

ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ –
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ИМАЧУЕВА ДЖАВГАРАТ РУСЛАНОВНА

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА КОПЕЕЧНИК (*HEDYSARUM L.*),
ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
кандидат фармацевтических наук,
доцент Серебряная Фатима Казбековна

Пятигорск – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ РАСТЕНИЙ РОДА <i>HEDYSARUM</i> L. И ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ.....	16
1.1 Ботаническая характеристика рода <i>Hedysarum</i> L.....	16
1.2 Краткая характеристика основных БАВ, содержащихся в растениях рода <i>Hedysarum</i> L.	25
1.3 Характеристика класса ксантонов	32
1.4 Выделение и идентификация мангиферина из растений	38
1.5 Применение видов рода <i>Hedysarum</i> L. в медицине	39
1.6 Потенциал практического использования мангиферина в медицине	41
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1	43
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
2.1 Объекты исследования.....	44
2.2 Биологические методы исследования	47
2.2.1 Методы морфологического и микроскопического исследования	47
2.2.2 Методы молекулярно-генетических исследований	47
2.2.3 Методики эколого-фитоценологических интродукционных исследований ..	48
2.3 Анализ компонентов ксантонов.....	48
2.4 Методы выделения, идентификации и количественного определения основных групп биологически активных веществ.....	50
2.5 Анализ аминокислотного состава.....	53
2.6 Определение доброкачественности сырья.....	53
2.7 Изучение элементного состава	54
2.8 Статистические методы анализа.....	54
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ РОДА <i>HEDYSARUM</i> L.	55

3.1 Морфолого-анатомическое исследование копеечника дагестанского (<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.)	55
3.2 Морфолого-анатомическое исследование копеечника кавказского (<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb).....	61
3.3 Морфолого-анатомическое исследование копеечника крупноцветкового (<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.)	66
3.4 Сравнительное морфолого-анатомическое исследование каулифолиарной системы видов рода <i>Hedysarum</i> L.	72
3.5 Использование методов секвенирования при идентификации видов рода <i>Hedysarum</i> L.	76
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3	92
ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ ВИДОВ РОДА HEDYSARUM L.	93
4.1. Разработка методики выделения суммы основных групп биологически активных веществ.....	93
4.2. Разработка методик качественного обнаружения мангиферина методом хроматографии в тонком слое сорбента.....	94
4.3 Количественное определение суммы основных действующих веществ	96
4.3.1. Количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии	96
4.3.2. Количественное определение мангиферина методом капиллярного электрофореза	105
4.3.3. Количественное определение мангиферина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии	110
4.4. Качественный анализ сопутствующих биологически активных веществ..	114
4.5. Количественное определение дубильных веществ.....	116
4.6. Изучение аминокислотного состава	116
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4	120
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦИИ И НОРМ КАЧЕСТВА ТРАВЫ КОПЕЕЧНИКА КАВКАЗСКОГО	122

5.1.1. Внешние признаки	122
5.1.2. Микроскопические признаки	123
5.1.3. Подлинность	124
5.2. Испытания.....	124
5.3. Определение некоторых показателей качества видов рода копеечник	126
5.4 Количественный спектральный анализ микро- и макроэлементного состава копеечника кавказского	127
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5.....	129
ГЛАВА 6. ИНТРОДУКЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВИДОВ РОДА	
<i>HEDYSARUM L.</i>.....	130
6.1 Характеристика места проведения интродукционных исследований	130
6.2 Изучение биологических особенностей произрастания в естественных условиях и условиях интродукции видов рода копеечник.....	132
6.2.1 Способы размножения и изучение ритма сезонного развития видов рода копеечника	134
6.2.2 Фенологические наблюдения, изучение онтогенетического развития, морфологические признаки возрастных состояний видов рода копеечника и определение урожайности сырья.....	136
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 6.....	138
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	139
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	142
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	143
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	167
Приложение №1. Проект ФС «Копеечника кавказского трава».....	167
Приложение №2. Инструкция по сбору и сушке копеечника кавказского травы	176
Приложение №3. Инструкция по сбору и сушке копеечника кавказского травы	186
Приложение №4. Акты внедрения и апробации	196
Приложение №4.1. Интродукционная справка ГБС ФГБУН ДФИЦ РД.....	200

