus*, which in turn confirms the potential for studying these species. Of scientific and practical interest is the study of the dynamics of accumulation of the leading group of biologically active substances – anthracene derivatives, depending on the phenological phases of plant development.

Aim. Identify and quantify anthracene derivatives in the underground organs of *R. confertus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius* and *R. aquaticus* harvested in three different phases of vegetation.

Materials and methods. Extracts from the underground organs of the studied plants obtained according to the method from the pharmacopoeial article on *R. confertus* were used as the analyzed solutions. The solutions were analyzed on a Nexera-i LC-2040 chromatograph (Shimadzu Corporation, Japan) equipped with a column and sample thermostat, a degasser, and an autosampler using an individually selected mobile phase elution gradient (0.1 % phosphoric acid/acetonitrile solution). Primary data were processed using LabSolutions Single LC software (Shimadzu Corporation, Japan). Compounds from the group of anthracene derivatives were identified by retention times. Detection was carried out using a UV detector with a dynamic change in the absorption wavelength during analysis from 365 ± 2 nm to 254 ± 2 nm.

Results and discussion. Alcohol-water extracts were obtained from the underground organs of *Rumex*. An elution gradient was selected for the simultaneous determination of 5 anthracene derivatives with a single analysis time of 40 minutes. These chromatographic conditions made it possible to identify and quantify the content of emodin, 8-O- β -D-glucoside of emodin, and chrysophanol in the underground organs of *R. confertus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius* and *R. aquaticus* in three different vegetations. Glycosides of anthracene derivatives: glucofrangulin A and frangulin A were not found in the studied objects.

Conclusion. Anthracene derivatives were isolated from the underground organs of different vegetations, a method for the quantitative determination of anthracene derivatives in alcohol-water extracts was developed, emodin, 8-O- β -D-glucoside of emodin and chrysophanol were found and quantified.

Keywords: anthracene derivatives, emodin, HPLC-UV, roots, *R. confertus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius*, *R. aquaticus*

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Andrey M. Poluyanov and Natalia V. Bobkova invented and designed the experiment. Andrey M. Poluyanov and Anna Yu. Sokolova analyze on HPLC-UV. Andrey M. Poluyanov, Anna Yu. Sokolova, Evgeniya A. Malashenko and Ekaterina V. Sergunova participated in data processing. Andrey M. Poluyanov, Evgeniya A. Malashenko and Natalia V. Bobkova participated in writing the text of the article. All authors participated in discussion of the results

For citation: Poluyanov A. M., Sokolova A. Yu., Malashenko E. A., Sergunova E. V., Bobkova N. V. Isolation, identification and quantitative determination of anthracene derivatives by HPLC-UV method in the raw materials of some representatives of the genus *Rumex* of three vegetation times. *Drug development & registration*. 2022;11(4):216–225. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-216-225>

ВВЕДЕНИЕ

Основная задача современной фармакогнозии – поиск новых источников биологически активных веществ (БАВ) с целью расширения сырьевой базы, что в свою очередь позволит создать высокоэффективные лекарственные препараты отечественного производства.

Повсеместно распространенные в нашей стране представители рода Щавель (*Rumex*) обладают набором различных групп БАВ: антраценпроизводные (АП), дубильные вещества, фитоалексины, флавоноиды, органические кислоты, сапонины, аминокислоты и полисахариды [1, 2], что потенциально обуславливает широкий спектр фармакологического действия [3].

В настоящее время в Российской Федерации разрешен к медицинскому применению лишь один пред-

ставитель рода Щавель: Щавель (далее Щ.) конский (*Rumex confertus* Willd.), достаточно хорошо изучен его химический состав [4]. В фармакопейной статье для Щ. конского в сырье – подземных органах указана методика для количественного определения суммы АП в пересчете на 8-O- β -D-глюкозид эмодина методом спектрофотометрии (СФМ).

Особый интерес представляет сравнительное фитохимическое изучение подземных органов близкородственных видов Щавелей, таких как: Щ. курчавый, Щ. туполистный и Щ. водный. Отмечено, что они обладают сходным метаболомом, что в свою очередь подтверждает потенциал изучения данных видов [5, 6].

В литературных источниках сообщается о наличии в метаболоме изучаемых щавелей таких веществ гликозидной структуры из группы АП, как: хризофанол-1-O- β -D-глюкозид, 8-O- β -D-глюкозид эмодина,

франгулин А, глюкофрангулин А [7, 8]. Агликонами для этих веществ являются хризофановая кислота и эмодин. В статьях преимущественно преобладает количественный анализ БАВ в цветках, плодах и листьях. Информация о определении количественного содержания антраценпроизводных современными инструментальными методами в подземных органах рассматриваемых видов отсутствует, за исключением статьи [9], где указано общее содержание АП в метанольных экстрактах из подземных органов у Щ. конского 163,2 мг/г, Щ. курчавого 25,22 мг/г и Щ. туполистного 14,71 мг/г, где в качестве метода для оценки количественного содержания использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ). Данный метод также часто используется в анализе других морфологических групп [10, 11].

