



Оригинальная статья/Research article

Разработка параметров стандартизации сырья ряски малой (*Lemna minor* L.)

Л. Н. Никифоров¹, С. В. Кривошеков^{1*}, Н. Э. Коломиец¹, Т. В. Кадырова¹, Н. В. Исайкина¹,
Н. Ю. Абрамец¹, Е. А. Безверхняя^{1,2}, М. В. Белоусов^{1,2}

1 – ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России), 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

2 – ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ФГАОУ ВО НИ ТПУ), 634050, Россия, г. Томск, проспект Ленина, д. 30

*Контактное лицо: Кривошеков Сергей Владимирович. E-mail: ksv_tsu@mail.ru

ORCID: Л. Н. Никифоров – <https://orcid.org/0000-0003-1016-5856>; С. В. Кривошеков – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>; Н. Э. Коломиец – <https://orcid.org/0000-0003-0520-921X>;
Т. В. Кадырова – <https://orcid.org/0000-0002-2119-0259>; Н. В. Исайкина – <https://orcid.org/0000-0001-6440-8636>; Н. Ю. Абрамец – <https://orcid.org/0000-0002-6017-2133>;
Е. А. Безверхняя – <https://orcid.org/0000-0001-7699-5719>; М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Статья поступила: 19.11.2020. Статья принята в печать: 22.01.2021. Статья опубликована: 25.02.2021

Резюме

Введение. Ряска малая (*Lemna minor* L.) – вид подсемейства рясковые (*Lemnaceae* S. F. Gray), широко распространенный в водоемах России. Данные литературы подтверждают возможность заготовки значительных объемов этого сырья как дикорастущего, так и выращиваемого в условиях аквакультуры. Исследуемый вид характеризуется накоплением в процессе биосинтеза различных групп веществ с широким спектром биологической активности. Это обуславливает перспективу использования сырья ряски малой для разработки лекарственных средств и парафармацевтических продуктов, а изучение данного сырья, его стандартизация, определение требований к подлинности, качеству и безопасности являются актуальной задачей.

Цель. Установление макро- и микроскопических признаков сырья и разработка методик количественного определения основных групп биологически активных веществ (БАВ) для стандартизации сырья ряски малой.

Материалы и методы. Трава ряски малой (*Lemna minor* L.) была заготовлена в естественных местах обитания на территории Западной Сибири. В работе использованы макро-, микроскопические методы исследования, методы ВЭЖХ, УФ-спектрометрии.

Результаты и обсуждение. При изучении внешних (макроскопических) и микроскопических признаков установлены характерные диагностические признаки ряски малой, которые могут быть использованы для подтверждения подлинности сырья. Для оценки качества сырья разработана и валидирована методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Заключение. Изучение внешних (макроскопических) и микроскопических признаков позволило определить характерные диагностические признаки, позволяющие достоверно определять подлинность ряски малой. Разработана методика количественного определения полисахаридов гравиметрическим методом – прямым методом измерения количества вещества. Методика количественного определения фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту валидирована по показателям линейности, повторяемости, внутривариационной прецизионности и правильности. Установлены значения показателей для критериев «подлинность» и «количественное определение», которые могут быть использованы в проекте НД на лекарственное растительное сырье «Ряска трава».

Ключевые слова: *Lemna minor* L., трава ряски малой, микроскопические признаки, стандартизация, фенолкарбоновые кислоты, хлорогеновая кислота, полисахариды.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. Л. Н. Никифоров, С. В. Кривошеков, М. В. Белоусов разработали эксперимент. С. В. Кривошеков, Т. В. Кадырова, Е. А. Безверхняя провели валидацию методики количественного определения фенолкарбоновых кислот. Н. Э. Коломиец, Н. В. Исайкина, Н. Ю. Абрамец проводили заготовку сырья ряски малой, выполнили исследование внешних (макроскопических), микроскопических признаков. Все авторы участвовали в обсуждении статьи, внесли вклад в окончательную рукопись.

Для цитирования: Никифоров Л. Н., Кривошеков С. В., Коломиец Н. Э., Кадырова Т. В., Исайкина Н. В., Абрамец Н. Ю., Безверхняя Е. А., Белоусов М. В. Разработка параметров стандартизации сырья ряски малой (*Lemna minor* L.). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(1):74–81. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-74-81>

Development of Parameters for Standardization of Duckweed (*Lemna Minor* L.) Raw Material

Leonid N. Nikiforov¹, Sergei V. Krivoshchekov^{1*}, Natalia E. Kolomiets¹, Tatyana V. Kadyrova¹,
Nadezhda V. Isaikina¹, Natalia Y. Abramets¹, Ekaterina A. Bezverkhniaia^{1,2}, Mikhail V. Belousov^{1,2}

1 – Siberian State Medical University (SSMU), 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, Russia

2 – National Research Tomsk Polytechnic University, 30, Lenin av., Tomsk, 634050, Russia

*Corresponding author: Sergei V. Krivoshchekov. E-mail: ksv_tsu@mail.ru

ORCID: Leonid N. Nikiforov – <https://orcid.org/0000-0003-1016-5856>; Sergei V. Krivoshchekov – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
Natalia E. Kolomiets – <https://orcid.org/0000-0003-0520-921X>; Tatyana V. Kadyrova – <https://orcid.org/0000-0002-2119-0259>;
Nadezhda V. Isaikina – <https://orcid.org/0000-0001-6440-8636>; Natalia Y. Abramets – <https://orcid.org/0000-0002-6017-2133>;
Ekaterina A. Bezverkhniaia – <https://orcid.org/0000-0001-7699-5719>; Mikhail V. Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Received: 19.11.2020. Revised: 22.01.2021. Published: 25.02.2021