Приложение №4.2. Интродукционная справка ООО «Витаукт-пром».....	201
Приложение №5. Акт апробации внедрения в учебный процесс методики	202

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Для дальнейшего развития современной отечественной фармации значительный интерес представляет изучение сырьевых источников растительного происхождения для получения биологически активных веществ, обладающих выраженной фармакологической активностью. В настоящее время особенно остро стоит проблема получения противовирусных и антибактериальных средств растительного происхождения (Кудаев В.Б. и др., 1972; Федорова Ю.С. и др., 2018). На данный момент проблема хронических рецидивирующих вирусных заболеваний очень актуальна. Согласно данным ВОЗ около 67% населения Земли страдают от заболеваний различных органов и систем, вызванных вирусом простого герпеса.

Мангиферин (2-С-β-D-глюкопиранозил-1,3,6,7-тетрагидроксиксантон) относится к группе собственно ксантонов, является наиболее широко распространенным представителем С-гликозидов и обладает противовирусными и противобактериальными свойствами (Глызин В.Н. и др. 1986). В РФ источниками мангиферина являются виды растений рода *Hedysarum* L., сем. *Fabaceae* (Высочина Г.И. и др. 2011; Кукушкина и др. 2011). Так на основе сырья *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum flavescens* Rgl. et Sohmalmh. отечественными учеными разработан противовирусный препарат «Алпизарин», который обладает активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов (*Herpes simplex*, *Varicella zoster*, *Cytomegalovirus*), иммуностимулирующими свойствами, оказывает бактериостатическое действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. ЗАО «Фармцентр ВИЛАР» (Россия) выпускает данный в двух формах выпуска «Алпизарин мазь» и «Алпизарин таблетки» (Федорова Ю.С. и др., 2011).

Совершенно очевидной является необходимость расширения сырьевой базы для производства противовирусных препаратов широкого спектра действия за счет исследования новых представителей рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Северного Кавказа. В этой связи комплексный фитохимический и ботанико-фармакогностический анализ *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum*

grandiflorum Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., как перспективных отечественных сырьевых источников мангиферина представляется актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования. Среди источников отечественной литературы нами обнаружены данные о биологических особенностях развития видов рода *Hedysarum* L (Русакова С.В. и др., 1977; Зубаирова Ш.М., 2013; Мулдашев А.А. и др., 2014). Изучены морфолого-анатомические диагностические признаки *Hedysarum fruticosum* Pall., *Hedysarum alpinum* L., *Hedysarum austrosibiricum* B. Fedtsch., *Hedysarum consanguineum* DC., *Hedysarum neglectum* Ledeb., *Hedysarum theinum* Krasnob (Попова И.А., 2014; Коган Е.Г. и др., 2016).

Анализ состава суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, а также динамика их накопления в различных органах некоторых видов рода *Hedysarum* L., в том числе *Hedysarum austrosibiricum* B. Fedtsch., *Hedysarum neglectum* Ledeb., *Hedysarum theinum* Krasnob., *Hedysarum gmelinii* Ledeb. и *Hedysarum tschuense* A. I. Pjaket A. L. Ebel. и 4 вида, которые произрастали на территории Центрального сибирского ботанического сада: *Hedysarum alpinum*, *Hedysarum flavescens*, *Hedysarum neglectum* и *Hedysarum theinum* (Комиссаренко А.Н. и др., 1994; Неретина О.В. и др., 2002; Кукушкина Т.А. и др., 2011; Высочина Г.И. и др., 2011). В результате исследований зарубежными и отечественными учеными в различных видах рода *Hedysarum* L. были выделены: аминокислоты, углеводы, липиды, жирные кислоты; а среди вторичных метаболитов определены: терпены, флавоноиды, изофлавоноиды, ксантоны и их аналоги, дубильные вещества, фитостероиды, серо- и азотсодержащие органические вещества (Федорова Ю.С. и др., 2018; Dong Y. И др., 2013).

Фармакологическая активность экстракта копеечника изучалась во Всероссийском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), связанная с изучением свойств алпизарина. Были проведены клинические исследования, благодаря которым было установлено, что «Алпизарин» оказывает противовирусное действие на вирусы *Herpes simplex*, *Cytomegalovirus*, *Varicella*

zoster. Препарат обладает иммуномодулирующими свойствами, действуя на клеточное и гуморальное звенья иммунитета, повышает выработку гамма интерферона. Антимикробные свойства алпизарина изучали в экспериментах *in vitro* в стандартных условиях принятых для скрининга антимикробных средств. Установлено ингибирующее действие алпизарина в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, туберкулезных микобактерий.