Научный и практический интерес представляет изучение динамики накопления биологически активных веществ в зависимости от фенологических фаз развития растения. Согласно нормативной документации для подземных органов лекарственных растений (ОФС.1.5.1.0006.15 «Корни, корневища, луковичи, клубни, клубнелуковичи») лекарственное растительное сырье заготавливают в фазу увядания надземной части. Количественное содержание агликонов АП зависит от жизненного цикла растения и фазы вегетации [12].

Целью данного исследования является выделение, идентификация и количественное определение АП в подземных органах Щ. конского, Щ. курчавого, Щ. туполистного, Щ. водного, заготовленных в различные фазы вегетации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы и растворы

В процессе исследования были использованы следующие реактивы: ацетонитрил (класс «for HPLC», PanReac, Испания); муравьиная кислота (класс «for analysis», PanReac, Испания); этанол 95%-й (класс «х.ч.», ООО ТД «ХИММЕД», Россия); вода деминерализованная (класс чистоты I). Для приготовления растворов стандартных образцов были использованы следующие субстанции: эмодин, субстанция порошок, содержание эмолина 98%-го (HPLC, Sigma-Aldrich, США, серия 043K35051, годен до 06.2028); хризофановая кислота, субстанция порошок, содержание хризофановой кислоты 98,3%-й (Supelco Inc., США, серия BCCG0998, годен до 05.2024); 8-О-β-D-глюкозид эмолина, субстанция порошок, содержание глюкозида эмолина 92,04%-го (PhytoLab GmbH & Co. KG, Германия, серия 120413929, годен до 09.2026); глюкофрангулин А, субстанция порошок, содержание глюкофрангулина А 98,72%-го (PhytoLab GmbH & Co. KG, Германия, серия 111810966, годен до 08.2024); франгулин А, субстанция порошок, содержание франгулина А 98,87 %-го (PhytoLab GmbH & Co. KG, Германия, серия 114031178, годен до 12.2024).

Исходные стандартные растворы готовили путем растворения точной навески субстанции в этаноле 95%-м класса «х.ч.». Рабочие стандартные растворы были приготовлены путем разведения аликвоты исходного стандартного раствора тем же растворителем.

Оборудование

Определение влажности измельченных подземных органов проводили на приборе анализаторе влагосодержания OHAUS MB27 (OHAUS, США). Хроматографическое разделение и детектирование проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе Nexera-i LC-2040 (Shimadzu Corporation, Япония), оснащенном термостатом колонок и образцов, дегазатором, автосамплером и ультрафиолетовым детектором. Обработку первичных данных проводили при помощи программного обеспечения LabSolutions Single LC (Shimadzu Corporation, Япония).

Условия хроматографического разделения и детектирования

Хроматографическая колонка: Grace HPLC Column Platinum C8-EPS, 250 × 4.6 mm, 5mm (Grace, США).

Предколонка: Phenomenex SecurityGuard™ Cartridges Widespore C18, 4 × 3,0 mm.

Температура термостата: 27 °C.

Подвижная фаза: 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде (по объему) (элюент А); 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (по объему) (элюент В).

Скорость потока подвижной фазы: 1,0 мл/мин.

Градиент состава подвижной фазы представлен на рисунке 1.

Объем вводимой пробы: 10 мкл.

Время удерживания 8-О-β-D-глюкозида эмолина: около 16,6 мин.

Время удерживания эмолина: около 28,5 мин.

Время удерживания хризофановой кислоты: около 29,5 мин.

Время регистрации хроматограммы: 0,0–40,0 мин.

Детектирование: УФ-детектор с динамическим изменением длины волны поглощения в ходе анализа от 365 ± 2 нм до 254 ± 2 нм, представлено на рисунке 1.

Объекты исследования

Для данного исследования были собраны подземные органы следующих видов: Щ. конский – *Rumex confertus* Willd., Щ. водный – *Rumex aquaticus* L., Щ. курчавый – *Rumex crispus* L., щавель туполистный – *Rumex obtusifolius* L., заготовленные в период весеннего отрастания (апрель–май 2022 года) – «отрастание», в период цветения (июнь–июль 2021 года) – «цветение», в период увядания надземной части (октябрь 2021 года) – «увядание». В таблице 1 представлены исследуемые объекты, а также место и дата их заготовки.

Собранные подземные органы были промыты от земли проточной холодной водой. Перед сушкой наиболее массивные подземные органы были разде-