© Никифоров Л. Н., Кривошеков С. В., Коломиец Н. Э., Кадырова Т. В., Исайкина Н. В., Абрамец Н. Ю., Безверхняя Е. А., Белоусов М. В., 2021
© Nikiforov L. N., Krivoshchekov S. V., Kolomiets N. E., Kadyrova T. V., Isaikina N. V., Abramets N. Y., Bezverkhniaia E. A., Belousov M. V., 2021

Abstract

Introduction. *Lemna minor* L. (duckweed) refers to the duckweed subfamily (*Lemnaceae* S. F. Gray) and widely distributed in ponds of Russia. Literature data confirm the possibility of harvesting significant volumes of this raw material in natural habitat and grown in aquaculture. The process of biosynthetic accumulation in duckweed fronds provides a variety of compounds with a wide spectrum of biological activity. Therefore, the use of raw materials *Lemna minor* L. is promising for the development of drugs and parapharmaceutical products. Thus, it is an urgent task to quantify active components of duckweed and standardize (determination of criteria for identification, quality and safety) plant material.

Aim. Establish macro- and microscopic characteristics of raw materials and develop methods for the quantitative determination of the main groups of biologically active substances (BAS) for standardization of raw duckweed.

Materials and methods. Samples of duckweed was collected in natural habitats of Western Siberia. Macro- and microscopic assay, HPLC, UV-spectrometry were used in research process.

Results and discussion. Were established the criteria for identification of duckweed fronds by studying external (macroscopic) and microscopic features of raw material *Lemna minor* L. Was developed and validated the procedure of the quantitative determination of phenolcarboxylic acids in raw material *Lemna minor* L.

Conclusion. The study of external (macroscopic) and microscopic features provided the criteria for identification of the raw material *Lemna minor* L. The technique for the quantitative analysis of polysaccharides using gravimetry does not need validation, because is a direct method of substance measurement. Was validated quantification method of phenolcarboxylic acids (in terms of chlorogenic acid) by criteria of linearity, repeatability, in-laboratory precision and accuracy. Was established quality criteria for identification and quantitative assay, which can be used in the draft for normative documents for medicinal plant raw material of *Lemna minor* L. «Duckweed fronds».

Keywords: *Lemna minor* L., duckweed fronds, microscopic features, standardization, phenolcarboxylic acids, chlorogenic acid, polysaccharides.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Leonid N. Nikiforov, Sergei V. Krivoshechekov, Mikhail V. Belousov developed the design of experiments. Sergei V. Krivoshechekov, Tatyana V. Kadyrova, Ekaterina A. Bezverkhniaia validated the method of quantitative analysis. Natalia E. Kolomiets, Nadezhda V. Isaikina, Natalia Y. Abramets collected raw materials of *Lemna minor* L., performed a study of external (macroscopic), microscopic features. All authors participated in the discussion of the article, contributed to the final manuscript.

For citation: Nikiforov L. N., Krivoshechekov S. V., Kolomiets N. E., Kadyrova T. V., Isaikina N. V., Abramets N. Y., Bezverkhniaia E. A., Belousov M. V. Development of parameters for standardization of duckweed (*Lemna minor* L.) raw material. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(1):74–81. (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-74-81>

ВВЕДЕНИЕ

Подсемейство рясковые (*Lemnaceae* S. F. Gray) относится к водным однодольным цветковым растениям. В водоемах России широко представлены три вида подсемейства: многокоренник обыкновенный, или ряска многокорневая (*Spirodella polyrrhiza*), ряска малая (*Lemna minor*) и ряска тройчатая (*Lemna trisulca*) [1]. Данные литературы подтверждают возможность заготовки значительных объемов сырья как дикорастущего, так и выращиваемого в условиях аквакультуры, и прежде всего ряски малой [2, 3].

В настоящее время практическое применение нашла в основном ряска малая (*Lemna minor*), из которой производят гомеопатические препараты, БАДы для лечения витилиго, веганский протеиновый порошок. В России несколько производителей на основе *Lemna minor* выпускают чайные напитки с заявляемой нутрицевтической ценностью.

Анализ крупнейших международных баз цитирования показывает большой интерес отечественных и зарубежных ученых разных отраслей наук к видам подсемейства рясковые. Несмотря на это, до сих пор по отдельным представителям подсемейства, а также отдельным группам БАВ информация носит фрагментарный характер. Наиболее изученными группами БАВ в ряске малой являются аминокислоты, белки, жирные кислоты, по отдельным видам фрагментарно изучены

полисахариды, элементный состав, фенольные соединения [4–7]. Согласно данным литературы преобладающей группой фенольных соединений в сырье *Lemna minor* L. являются фенолкарбоновые кислоты [8].

Спектр подтвержденной экспериментальной активности рясковых включает антимикробное, противовоспалительное, гастропротективное, желчегонное, антимуtagenное, антиоксидантное, антирадикальное, антикоагулянтное, антиадипогенезное, криопротекторное и противоопухолевое действие, адсорбирующую активность [9–13]. Поэтому различные виды рясок могут быть использованы для разработки лекарственных средств, парафармацевтических продуктов, что должно сопровождаться разработкой нормативной документации, в которой определены требования к подлинности, качеству и безопасности.