В 2011 году были проведены комплексные исследования некоторых видов рода *Hedysarum* L., а именно *H. theinum*, *H. neglectum* и *H. alpinum*. Был изучен фитохимический состав и исследована фармакологическая активность данных видов рода *Hedysarum* L. (Федорова Ю.С. и др., 2018).

Целью работы и основные задачи исследования. Целью диссертационного исследования является сравнительное изучение растений видов рода *Hedysarum* L., в том числе *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall., как дополнительных сырьевых источников мангиферина.

Для реализации поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

1. провести сравнительное морфолого-анатомическое исследование указанных видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.) и выявить основные морфолого-анатомические диагностические признаки;
2. исследовать возможность использования молекулярно-генетического метода для определения подлинности лекарственного растительного сырья (ЛРС) на примере видов рода *Hedysarum* L., изучить филогенетические связи и выделить наиболее перспективные с фармакогностической точки зрения виды;
3. разработать эффективную методику количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии и мангиферина методами капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии из указанных видов рода *Hedysarum* L.;

4. изучить фитохимический состав перечисленных видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.);

5. разработать проекты нормативной документации, а также методики стандартизации травы исследуемых видов рода *Hedysarum* L., включая определение показателей его качества (проект ФС, инструкция по сбору и сушке растительного сырья);

6. разработать и внедрить основные методики интродукции исследуемых видов на территории Горного ботанического сада Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Дагестанский федеральный исследовательский центр» Российской Академии Наук (ФГБУН ДФИЦ РАН). Изучить биологические особенности видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.) в ареале естественного произрастания и в условиях интродукции на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН.

Научная новизна. Впервые определены морфолого-анатомические диагностические признаки исследуемых видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.), необходимые для стандартизации ЛРС. Внедрены показатели каулифолиарной микроморфологии для проведения диагностики растительных объектов на примере рода *Hedysarum* L.

Впервые проведены молекулярно-генетические исследования и определены морфометрические показатели, позволяющие устанавливать корреляции между морфологическими, молекулярно-генетическими и фитохимическими показателями видов, отнесенных к определенным секциям рода, а также осуществить прогноз накопления ксантонов в ранее не исследуемых видах.

Проведены интродукционные исследования *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (станция Цудахар), в

том числе определены основные фазы развития, составлены фенологические спектры.

В рамках фитохимического скрининга в исследуемых нами объектах обнаружены такие биологически активные вещества (БАВ), как флавоноиды, лейкоантоцианы, дубильные вещества, полисахариды, сапонины (тритерпеновые соединения). Впервые в траве трех видов рода *Hedysarum* L. обнаружено присутствие аминокислот, основная часть которых относится к группе незаменимых аминокислот, наличие пролина и фенилаланина доказывает присутствие ксантонов. Полученные результаты исследования необходимы при составлении комплексной метаболомной оценки ЛРС видов рода *Hedysarum* L.

Проведено комплексное изучение качественного анализа и количественного содержания суммы ксантонов и, собственно, мангиферина методами тонкослойной и бумажной хроматографии, УФ-спектрофотометрии, капиллярного зонного электрофореза, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В рамках комплексных фармакогностических исследований трех видов *Hedysarum* L. нами разработана методика определения количественного содержания суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии. Методика учитывает основные физико-химические свойства ксантонов, характеризуются воспроизводимостью, высокой точностью, простотой исполнения, позволяют проводить как скрининговую оценку различных сырьевых объектов, содержащих производные мангиферина, так и стандартизацию заготовленного ЛРС копеечника.

Разработанные методики апробированы на траве видов рода *Hedysarum* L., собранных и высушенных с учетом, правил и требований заготовки ЛРС. В результате установлено, что наибольшим количественным содержанием суммы ксантонов в пересчете на мангиферин отличается трава *Hedysarum caucasicum* M.Bieb ($0,62 \pm 0,021\%$). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования травы *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, как дополнительного сырьевого источника мангиферина. Проведена валидация методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на

мангиферин в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.; на основании полученных данных установлено, что предложенная методика является высокочувствительной, воспроизводимой и пригодной для использования.