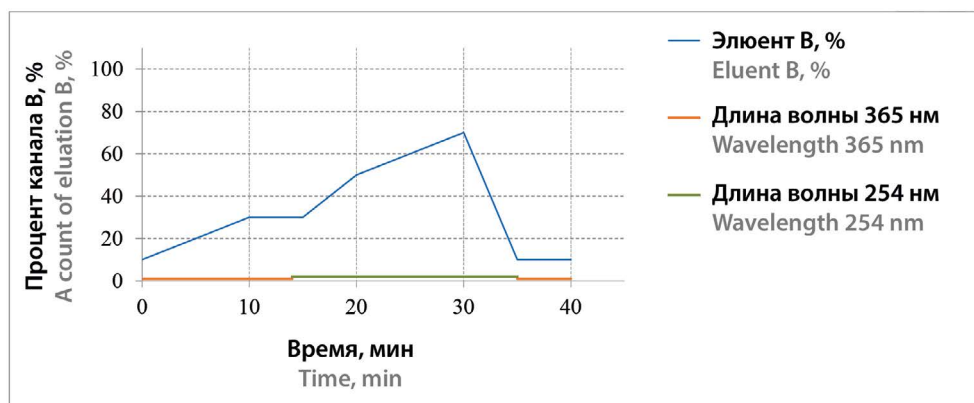


Рисунок 1. Градиент состава подвижной фазы

Figure 1. Elution's gradient

Таблица 1. Исследуемые объекты

Table 1. Investigated objects

Объект анализа Object	Место произрастания Location of growth	Фаза вегетации, срок заготовки Vegetation phase, harvesting period	
Щ. конский <i>Rumex confertus</i> Willd.	Поселение Роговское, Москва, Россия Координаты: 55.245626, 37.009576 Rogovskoye, Moscow, Russia Coordinates: 55.245626, 37.009576	отрастание, апрель 2022 Regrowth, April 2022	
		цветение, июнь 2021 flowering, June 2021	
		увядание, октябрь 2021 dieback, October 2021	
Щ. курчавый <i>Rumex crispus</i> L.	Поселение Краснопахорское Москва, Россия Координаты: 55.384859, 37.225441 Krasnopakhorskoye settlement Moscow, Russia Coordinates: 55.384859, 37.225441	отрастание, апрель 2022 regrowth, April 2022	
		цветение, июнь 2021 flowering, June 2021	
		увядание, октябрь 2021 dieback, October 2021	
Щ. туполистный <i>Rumex obtusifolius</i> L.	Поселение Роговское, Москва, Россия Координаты: 55.245626, 37.009576 Rogovskoye settlement, Moscow, Russia Coordinates: 55.245626, 37.009576	отрастание, апрель 2022 regrowth, April 2022	
		цветение, июнь 2021 flowering, June 2021	
		увядание, октябрь 2021 dieback, October 2021	
Щ. водный <i>Rumex aquaticus</i> L.	Поселение Роговское, Москва, Россия Координаты: 55.245626, 37.009576 Rogovskoye settlement, Moscow, Russia Coordinates: 55.245626, 37.009576	отрастание, апрель 2022 regrowth, April 2022	
		цветение, июль 2021 flowering, July 2021	
		увядание, октябрь 2021 dieback, October 2021	

лены вдоль на две части. Сушка производилась при комнатной температуре в хорошо-проветриваемом помещении, без доступа солнечных лучей. Влажность высушенного сырья была определена с помощью влагомера и не превышала 13 %.

Пробоподготовка

Из сырья были получены спиртовые извлечения по методике количественного определения из фармакопейной статьи для сырья Щавеля конского корня (ФС.2.5.0052.15).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка методики

Для идентификации и определения количественного содержания БАВ был выбран метод ВЭЖХ-УФ. Данный метод является более селективным и чувствительным, чем СФМ, а также позволяет обнаружить и количественно определить соединения рассматриваемой группы БАВ.

Условия хроматографического разделения были подобраны экспериментально, опираясь на статьи об

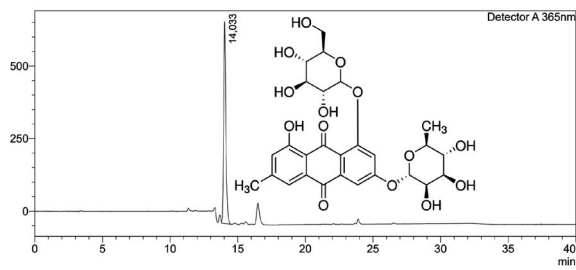
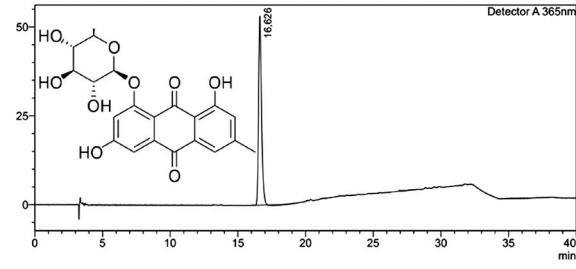
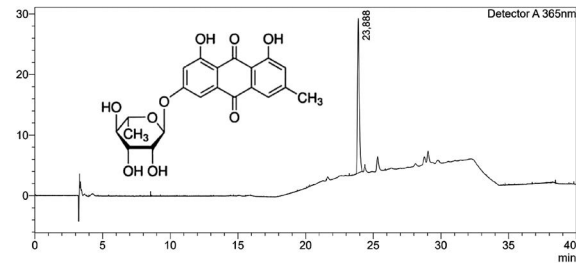
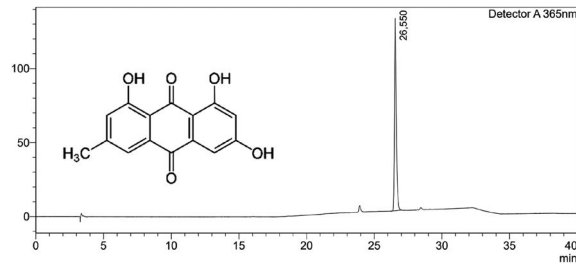
анализе в растительном сырье эмодина [13], хризофановой кислоты [14], франгулина А и глюкофрангулина А [15], затем доработаны под изучаемые объекты, из-за ряда особенностей: плохое разделение компонентов различной природы (гликозиды и агликоны) в рамках одной методики, близкие значения липофильности большинства АП ($\log P$ от 3,5 до 2) и присутствие множества других компонентов, содержащихся в растительном сырье, которые влияли на аналиты и искажали форму пиков. Анализ франгулина А и глюкофрангулина методом ВЭЖХ-УФ в изучаемых объектах проводился впервые.