Цель исследования заключалась в установлении макро- и микроскопических признаков и разработке методик количественного определения основных групп БАВ для стандартизации сырья ряски малой и контроля его качества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы дикорастущего сырья ряски малой (*Lemna minor* L.), заготовленные в естественных местах их произрастания на территории Томской, Новосибирской и Кемеровс-

кой областей в течение вегетационного периода в 2020 г. Образцы сырья высушены воздушно-теневым способом.

Внешние признаки листецов и корней рассматривали невооруженным глазом, под лупой (2х; 10х) и в стереомикроскоп (8х; 16х; 32х) в соответствии с ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» ГФ РФ.

Микроскопический анализ сырья проводили в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ. Анализировали не менее десяти препаратов под микроскопом МИКМЕД (АО «ЛОМО», Россия) (увеличения 7х1,5х8; 7х1,5х20; 7х1,5х40; 15х1,5х8; 15х1,5х20; 15х1,5х40). Препараты фотографировали с помощью цифрового фотоаппарата Canon EOS 500D. Снимки, представленные на рисунках, обрабатывали на компьютере в программе Adobe Photoshop CS.

Для количественного определения фенолкарбоновых кислот получали спиртовое извлечение. Для этого навеску сырья массой 10 г помещают в круглодонную колбу вместимостью 500 мл, приливают 200 мл 70 % этилового спирта и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут с обратным холодильником. После извлечения фильтруют через бумажный фильтр «белая лента» в мерную колбу вместимостью 250 мл, промывая трижды шрот на фильтре 70 % этиловым спиртом порциями по 5 мл. После чего доводят объем раствора в колбе до метки тем же растворителем. 4 мл полученного раствора помещают в делительную воронку и добавляют 20 мл гексана, интенсивно взбалтывают несколько раз. После расслоения отбирают 2 мл нижнего слоя в пробирку и удаляют растворитель в токе азота. Сухой остаток растворяют в 2 мл 70 % этилового спирта.

Стандартный раствор хлорогеновой кислоты готовили из навески 0,1000 г (точная навеска) рабочего стандартного образца хлорогеновой кислоты, которую помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, добавляли 50 мл 70 % этилового спирта и перемешивали до полного растворения. После чего довели объем раствора в колбе до метки тем же растворителем. 0,8 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и довели объем раствора в колбе до метки тем же растворителем.

Количественное определение хлорогеновой кислоты проводили спектрофотометрическим методом. Исследование проводили на приборе СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Количественное определение полисахаридов при стандартизации растительного сырья предложено проводить гравиметрически после осаждения полисахаридного комплекса ряски 96 % спиртом этиловым.

Навеску массой около 10,0 г (точная навеска) растительного сырья помещают в колбу вместимостью 500 мл, прибавляют 200 мл воды очищенной, нагревают на кипящей водяной бане и экстрагируют в течение 1 часа. После извлечения фильтруют через тканевый фильтр и экстракцию повторяют ещё 1 раз. Извлечения объединяют и фильтруют через бумажный фильтр «белая лента» под вакуумом. Фильтрат упаривают на роторном испарителе до 1/5 исходного объема, после чего прибавляют трехкратный объем 96 % этилового спирта и выдерживают в течение 12 часов в холодильнике для полного осаждения полисахаридного комплекса. Затем осадок отфильтровывают через предварительно доведенный до постоянной массы бумажный фильтр, осадок на фильтре промывают горячим 96 % этиловым спиртом, затем ацетоном. Фильтр с осадком высушивают до постоянной массы и взвешивают.

Поскольку гравиметрический метод количественного определения полисахаридов в растительном сырье является прямым методом измерения количества вещества и ГФ РФ не требует подтверждения соответствия получаемых результатов требованиям к методикам, применяемым в фармацевтическом анализе, валидацию методики не проводили.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Высушенное сырье представляет собой смесь цельных или частично измельченных непрозрачных листецов, одиночных или образующих группы из 2–4 экземпляров (рисунок 1). Корни одиночные волосовидные, от бледно-зеленого до темно-коричневого цвета, длиной 11–18 мм (рисунок 1, Б). Листецы с верхней стороны слегка выпуклые, зеленого, светло-зеленого цвета, с нижней стороны плоские, зеленого цвета (рисунок 1, А). Листецы обратнойцевидные или эллиптические, реже округлые (2–3 мм длиной, 1–2,5 мм шириной), цельнокрайние, с тупой верхушкой и округло-клиновидным, реже округлым основанием; на листьях при рассматривании их в стереомикроскоп хорошо заметна аэренхи-

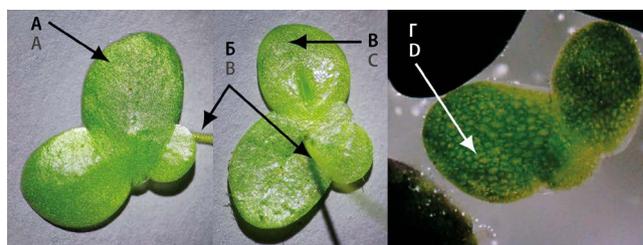


Рисунок 1. *Lemna minor* L.

А – листец верхняя сторона; Б – одиночные корни; В – листец, нижняя сторона; Г – аэренхима с воздухоносными полостями на нижней стороне

Figure 1. *Lemna minor* L.