Разработаны основные критерии идентификации и оценки качества изучаемого сырья. На основе проведенных исследований разработана методика определения количественного содержания суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в условиях производства, а также методика стандартизации, ставшая основанием для разработки проекта ФС «Копеечника кавказского трава».

Теоретическая и практическая значимость работы.

Теоретическая значимость исследования заключается в накоплении объема знаний в области корреляции между морфологическими, молекулярно-генетическими и фитохимическими показателями видов, выявленными диагностическими морфолого-анатомическими признаками, в том числе и каулифолиарной зоны, об условиях интродукции и фенологических наблюдениях за указанными видами рода *Hedysarum* L.

Практическая значимость заключается в обосновании возможности интродукции видов рода *Hedysarum* L., а именно *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. в условиях ботанических садов для обеспечения сырьевой базой для производственных целей получения мангиферина. Благодаря комплексному изучению морфометрических, эколого-ценотических показателей *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., а также проведенным интродукционным исследованиям и фенологическим наблюдениям, включенным в проект «Инструкции по сбору и сушке копеечника кавказского травы», разработан проект ФС «Копеечника кавказского трава». Методики идентификации и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин внедрены в учебный процесс аспирантов кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института (ПМФИ) – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, а также студентов, обучающихся на кафедре фармации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет».

Методологическая основа, объекты и методы исследования.

Исследование проводилось в период с 2016 по 2020 гг. при использовании фармакогностических методов (морфолого-анатомические, статистические методы исследований, фармакопейные методики Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ)), химических и физико-химических методов анализа (спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез). Полученные данные подвергались статистической обработке результатов.

Результаты фитохимического анализа, а также биологические особенности развития видов рода *Hedysarum* L. составили теоретическую основу исследования. Объектами исследования послужили три вида рода *Hedysarum* L., произрастающие на территории Северного Кавказа. Заготавливали сырье в фазы цветения и плодоношения с 2016 по 2019 гг. в различных районах по природным условиям произрастания.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Основные диагностические признаки, выявленные в результате сравнительного морфолого-анатомического исследования видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.).
- Филогенетические связи в пределах рода *Hedysarum* L. на примере северокавказских видов рода *Hedysarum* L., обнаруженные с использованием молекулярно-генетических методов.
- Результаты фитохимического анализа травы, заготовленной от *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.
- Методики качественного анализа и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии и мангиферина методом капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии травы исследуемых видов.

- Биологические особенности видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.) в условиях естественного произрастания и в условиях интродукции на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН.

- Результаты разработки показателей подлинности и качества травы *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

Степень достоверности результатов исследования. Полученные результаты достоверны, благодаря использованию современного сертифицированного и поверенного оборудования, множественной повторности, статистической обработке и валидационной оценке.

Апробация научных результатов. Фрагменты диссертационной работы были доложены на научно-практических конференциях: IV Международная научно-практическая конференция «Молодые ученые и фармация XXI века» ФГБНУ ВИЛАР (г. Москва, 2016 г.); XXIV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, 2017 г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием посвященная 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, д.фарм.н., профессора Д.А. Муравьевой. (г. Пятигорск, 2017 г.); IV Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения» (г. Пятигорск, 2017 г.); V научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые и фармация XXI века» ФГБНУ ВИЛАР (г. Москва, 2017 г.); Международная научно-практическая конференция, посвященная 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, д.фарм.н., профессора Д. А. Муравьевой «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (г. Пятигорск, 2018 г.); IV Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения» (г. Пятигорск, 2018 г.); Научно-методическая конференция «IV Гаммермановские чтения» (г. Санкт-Петербург, 2019 г.); Международная научно-практическая конференция, посвященная 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, д.фарм.н., профессора Д.А. Муравьевой «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (г. Пятигорск, 2019 г.); Международный молодежный форум «Неделя науки 2019» (г. Ставрополь, 2019 г.);

IX Международная научно-практическая конференция «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (г. Владикавказ, 2019 г.); I Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная 20-летию фармацевтического факультета «Актуальные вопросы фармации, фармакологии и клинической фармакологии» (г. Махачкала, 2019 г.); PSE E-CONGRESS. Plant Derived Natural Products as Pharmacological and Nutraceutical Tools (2020).