Для детектирования исследуемых веществ использовался ультрафиолетовый детектор, который регистрировал вещества за счет наличия хромофорных групп в их строении (таблица 2).

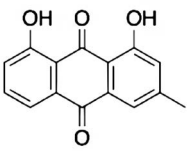
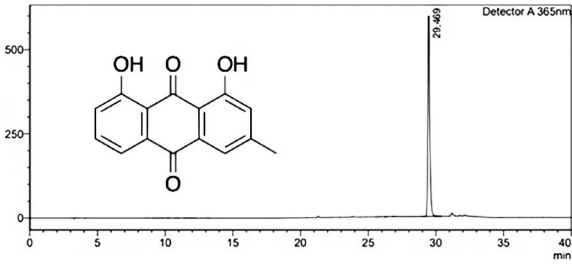
Присутствие 8-О- β -D-глюкозида эмодина, хризофановой кислоты и эмодина во всех проанализированных пробах было подтверждено. По окончании анализа проводилось измерение площадей пиков двух агликонов: эмодина и хризофановой кислоты, а также одного гликозида: 8-О- β -D-глюкозида эмодина в растворах соответствующих стандартных образцов и в извлечениях из изучаемых объектов.

Таблица 2. Физико-химические свойства анализируемых веществ

Table 2. Physical and chemical properties of the analyzed substances

Соединение Compound	$\log P$	$\log S$	Время удерживания, мин Retention time, min	Структурная формула Structural formula
Глюкофрангулин А Glucofrangulin A	-0,4	-2,2	14,03	
8-О- β -D-глюкозид эмодина 8-O- β -D-emodin glucoside	0,9	-2,3	16,63	
Франгулин А Frangulin A	1,4	-2,4	23,86	
Эмодин Emodin	2,7	-3.09	26,55	

Окончание таблицы 2

Соединение Compound	log P	log S	Время удерживания, мин Retention time, min	Структурная формула Structural formula
Хризофановая кислота Chrysophanic acid	3.1	-3.31	29,47	 

В проанализированных объектах отсутствовал пик вещества с соответствующим стандартному образцу временем удерживания для франгулина А и глюко-франгулина, что позволяет утверждать, что данные

вещества в испытуемых объектах не обнаружены. На рисунке 2 приведены хроматограммы извлечений из подземных органов изучаемых объектов различных вегетаций.