A – upper side of a frond; B – single roots; C – lower side of a frond; D – aerenchyma with air cavities on the lower side

ма с воздухоносными полостями (рисунок 1, Г). Запах слабый, характерный. Вкус водного извлечения солоновато-горький.

При рассмотрении листецов с поверхности видно, что клетки верхнего эпидермиса разнонаправленные, слабоизвилистые, многоугольные (рисунок 2), клетки эпидермиса нижней стороны листа имеют устьица, слабоизвилистые и сильноизвилистые, продольно вытянутые стенки (рисунок 3). Между верхним и нижним слоем клеток эпидермиса хорошо заметна развитая аэренхима, которая занимает до 2/3 объема листеца, межклетники округло-эллиптические, их диаметр в 6–12 раз больше диаметра клеток аэренхимы и в 5–6 раз больше диаметра клеток верхнего эпидермиса (рисунок 4, А). На листецах хорошо заметны клетки-идиобласты с рафидами (рисунок 4, Б). Основание листецов переходит в корни (рисунок 5, А), клетки которых прямостенные, вытянутые по длине (рисунок 5, Б).

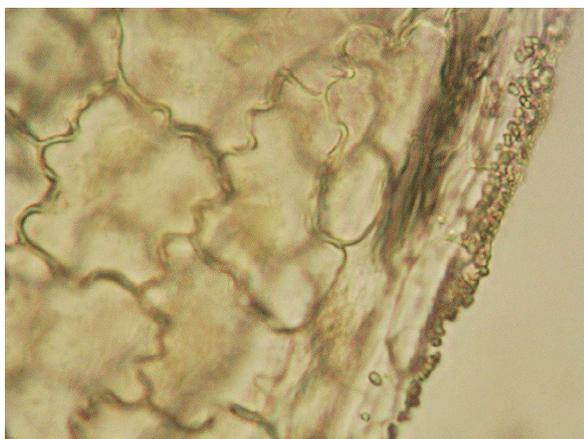


Рисунок 2. Плоскостной препарат листеца *Lemna minor* L. Верхний эпидермис

Figure 2. Planar preparation of *Lemna minor* L. frond. Upper epidermis

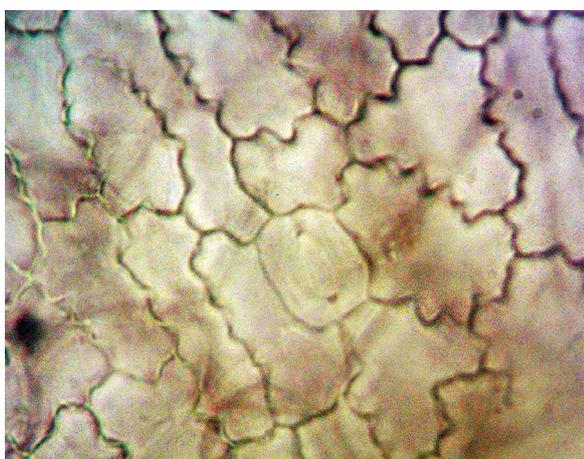


Рисунок 3. Плоскостной препарат листеца *Lemna minor* L. Устьица на нижнем эпидермисе

Figure 3. Planar preparation of *Lemna minor* L. frond. Stomatal distribution on lower epidermis

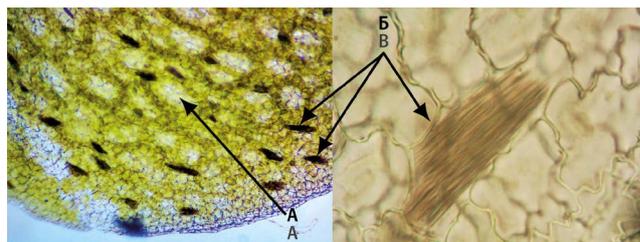


Рисунок 4. Плоскостной препарат листеца *Lemna minor* L.

А – аэренхима; Б – рафидаы

Figure 4. Planar preparation of *Lemna minor* L. frond.

А – aerenchyma; Б – raphides

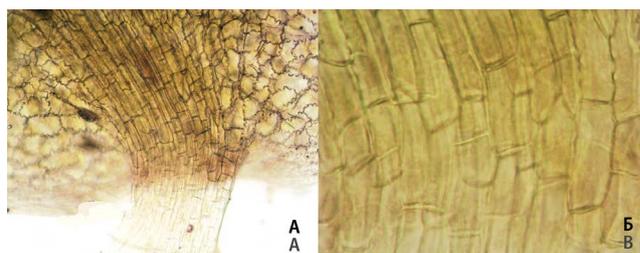


Рисунок 5. Плоскостной препарат *Lemna minor* L.

А – основание листеца с корнем; Б – прямостенные клетки эпидермиса корня

Figure 5. Planar preparation of *Lemna minor* L.

А – the base of a rooted frond; Б – straight-walled cells of the root epidermis

Определение фенолкарбоновых кислот

Как уже было отмечено, преобладающей группой фенольных соединений в сырье являются фенолкарбоновые кислоты, для количественного определения которых предлагается использовать распространенную методику прямой спектрофотометрии [14], успешно применяемую для стандартизации ряда растительных объектов, но с модификацией прободготовки.