Публикации. Основные результаты диссертационного исследования отражены в 15 научных публикациях, из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ и 3 статьи в журналах, входящие в международную базу данных Scopus и 1 научная монография.

Внедрение результатов исследования. Разработаны: проект ФС «Копеечника кавказского трава» как дополнительного сырьевого источника мангиферина, апробированный на базе ЗАО «ВИФИТЕХ» (Московская область), проект «Инструкции по сбору и сушке копеечника кавказского травы» апробирован в Горном ботаническом саду ФГБУН ДФИЦ РАН (г. Махачкала) и ООО «Витаукт-Пром» (г. Майкоп).

Методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии и количественного определения мангиферина методами капиллярного электрофореза и ВЭЖХ используются в работе ООО «Витаукт-Пром», ЗАО «ВИФИТЕХ».

Методики идентификации суммы ксантонов в пересчете на мангиферин внедрены в учебный процесс для аспирантов на кафедре фармакогнозии, ботаники и производства фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России и студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета на кафедре фармации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет».

Личный вклад автора. Автор диссертационной работы принимал личное участие в выборе темы научной работы, постановке цели и задач исследования, в выполнении экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных

результатов и их статистической обработке, в написании глав диссертационной работы, а также в подготовке публикаций по теме диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 5 – изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье и пункту 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.

Структура и объем диссертации.

Содержание работы представлена на 203 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы, который включает 218 работ, из которых 83 – на иностранных языках, и приложений. Диссертация содержит 31 таблицу и 45 рисунков.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ РАСТЕНИЙ РОДА *HEDYSARUM* L. И ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

1.1 Ботаническая характеристика рода *Hedysarum* L.

Род *Hedysarum* L. в соответствии с таксономическим описанием относится к отделу *Magnoliophyta*, классу *Magnoliopsida*, подклассу *Rosidae*, порядку *Fabales*, семейству *Fabaceae*. Порядок *Fabales* включает очень крупное семейство бобовые (*Fabaceae*), которое насчитывает около 700 родов и более 12000 видов. Представители семейства широко распространены по всему миру, как в тропических и субтропических странах, так и в умеренных и холодных областях [101, 118]. Род *Hedysarum* L. насчитывает около 300 видов, населяющих Европу, Северную Африку, Азию и Северную Америку, на Кавказе произрастает 16 видов [32]. По данным литературы по флоре Сибири авторами Курбатским В.И., Пяк А.И., Эбель А.Л. приводятся морфологическое описание двух новых видов *Hedysarum chaiyrakanicum* Kurbatsky и *Hedysarum tschuense* A.I. Pjaket et A.L. Ebel [73, 106]. Некоторые наиболее распространенные на Кавказе виды отражены на рисунке 1.

Виды рода *Hedysarum* L. – это многолетние травы, реже невысокие кустарники или полукустарники. Стебли нередко сильно развитые, ветвящиеся, иногда же совершенно неразвитые и цветочная стрелка выходит из укороченных побегов, развивающихся у шейки корневища. Листья непарноперистые обыкновенно 5–9-парные, реже 1–3-парные или даже состоящие всего лишь из одного непарного листочка. Цветки в более или менее густых кистях. Чашечка колокольчатая, зубцы ее обыкновенно длиннее трубки. Венчик превышает чашечку. Флаг большею частью превышает лодочку, иногда короче ее. Крылья немного или же в 2-4 раза короче лодочки, реже длиннее ее, завязь 4-8 семяпочках. Бобы членистые, причем иногда часть семяпочек не развивается и боб состоит из 1-3 члеников. Членики боба плоско-сжатые или слегка выпуклые, гладкие, голые или чаще опушенные, сетчатые или же с поперечными ребрышками, часто усажены короткими или более длинными щетинками [128].