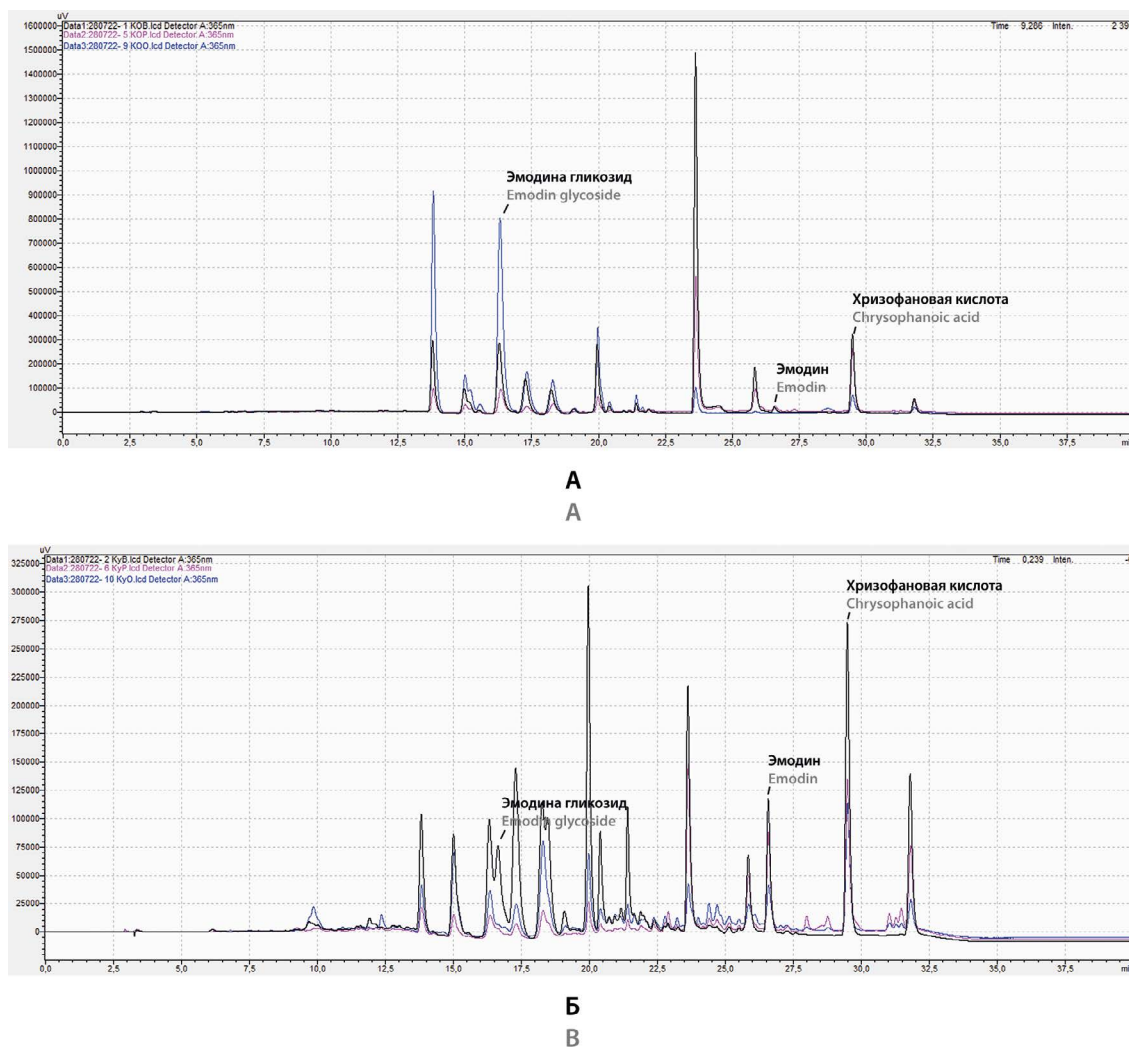
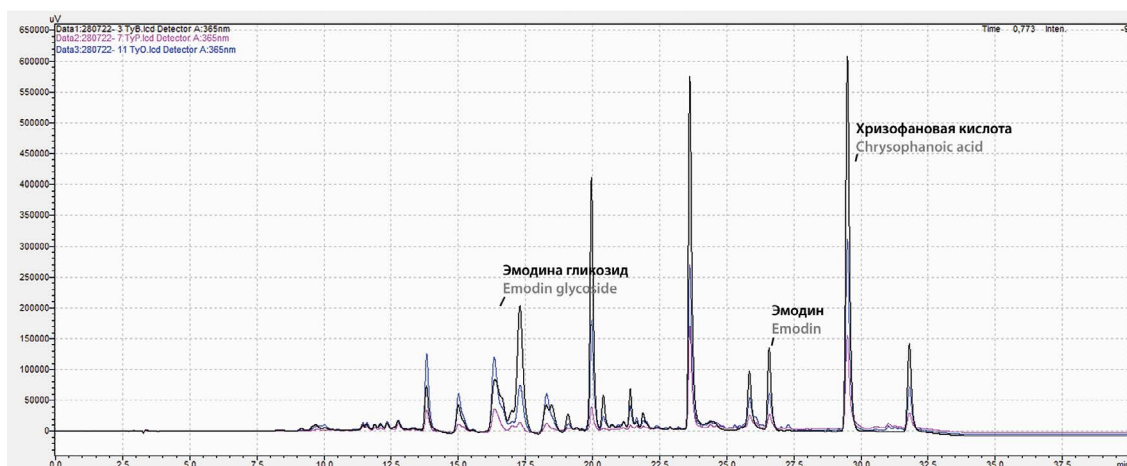


Рисунок 2. Хроматограммы спирто-водных извлечений.

Черная линия – фаза цветения; розовая – фаза отмирания; синяя – фаза отрастания

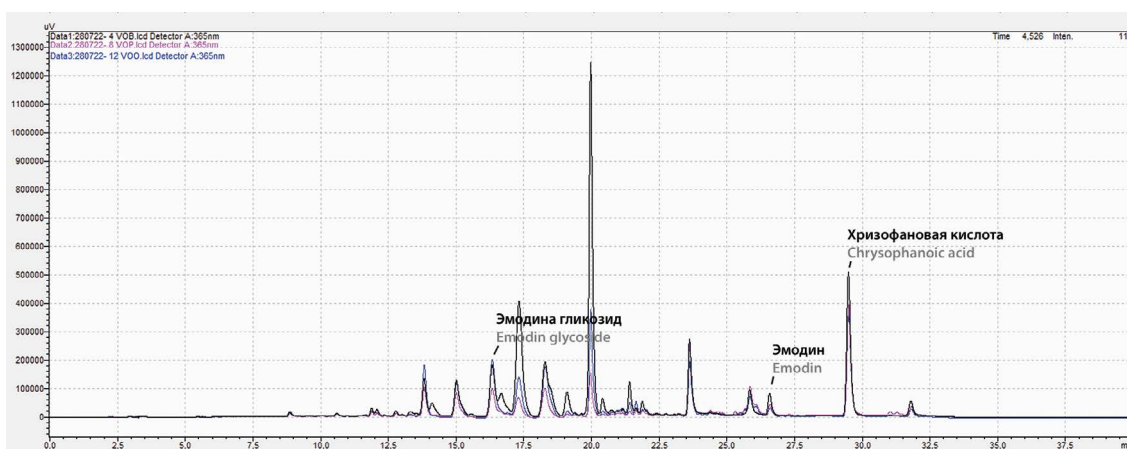
Figure 2. Chromatograms of alcohol-water extracts.