Результаты исследования (таблица 1) содержания фенолокислот в извлечениях, полученных с помощью 70 % этилового спирта и этилацетата, показывают, что использование этилового спирта приводит к более исчерпывающему извлечению аналитов из растительного сырья – более чем в 2 раза. В 70 % этанольном извлечении установлено методом ВЭЖХ [8] наличие следующих фенолкарбоновых кислот: хлорогеновой, 3,5-дигидроксибензойной, кофеиновой, ванильной, 2,3-дигидроксибензойной, *m*-кумаровой, *o*-кумаровой, бензойной и коричной кислот.

Таким образом, предложено в качестве экстрагента методики количественного определения фенолкарбоновых кислот в ряске малой использовать 70 % этиловый спирт.

Таблица 1. Содержание фенолкарбоновых кислот в извлечениях из сырья *Lemna minor* L.

Table 1. The content of phenolcarboxylic acids in extracts from *Lemna minor* L. raw material

Наименование исследуемого образца The name of the test sample	Количественное содержание по данным ВЭЖХ, % в пересчете на массу экстрактивных веществ Quantitative content according to HPLC data, % based on the mass of extractives												
	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	3,5-дигидроксимбензойная кислота 3,5-dihydroxybenzoic acid	Кофейная кислота Caffeic acid	Ванильная кислота Vanillic acid	2,5-дигидроксимбензойная кислота 2,5-dihydroxybenzoic acid	2,6-дигидроксимбензойная кислота 2,6-dihydroxybenzoic acid	2,3-дигидроксимбензойная кислота 2,3-dihydroxybenzoic acid	Хинная кислота Quinic acid	Феруловая кислота Ferulic acid	m-кумаровая кислота m-coumaric acid	o-кумаровая кислота o-coumaric acid	Бензойная кислота Benzoic acid	Корициная кислота Cinnamic acid
EtAc	0,17	0,13	0,08	0,03	-	0,17	0,06	-	0,07	0,04	0,02	-	0,006
70 % EtOH	0,27	0,13	0,03	0,03	-	-	0,008	-	-	0,0009	0,005	0,02	0,002

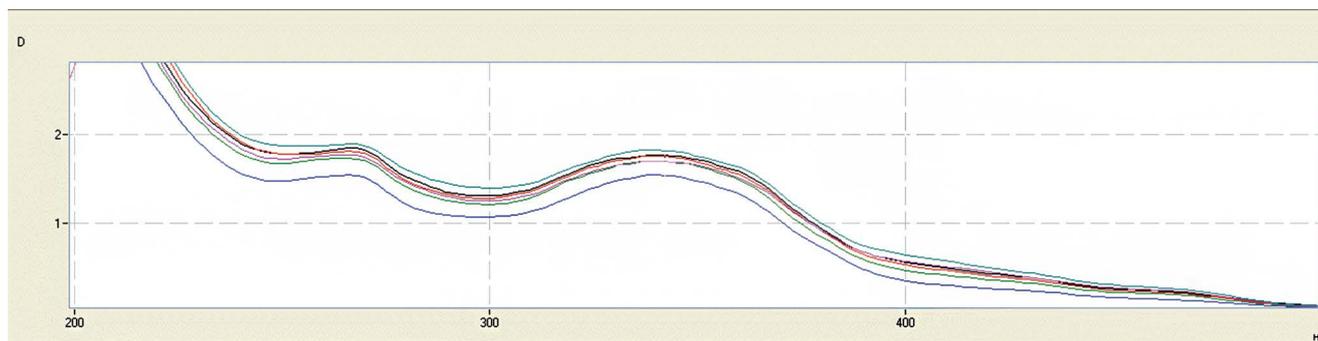


Рисунок 6. УФ-спектры этанольных извлечений из *Lemna minor* L. (20, 30, 40, 50 минут экстракции)

Figure 6. UV-spectra of ethanolic extracts from *Lemna minor* L. (20, 30, 40, 50 minutes extraction)

Определение рабочего времени экстракции (рисунок 6) показало, что при 30 и более минутах экстракции не наблюдается достоверного увеличения оптической плотности.

Однако большой вклад в поглощение вносят липофильные вещества, не относящиеся к фенолкарбоновым кислотам, поэтому в пробоподготовку внесена стадия жидкость-жидкостной экстракции гексаном в соотношении 1:5 (рисунок 7).

С учетом полученного спектра экстракта из сырья в качестве стандарта предложено использовать хлорогеновую кислоту ($\lambda_{\text{MAX}} = 327 \text{ nm}$). В разработанных условиях подготовки проб определены основные валидационные характеристики методики количественного определения фенолкарбоновых кислот в сырье ряски. Уровни содержания целевой группы веществ при валидации варьировали изменением массы навески экстрагируемого сырья. Линейность методики показана в диапазоне концентраций хлорогеновой кислоты от 0,1 до 10 мкг/мл с коэффициентом корреляции (R) 0,9999 (рисунок 8).

Для исследуемого диапазона определили показатели сходимости результатов – повторяемость и внутрилабораторная прецизионность (таблицы 2–3) и правильность (таблица 4).

С помощью предложенных методик проанализированы образцы сырья ряски малой, заготовленные в различных областях произрастания (таблица 5).