Копеечник крупноцветковый (а)



Копеечник кавказский (б)



Копеечник дагестанский (в)



Копеечник азербайджанский (г)



Копеечник красивый (д)



Копеечник белый (е)

Рисунок 1 – Некоторые наиболее распространенные виды рода *Hedysarum* L. на Кавказе [1, 11, 39, 44, 105, 119]

Во флоре Кавказа встречается 17 видов рода *Hedysarum* L., такие как *Hedysarum sericeum* M.Bieb., *Hedysarum elegans* Boiss. et Huet., *Hedysarum*

argenteum M.Bieb., *Hedysarum Bordzilowskyi* Grossh., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (рисунок 1в), *Hedysarum candidum* M.Bieb. (рисунок 1е), *Hedysarum formosum* Fisch. et Mey. ex Basin. (рисунок 1д), *Hedysarum varium* Willd., *Hedysarum ibericum* M.Bieb., *Hedysarum Turkewiczii* V.Fedtsch., *Hedysarum nitidum* Willd., *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (рисунок 1б), *Hedysarum armenum* Boiss. et Tchih., *Hedysarum tauricum* Pall. ex Willd., *Hedysarum atropatanum* Bunge ex Boiss. (рисунок 1г), *Hedysarum vegetius* V.Fedtsch [32].

Данные виды относятся к 6 секциям, которые отличаются следующими морфологическими признаками:

Секция 1. *Fruticosa* V.Fedtsch. (1902). Кустарники, иногда одревесневает только основание стебля, лодочка венчика по нижнему краю полукруглая, членики боба по верхнему шву почти прямые, на нижнем краю дугообразно согнуты, с боков нередко выпуклые [128].

Секция 2. *Spinossissima* V.Fedtsch. (1899). Однолетники и многолетники, прилистники свободные, членики бобов со щетинками [128].

Секция 3. *Obscura* V.Fedtsch. (1899). Голые или слабо опушенные растения, с высоким прямостоячим стеблем, членики бобов плоско-сжатые, более менее сетчатые, нередко с перепончатой окраиной. К данной секции из видов, произрастающих на Кавказе, относятся *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (рисунок 1 (б)), *Hedysarum armenum* Boiss. et Tchih. [32, 128].

Секция 4. *Multicaulia* Boiss. (1872), V.Fedtsch. (1902). Многолетники с прямостоячим или восходящим стеблем, прилистники обыкновенно сросшиеся, бобы морщинистые, обыкновенно волосистые или войлочные, нередко мягко игольчатые. К данной секции из видов, произрастающих на Кавказе, относятся *Hedysarum formosum* Fisch. et Mey. ex Basin., *Hedysarum atropatanum* Bunge ex Boiss., *Hedysarum varium* Willd., *Hedysarum Turkewiczii* V. Fedtsch., *Hedysarum tauricum* Pall. ex Willd. [32, 128].

Секция 5. *Subacaulia* Boiss. (1872). Невысокие многолетние растения с неразвитым стеблем, листья все прикорневые, цветки на безлистной стрелке. К данной секции из видов, произрастающих на Кавказе, относятся *Hedysarum*

sericeum M.Bieb., *Hedysarum elegans* Boiss. et Huet., *Hedysarum argenteum* M.Bieb., *Hedysarum Bordzilowskyi* Grossh., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum candidum* M.Bieb. [32, 128].

Секция 6. Crinifera Boiss. (1872). Многолетники, членики бобов усажены многочисленными, довольно длинными, тонкими, обыкновенно красноватыми щетинками. К данной секции из видов, произрастающих на Кавказе, относятся *Hedysarum vegetius* V. Fedtsch. [32, 128].

При сравнительном анализе данных видов нами выделены следующие морфологические признаки, приведенные в таблице 1.

Кроме того, нами проведен анализ литературных данных, касающихся распространения, географических элементов и фитоценологических типов, которых относятся виды рода *Hedysarum* L., произрастающие на территории Северного Кавказа. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 1 – Сравнительная морфологическая характеристика видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Северного Кавказа.