The black line is the flowering phase; the pink line is the end of the growing season; the blue line is the beginning of the growing season



В

С



Г

Д

Продолжение рисунка 2

Continuation of Figure 2

Для разработанной методики была проведена проверка пригодности хроматографической системы и определены значения параметров пригодности (таблица 3).

Результаты статистической обработки проведенных измерений показывают, что относительная ошибка единичного определения при доверительной вероятности 0,95 не превышает $\pm 3,48\%$ (таблица 4).

Для всех изучаемых объектов рассчитаны значения количественного содержания эмодаина, хризофановой кислоты и 8-О-β-D-глюкозида эмодаина в пересчете на абсолютно сухое сырье, в % и представленные в таблице 5.

Лидирующим пиком в области хроматограммы, соответствующей времени удерживания агликонов АП зачастую был пик хризофановой кислоты. Наибольшее содержание хризофановой кислоты отмечено у Щ. туполистного в период цветения. Также стоит отметить наибольшее содержание хризофановой кислоты в период цветения у всех 4 видов.

Таблица 3. Параметры пригодности хроматографической системы

Table 3. Chromatographic system suitability parameters.

Соединение Compound	Время удерживания, мин Retention time, min	Разрешение Resolution	Количество теоретических тарелок Number theoretical plates	Коэффициент симметрии Symmetry factor
8-О-β-D-глюкозид эмодина 8-O-β-D-glucoside emodin	16,62	–	33609	1,29
Эмодин Emodin	26,59	34,49	199106	1,06
Хризофановая кислота Chrysophanic acid	29,50	11,93	224100	1,14

Таблица 4. Метрологические характеристики методики количественного определения 8-О-β-D-глюкозид эмодина, эмодина и хризофановой кислоты в спирто-водных извлечениях во время цветения ($n = 5$, $f = 4$, $P = 95\%$, $T(f, P) = 2,7764$)

Table 4. Metrological characteristics of the procedure for the quantitative determination of 8-O-β-D-glucoside of emodin, emodin and chrysophanic acid in alcohol-water extracts during flowering ($n = 5$, $f = 4$, $P = 95\%$, $T(f, P) = 2,7764$)

Вид Specie	Соединение Compound	$\bar{X}$, %	S_x^2	S_x	$S_{\bar{x}}$	ΔX	E, %
Щ. конский <i>R. confertus</i>	8-о-β-D-глюкозид эмодина 8-O-β-D-glucoside emodin	1,327	$1,48 \times 10^{-4}$	$1,22 \times 10^{-2}$	$5,45 \times 10^{-3}$	$1,51 \times 10^{-3}$	1,14
	Эмодин Emodin	0,029	$6,44 \times 10^{-7}$	$8,02 \times 10^{-4}$	$3,59 \times 10^{-4}$	$9,96 \times 10^{-4}$	3,48
	Хризофановая кислота Chrysophanic acid	0,321	$2,34 \times 10^{-5}$	$4,83 \times 10^{-3}$	$2,16 \times 10^{-3}$	$6,00 \times 10^{-3}$	1,87
Щ. курчавый <i>R. crispus</i>	8-о-β-D-глюкозид эмодина 8-O-β-D-glucoside emodin	0,451	$1,73 \times 10^{-6}$	$1,32 \times 10^{-3}$	$5,88 \times 10^{-4}$	$1,63 \times 10^{-3}$	0,36
	Эмодин Emodin	0,161	$1,22 \times 10^{-5}$	$3,50 \times 10^{-3}$	$1,56 \times 10^{-3}$	$4,34 \times 10^{-3}$	2,69
	Хризофановая кислота Chrysophanic acid	0,281	$2,40 \times 10^{-6}$	$1,55 \times 10^{-3}$	$6,93 \times 10^{-4}$	$1,92 \times 10^{-3}$	0,69
Щ. туполистный <i>R. obtusifolius</i>	8-о-β-D-глюкозид эмодина 8-O-β-D-glucoside emodin	0,187	$1,02 \times 10^{-5}$	$3,20 \times 10^{-3}$	$1,43 \times 10^{-3}$	$3,97 \times 10^{-3}$	2,13
	Эмодин Emodin	0,180	$1,04 \times 10^{-6}$	$1,02 \times 10^{-3}$	$4,56 \times 10^{-4}$	$1,27 \times 10^{-3}$	0,71
	Хризофановая кислота Chrysophanic acid	0,622	$4,88 \times 10^{-5}$	$6,99 \times 10^{-3}$	$3,12 \times 10^{-3}$	$8,67 \times 10^{-3}$	1,40
Щ. водный <i>R. aquaticus</i>	8-о-β-D-глюкозид эмодина 8-O-β-D-glucoside emodin	0,792	$3,56 \times 10^{-5}$	$5,97 \times 10^{-3}$	$2,67 \times 10^{-3}$	$7,41 \times 10^{-3}$	0,94
	Эмодин Emodin	0,102	$1,44 \times 10^{-6}$	$1,20 \times 10^{-3}$	$5,37 \times 10^{-4}$	$1,49 \times 10^{-3}$	1,47
	Хризофановая кислота Chrysophanic acid	0,531	$8,24 \times 10^{-6}$	$2,87 \times 10^{-3}$	$1,28 \times 10^{-3}$	$3,56 \times 10^{-3}$	0,67

Примечание. $\bar{X}$, % – среднее значение; S_x^2 – дисперсия; S_x – стандартное отклонение; $S_{\bar{x}}$ – стандартное отклонение среднего результата; ΔX – доверительный интервал; E, % – относительная ошибка определения.