Таблица 2. Оценка повторяемости методики определения фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту

Table 2. Evaluation of the repeatability of the procedure for the determination of phenolcarboxylic acids in terms of chlorogenic acid

Уровень Level	W, %	Среднее Average	Δ	RSD, %
80	0,309	0,317	0,008	2,25
	0,319			
	0,310			
	0,323			
	0,315			
100	0,327	0,313	0,005	1,51
	0,310			
	0,309			
	0,318			
	0,313			
120	0,318	0,321	0,004	1,00
	0,308			
	0,324			
	0,320			
	0,319			
120	0,317	0,321	0,004	1,00
	0,320			
	0,326			



Рисунок 7. УФ-спектр исходного этанольного извлечения из *Lemna minor* L. (1) и обработанного гексаном в соотношении 1:5 (2)

Figure 7. UV-spectra of original ethanolic extract from *Lemna minor* L. (1) and ethanolic extract treated with hexane in 1:5 ratio (2)

Таблица 3. Оценка воспроизводимости методики определения фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту

Table 3. Evaluation of the reproducibility of the method for the determination of phenolcarboxylic acids in terms of chlorogenic acid

Уровень Level	W, %	Среднее Average	S ²	F	F _(5; 5; 0,025)	$\frac{S^2_{cp}}{S^2_{average}}$	RSD, %
80	0,309	0,317	$5,07 \times 10^{-5}$	2,82		$3,4 \times 10^{-5}$	1,90
	0,319						
	0,310						
	0,323						
	0,315						
	0,327						
	0,323	0,322	$1,80 \times 10^{-5}$				
	0,314						
	0,327						
	0,322						
	0,321						
	0,323						
100	0,310	0,313	$2,22 \times 10^{-5}$	3,29	7,15	$4,8 \times 10^{-5}$	2,11
	0,309						
	0,318						
	0,313						
	0,318						
	0,308						
	0,318	0,314	$7,29 \times 10^{-5}$				
	0,320						
	0,316						
	0,297						
	0,315						
	0,320						
120	0,324	0,321	$1,03 \times 10^{-5}$	2,08		$1,6 \times 10^{-5}$	1,22
	0,320						
	0,319						
	0,317						
	0,320						
	0,326						
	0,320	0,319	$2,14 \times 10^{-5}$				
	0,317						
	0,314						
	0,322						
	0,316						
	0,327						

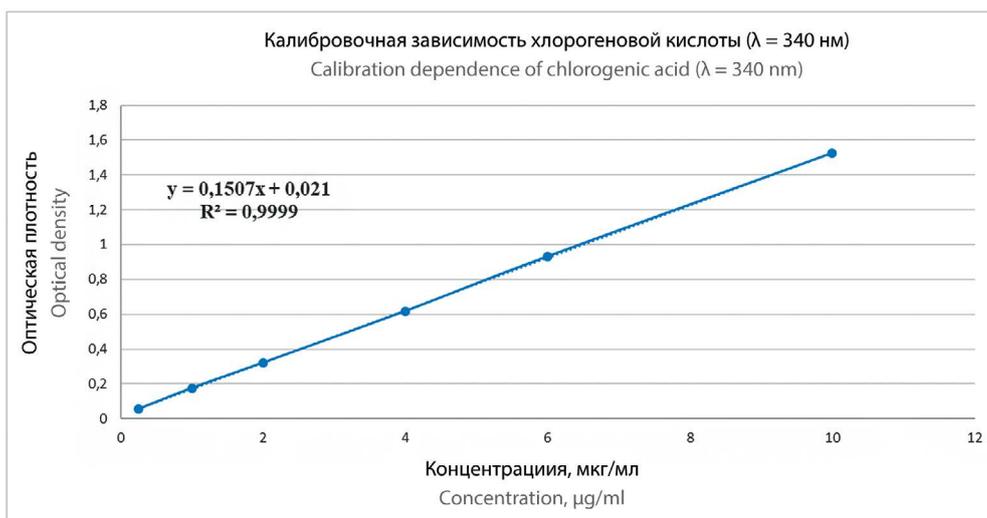


Рисунок 8. Калибровочная зависимость хлорогеновой кислоты в диапазоне от 0,1 до 10 мкг/мл ($\lambda = 340$ нм)

Figure 8. Calibration dependence of chlorogenic acid in the range from 0.1 to 10 $\mu\text{g/ml}$ ($\lambda = 340$ nm)

Таблица 4. Оценка правильности методики определения фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту (ХК)

Table 4. Evaluation of the correctness of the procedure for the determination of phenolcarboxylic acids in terms of chlorogenic acid (CA)

Уровень содержания, % Content, %	Введено ХК, мг/мл Injected CA, mg/ml	Найдено, мг/мл Determined, mg/ml	Δ
80	0,025	0,0651	99,83
100		0,0759	100,91
120		0,0885	98,47

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение внешних (макроскопических) и микроскопических признаков позволило определить характерные диагностические особенности, дающие возможность достоверно определять подлинность ряски малой (*Lemna minor*). К внешним признакам относятся: наличие обратнойцевидных, эллиптических, реже округлых, непрозрачных, цельнокрайних листочков, одиночных или группами из 2–4, слегка выпуклых с верхней стороны и плоских с нижней стороны, зеленого или светло-зеленого цвета; одиночных волосовидных корней от бледно-зеленого до темно-коричневого цвета. К микроскопическим признакам относятся: наличие слабоизвилистых, сильноизвилистых и многоугольных клеток эпидермиса с продольно вытянутыми стенками; хорошо развитой аэренхимы, занимающей до 2/3 объема листочка с округло-эллиптическими межклеточниками, диаметр которых в 6–12 раз больше клеток аэренхимы, и в 5–6 раз больше клеток верхнего эпидермиса; клеток-идиобластов с рафидами.