Note. $\bar{X}$, % – mean value; S_x^2 – variance; S_x – standard deviation; $S_{\bar{x}}$ – standard deviation of the mean result; ΔX – confidence interval; E, % – relative error of determination.

Наибольшее содержание эмодина отмечено у Щ. туполистного во время цветения, наименьшее у Щ. конского в период отрастания.

8-О-β-D-глюкозид эмодина был обнаружен во всех объектах, его количественное содержание в % приведено на рисунке 3. Из диаграммы видно отсутствие корреляции фаза вегетации – содержание 8-О-β-D-глюкозида эмодина между разными видами.

Для каждой вегетации было подсчитано суммарное содержание обнаруженных АП в каждом виде (таблица 6).

Как видно из таблицы, наибольшее содержание суммы АП установлено у Щ. конского в фазе весеннего отрастания, наименьшее – у Щ. курчавого конца вегетации. Интересно отличие Щ. курчавого от других изучаемых объектов: у него наблюдается большее содержание веществ в период цветения. У всех остальных видов присутствует тенденция снижения содержания АП от фазы отрастания к фазе увядания.

Эта информация дает основание полагать, что помимо щавеля конского большую перспективу представляет изучение щавеля водного *Rumex aquaticus* L., щавеля курчавого – *Rumex crispus* L., щавеля туполистного – *Rumex obtusifolius* L., исходя из полученных данных

о содержании хризофановой кислоты, эмодина и его гликозида. Отмечено значительно большее содержание каждого вещества в период цветения для большинства растений. Полученные данные противоречат принятым нормам заготовки сырья, так как официальное сырье корни Щавеля конского заготавливаются осенью или весной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках исследования Щ. конского – *Rumex confertus* L., Щ. водного – *Rumex aquaticus* L., Щ. курчавого – *Rumex crispus* L., Щ. туполистного – *Rumex obtusifolius* L. трех различных сроков вегетации была апробирована методика выделения антраценпроизводных по ФС для Щ. конского, разработана методика количественного определения АП в спирто-водных извлечениях позволяющая объективно и достоверно определять присутствие доминирующей группы БАВ – антраценпроизводные. Были обнаружены и количественно определены эмодин, 8-О-β-D-глюкозид эмодина и хризофановая кислота во всех изучаемых объектах, проанализирована динамика их накопления в зависимости от фазы вегетации.

Таблица 5. Количественное содержание эмодина, хризофановой кислоты и 8-О-β-D-глюкозид эмодина
Table 5. The quantitative content of emodin, chrysophanoic acid and emodin 8-O-β-D-glucoside

Фаза вегетации Vegetation phase	Содержание эмодина, в % The content of emodin, in %			
	Щ. конский <i>R. confertus</i>	Щ. курчавый <i>R. crispus</i>	Щ. туполистный <i>R. obtusifolius</i>	Щ. водный <i>R. aquaticus</i>
Весеннее отрастание Spring regrowth	0,002 ± 0,001 %	0,054 ± 0,002 %	0,080 ± 0,002 %	0,040 ± 0,001 %
Цветение Flowering	0,029 ± 0,001 %	0,161 ± 0,004 %	0,180 ± 0,001 %	0,102 ± 0,001 %
Отмирание надземной части Overhead part dieback	0,028 ± 0,001 %	0,119 ± 0,001 %	0,033 ± 0,001 %	0,043 ± 0,001 %
Содержание хризофановой кислоты, в % The content of chrysophanoic acid, in %				
Весеннее отрастание Spring regrowth	0,097 ± 0,002	0,119 ± 0,003	0,334 ± 0,002	0,403 ± 0,010
Цветение Flowering	0,321 ± 0,005	0,281 ± 0,002	0,622 ± 0,007	0,531 ± 0,003
Отмирание надземной части Overhead part dieback	0,162 ± 0,001	0,087 ± 0,001	0,100 ± 0,001	0,236 ± 0,001
Содержание 8-о-β-d-глюкозида эмодина, в % The content of 8-o-β-d-glucoside emodin, in %				
Весеннее отрастание Spring regrowth	3,732 ± 0,022	0,169 ± 0,001	0,670 ± 0,016	0,907 ± 0,003
Цветение Flowering	1,327 ± 0,010	0,451 ± 0,001	0,187 ± 0,003	0,792 ± 0,006
Отмирание надземной части Overhead part dieback	0,453 ± 0,002	0,063 ± 0,001	0,239 ± 0,003	0,498 ± 0,002

Примечание. Значение процентного содержания указано, как среднее арифметическое ± стандартное отклонение. Approx.
Note. The percentage value is indicated as the arithmetic mean ± standard deviation.

Таблица 6. Содержание суммы определенных АП, в %
Table 6. The content of the amount of certain AP, in %

Фаза вегетации Vegetation phase	Щ. конский, % <i>R. confertus</i> , %	Щ. курчавый, % <i>R. crispus</i> , %	Щ. туполистный, % <i>R. obtusifolius</i> , %	Щ. водный, % <i>R. aquaticus</i> , %
Весеннее отрастание Spring regrowth	3,901	0,342	1,084	1,350
Цветение Flowering	1,677	0,893	0,989	1,425
Отмирание надземной части Overhead part dieback	0,643	0,269	0,372	0,777

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Prakash Mishra A., Sharifi-Rad M., Shariati M. A., Mabkhot Y. N., Al-Showiman S. S., Rauf A., Salehi B., Župunski M., Sharifi-Rad M., Gusain P., Sharifi-Rad J., Suleria H. A. R., Iriti M. Bioactive compounds and health benefits of edible Rumex species-A review. *Cellular and Molecular Biology*. 2018;64(8):27–34. DOI: 10.14715/cmb/2018.64.8.5.

2. Salama S. A., AL-Faifi Z. E., Masood M. F., El-Amier Y. A. Investigation and Biological Assessment of Rumex vesicarius L. Extract: Characterization of the Chemical Components and Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, and Anti-Dengue Vector Activity. *Molecules*. 2022;27(10):3177. DOI: 10.3390/molecules27103177.

3. Wang Q., Yang J. B., Wang Y., Li Y. Y., Wen H. R., Zhang Y. J., Ma S. C. Toxicokinetics of emodin-8-O-β-D-glucoside in rats in vivo. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2022;47(15):4214–4220. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20220516.701.

4. Berillo D., Kozhahmetova M., Lebedeva L. Overview of the Biological Activity of Anthraquinones and Flavanoids of the Plant Rumex Species. *Molecules*. 2022;27(4):1204. DOI: 10.3390/molecules27041204.

5. Li J.-J., Li Y.-X., Li N., Zhu H.-T., Wang D., Zhang Y.-J. The genus Rumex (Polygonaceae): an ethnobotanical, phytochemical and pharmacological review. *Nat. Prod. Bioprospect*. 2022;12(1):21. DOI: 10.1007/s13659-022-00346-z.

6. Feduraev P., Chupakhina G., Maslennikov P., Tacenko N., Skrypnik L. Variation in Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity of Different Plant Organs from Rumex crispus L. and Rumex obtusifolius L. at Different Growth Stages. *Antioxidants*. 2019;8(7):237. DOI: 10.3390/antiox8070237.

7. Demirezer Ö. L. Concentrations of Anthraquinone Glycosides of Rumex crispus during Different Vegetation Stages. *Zeitschrift für Naturforschung*. 1994;C(49):404-406. DOI: 10.1515/znc-1994-7-802.

8. Smolarz H. D., Wegiera M., Wianowska D., Dawidowicz A. L. Anthracene derivatives in some species of Rumex L. genus. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2011;76(2):103–108. DOI: 10.5586/asbp.2007.013.

9. Degano, Ilaria, Tognotti P., Kunzelman D., Modugno F. HPLC-DAD and HPLC-ESI-Q-ToF characterisation of early 20th century lake and organic pigments from Lefranc archives. *Heritage Science*. 2017;5(1):7. DOI: 10.1186/s40494-017-0120-y.



Рисунок 3. Диаграмма количественного содержания АП.

А – эмодин; **Б** – хризопановая кислота; **В** – 8-О-β-D-глюкозид эмодина

Figure. 3. Diagram of the quantitative content of AP.

A – emodin; **B** – chrysophanic acid; **C** – emodin 8-O-β-D-glucoside

- Feduraev P., Skrypnik L., Nebreeva S., Dzhobadze G., Vatagina A., Kalinina E., Pungin A., Maslennikov P., Riabova A., Krol O., Chupakhina G. Variability of Phenolic Compound Accumulation and Antioxidant Activity in Wild Plants of Some Rumex Species (Polygonaceae). *Antioxidants*. 2022;11(2):311. DOI: 10.3390/antiox11020311.
- Lin C., Chen M., Cai J., Lai J., Zheng Y., Yang X. Determination of Emodin, Chrysophanol, and Physcion by HPLC in the Chinese Medicine Rumex japonicus Houtt. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2012;31(6):909–913.
- Jan S., Kamili A.N., Parray J.A., Bedi Y.S. Differential response of terpenes and anthraquinones derivatives in Rumex dentatus and Lavandula officinalis to harsh winters across north-western. *Natural Product Research*. 2016;30(5):608–612. DOI: 10.1080/14786419.2015.1030404.
- Husein, Ahmad I., Ali-Shtayeh S.M., Waheed J.J., Zatar N.A., Al-Nurie M. A. High Performance Liquid Chromatographic Method for Quantitative Determination of Emodin in Rumex Cyprius Marb, Spectrophotometric Studies. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. 2014:217–222.
- Demirezer Ö.L. Rapid and Simple Biological Activity of Some Rumex Species; Evaluation of Bioguided Fractions of R. scutatus and Pure Compounds. *Zeitschrift für Naturforschung*. 1997;C52(9):461–462. DOI: 10.1515/znc-1997-9-1014.
- Rosenthal I., Wolfram E., Peter S., Meier B. Validated method for the analysis of frangulins A and B and glucofrangulins A and B using HPLC and UHPLC. *Journal of Natural Products*. 2014;77(3):489–496. DOI: 10.1021/np400736s.