Таблица 5. Содержание биологически активных веществ в листьях *Lemna minor* L. (n = 3)

Table 5. The content of biologically active compounds in *Lemna minor* L. fronds (n = 3)

Место сбора Place of collection	Содержание фенолкарбоновых кислот, % The content of phenolcarboxylic acids, %	Содержание полисахаридов, % The content of polysaccharides, %
Томская область, Томский район, Коларовский тракт, озеро Коларовское Tomsk region, Tomsk district, Kolarovsky tract, lake Kolarovskoe	4,44 \pm 0,10	8,12 \pm 0,20
Томская область, Кожевниковский район, озеро Шубино Tomsk region, Kozhevnikovsky district, lake Shubino	5,47 \pm 0,01	5,00 \pm 0,50
Кемеровская область, река Иня Kemerovo region, Inya river	4,87 \pm 0,11	4,98 \pm 0,54
Кемеровская область, Степногустовский район, озеро Танай Kemerovo region, Stepnogutovsky district, Lake Tanay	5,05 \pm 0,10	4,34 \pm 0,14
Новосибирская область, г. Новосибирск, Первомайский район, ул. Радиостанция Novosibirsk region, Novosibirsk, Pervomaisky district, Radiostanciya street	4,66 \pm 0,57	6,82 \pm 0,14
Новосибирская область, г. Новосибирск, Первомайский район, ул. Ласточкина Novosibirsk region, Novosibirsk, Pervomaisky district, Lastochkina street	3,87 \pm 0,11	5,88 \pm 1,36
Новосибирская область на границе с Томской областью, озеро Щучье Novosibirsk region on the border with Tomsk region, Lake Shchuchye	4,29 \pm 0,01	5,50 \pm 0,58
$\bar{X} \pm x$	4,67 \pm 0,52	5,88 \pm 1,24

Разработаны методики количественного определения полисахаридов и фенолкарбоновых кислот в траве ряски малой. Для полисахаридов, определяемых гравиметрически (прямой метод определения вещества), установлен диапазон содержания 4,34–8,12 %. Для фенолкарбоновых кислот, определяемых спектрофотометрическим методом, в пересчете на хлорогеновую кислоту, установлен диапазон 3,87–5,47 %. Методика спектрофотометрического определения фенолкарбоновых кислот валидирована по показателям: линейность, повторяемость, внутрилабораторная прецизионность и правильность – и апробирована на 7 образцах сырья из Западно-Сибирского региона.

Разработанные показатели подлинности, методики количественного определения могут быть использованы при разработке проекта фармакопейной статьи на лекарственное растительное сырье «Ряска трава».

ЛИТЕРАТУРА

- Беленовская Л. М. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том 6. Семейства Butomaceae – Typhaceae. М.: Товарищество научных изданий; 2014. 392 с.
- Синяков А. Ф. Стимуляторы жизни. М.: Молодая гвардия; 1990. 192 с.
- Абдиев М. Ряска водоемов Узбекистана и опыт их массового культивирования: Диссер. канд. биол. наук. Ташкент. 1970. 194 с.
- Vladimirova I. N., Georgiyants V. A. Biologically active compounds from *Lemna minor* S. F. Gray. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2014;47(11):599–601. DOI: 10.1007/s11094-014-1016-8.
- Qiao X., He W. N., Xiang C., Han J., Wu L. J., Guo D. A., Ye M. Qualitative and Quantitative Analyses of Flavonoids in *Spirodela polyrrhiza* by High performance Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry. *Phytochemical Analysis*. 2011;22(6):475–483. DOI: 10.1002/pca.1303.
- Günter E. A., Popeiko O. V., Ovodov Yu. S. Isolation of Polysaccharides from the Callus Culture of *Lemna minor* L. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2004;40(1):80–83. DOI: 10.1023/B:ABIM.0000010359.68528.fe.
- Rusoff L. L., Blakeney E. W., Culley D. D. Duckweeds (Lemnaceae family): a potential source of protein and amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1980;28(4):848–850. DOI: 10.1021/jf60230a040.
- Адекенов С. М., Данилец М. Г., Ивасенко С. А., Никифоров Л. А., Кривошеков С. В., Лигачёва А. А., Трофимова Е. С., Шерстобоев Е. Ю., Жданов В. В., Белоусов М. В. Фенольные соединения этанольных извлечений *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. и *Lemna polyrrhiza* L. Schleid. и их иммуномодулирующая активность. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(3):5–15. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-5-15.
- Song W. Y., Choi J. H. Total Phenols, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of *Spirodela polyrrhiza* Extracts. *Journal of Life Science*. 2017;27(2):180–186. DOI: 10.5352/JLS.2017.27.2.180.
- Gulcin I., Kirecci E., Akkemik E., Topal F., Hisar O. Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turkish Journal of Biology*. 2010;34(2):175–188. DOI: 10.3906/biy-0806-7.
- Al-Snai A. E. *Lemna minor*: Traditional Uses, Chemical Constituents and Pharmacological Effects-A Review. *IOSR Journal of Pharmacy*. 2019;9(8):6-11.
- Khasina E. I., Sgrebneva M. N., Ovodova R. G., Golovchenko V. V., Ovodov Y. S. Gastroprotective Effect of Lemnan, a Pectic Polysaccharide from *Lemna minor* L. *Doklady Biological Sciences*. 2003;390(3):204–206. DOI: 10.1023/A:1024437012646.
- Cho H. R., Choi H. S. Effects of Anticoagulant from *Spirodela polyrrhiza* in rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2003;67(4):881–883. DOI: 10.1271/bbb.67.881.
- Tomashevskaya O. Yu., Dargaeva T. D., Sokol'skaya T. A. Study of qualitative content and determination of phenolic compounds in rhizomes of butcher's broom *Ruscus aculeatus* L. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2009;2:42–44. (In Russ.).
- Cho H. R., Choi H. S. Effects of Anticoagulant from *Spirodela polyrrhiza* in rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2003;67(4):881–883. DOI: 10.1271/bbb.67.881.
- Томашевская О. Ю., Даргаева Т. Д., Сокольская Т. А. Изучение качественного состава и определение содержания фенольных соединений в корневищах иглицы шиповатой (*Ruscus aculeatus* L.). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2009;2:42–44.

REFERENCES

- Belenovskaya L. M. *Rastitel'nye resursy Rossii. Dikorastushchye tsvetkovye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost'*. Tom 6. Semeystva Butomaceae – Typhaceae [Plant sources of Russia. Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Volume 6. Families Butomaceae – Typhaceae]. Moscow: Tovarishestvo nauchnih izdaniy; 2014. 392 p. (In Russ.).
- Sinyakov A. F. *Stimulyatory zhizni* [Life stimulators]. Moscow: Molodaya gvardiya; 1990. 192 p. (In Russ.).
- Abdiev M. *Ryaski vodoemov Uzbekistana i opyt ikh massovogo kul'tivirovaniya* [Duckweeds of Uzbekistan ponds and the experience of their mass cultivation] [dissertation]. Tashkent. 1970. 194 p. (In Russ.).
- Vladimirova I. N., Georgiyants V. A. Biologically active compounds from *Lemna minor* S. F. Gray. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2014;47(11):599–601. DOI: 10.1007/s11094-014-1016-8.
- Qiao X., He W. N., Xiang C., Han J., Wu L. J., Guo D. A., Ye M. Qualitative and Quantitative Analyses of Flavonoids in *Spirodela polyrrhiza* by High performance Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry. *Phytochemical Analysis*. 2011;22(6):475–483. DOI: 10.1002/pca.1303.
- Günter E. A., Popeiko O. V., Ovodov Yu. S. Isolation of Polysaccharides from the Callus Culture of *Lemna minor* L. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2004;40(1):80–83. DOI: 10.1023/B:ABIM.0000010359.68528.fe.
- Rusoff L. L., Blakeney E. W., Culley D. D. Duckweeds (Lemnaceae family): a potential source of protein and amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1980;28(4):848–850. DOI: 10.1021/jf60230a040.
- Adekenov S. M., Danilets M. G., Ivasenko S. A., Nikiforov L. A., Krivoschekov S. V., Ligacheva A. A., Trofimova E. S., Sherstoboev E. Yu., Zhdanov V. V., Belousov M. V. Phenolic compounds of ethanolic extracts from *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. and *Lemna polyrrhiza* L. Schleid and their immunomodulative activity. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16(3):5–15. (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-5-15.
- Song W. Y., Choi J. H. Total Phenols, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of *Spirodela polyrrhiza* Extracts. *Journal of Life Science*. 2017;27(2):180–186. DOI: 10.5352/JLS.2017.27.2.180.
- Gulcin I., Kirecci E., Akkemik E., Topal F., Hisar O. Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turkish Journal of Biology*. 2010;34(2):175–188. DOI: 10.3906/biy-0806-7.
- Al-Snai A. E. *Lemna minor*: Traditional Uses, Chemical Constituents and Pharmacological Effects-A Review. *IOSR Journal of Pharmacy*. 2019;9(8):6-11.
- Khasina E. I., Sgrebneva M. N., Ovodova R. G., Golovchenko V. V., Ovodov Y. S. Gastroprotective Effect of Lemnan, a Pectic Polysaccharide from *Lemna minor* L. *Doklady Biological Sciences*. 2003;390(3):204–206. DOI: 10.1023/A:1024437012646.
- Cho H. R., Choi H. S. Effects of Anticoagulant from *Spirodela polyrrhiza* in rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2003;67(4):881–883. DOI: 10.1271/bbb.67.881.
- Tomashevskaya O. Yu., Dargaeva T. D., Sokol'skaya T. A. Study of qualitative content and determination of phenolic compounds in rhizomes of butcher's broom *Ruscus aculeatus* L. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2009;2:42–44. (In Russ.).

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ФОРУМ - ВЫСТАВКА

аптека

БИЗНЕС-ФОРМАТ

2021



К Л Ю Ч Е В О Е
С О Б Ы Т И Е
Р О С С И Й С К О Г О
А П Т Е Ч Н О Г О
Р Ы Н К А

info@artekaexpro.ru
+7 (495) 925-65-61/62

АРТЕКАЕХПРО.РУ



2 - 4 МАРТА 2021

МОСКВА • EVENT HALL ДАНИЛОВСКИЙ

Организатор



ЕВРОЭКСПО

При поддержке



МИНПРОМТОРГ
РОССИИ



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ АПТЕЧНЫХ СЕТЕЙ



РЕКЛАМА