№	Наименование вида	Жизненная форма	Листья	Элементы соцветия, строение цветка	Плод	Литература (ЛИТ)
1	Копеечник шелковистый– <i>Hedysarum sericeum</i> M. Bieb.	Бесстебельное, 10-20 см высотой.	Листочки продолговато яйцевидные, сверху голые, темно-зеленые, мелко бугорчатые, снизу густо серопушистые.	Кистеножки почти голые или прижато пушистые. Зубцы чашечки шиловидные, короче венчика. Венчик желтый или фиолетовый. Лодочка вдвое длиннее крыльев, короче флага.	Членики боба серопушистые, сетчато морщинистые, иногда с колючками.	[32, 128]
2	Копеечник изящный– <i>Hedysarum elegans</i> Boiss. et Huet.	Бесстебельное, 10-20 см высотой.	Опушение черешков и кистеножек слегка оттопыренное, листочков и сверху и снизу прижато шелковисто серебристое. Листочки в числе 4-5 пар яйцевидно округлые, тупые.	Зубцы чашечки шиловидные, значительно длиннее трубочки. Венчик пурпуровый, на одну треть длиннее чашечки; лодочка немного короче флага и немного длиннее крыльев.	Членики боба бугорчато колючие, морщинистые.	[32, 128]
3	Копеечник серебристый– <i>Hedysarum argenteum</i> M. Bieb.	Бесстебельное, 20-40 см высотой.	Листья 3–6-парные. Листочки сверху прижато волосистые, снизу серебристо-густо-опушенные, продолговато яйцевидные, тупые.	Кистеножки обычно длиннее листьев, прижато серебристо-пушистые. Чашечка равна венчику или немного короче его. Венчик пурпуровый. Лодочка почти вдвое длиннее крыльев, немного короче флага или почти равна ему.	Членики боба бело-пушистые, сетчато морщинистые, иногда зубчатые	[32, 128]
4	Копеечник Бордзиловский– <i>Hedysarum Bordzilowskyi</i> Grossh.	Бесстебельное, 3-11 см высотой.	Листья 2–3-парные, нижние иногда из одного листочка. Листочки сверху прижато волосистые, зеленые, снизу серебристо-шелковистые.	Кистеножки едва или почти вдвое длиннее листьев. Кисти 7–16-цветковые. Чашечка в 1 ¹ / ₂ –2 раза короче венчика. Венчик розовато-фиолетовый. Лодочка почти вдвое длиннее крыльев, почти равна флагу.	Членики боба пушистые, поперечно морщинистые	[20, 32, 128]
5	Копеечник дагестанский– <i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss. (рисунок 1в).	Бесстебельный стержнекорневой многолетник.	Цветоносы с кистями длиной 10-25 см. Все части растения серого цвета от прижатого опушения. Листья с обеих сторон покрыты шелковистым опушением, с 2–3-парами боковых листочков, продолговатые, заостренные, длиной до 18 мм и шириной до 8 мм. Верхушечный листочек более крупный. Прилистники сросшиеся.	Кисти немногочетковые, густые. Цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые. Чашечка в 4 раза короче венчика. Лодочка короче флага и в 2 раза длиннее крыльев.	Бобы из 2–4 члеников. Членики чечевицеобразные, бородавчатые	[32, 77, 128]

6	Копеечник белый– <i>Hedysarum candidum</i> M. Bieb. (рисунок 1e).	Бесстебельное, 15-20 см высотой.	Листья из 2–5 пар яйцевидно овальных или округло овальных, туповатых, сверху прижато пушистый, зеленых, снизу серебристо-пушистых листочков. Прилистники сросшиеся.	Кистеножки равны листьям или длиннее их, пушистые. Кисти немного-цветковые, густые, впоследствии удлинняющиеся. Зубцы чашечки длинно шиловидные, равные венчику или часто превышающие его. Венчик бледно-желтый, иногда бледно пурпуровый; лодочка длиннее флага.	Членики боба сетчатые, бело-волосистые, зубчатые или бугорчатые.	[32, 77, 128]
7	Копеечник красивый– <i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey. ex Basin. (рисунок 1д).	Стебли очень толстые, крепкие, до 5 мм в диаметре, прямые, слегка извилистые, ветвистые.	Прилистники крупные, ланцетные, нижние сросшиеся, верхние обычно свободные. Листья из 6–10 пар продолговато эллиптических, сверху голых, снизу пушистых листочков.	Кисти длиннее листьев. Венчик желтый. Лодочка равна крыльям, образует острый угол.	Членики боба эллиптические, сетчато морщинистые, пушистые, густо щетинисто-игольчатые	[32, 128]
8	Копеечник пестрый– <i>Hedysarum varium</i> Willd.	Стебли восходящие, многочисленные, ветвистые.	Листья из 3–5 пар продолговатых или эллиптических, тупых, реже островатых, сверху голых, снизу более или менее пушистых листочков.	Кисти густые, равные листьям или длиннее их. Чашечка значительно короче венчика; зубцы ее в 1½ раза длиннее трубочки. Венчик желтый; лодочка на верхушке фиолетовая, равная крыльям, короче флага, на сгибе закругленная.	Членики боба покрыты членистыми щетинистыми волосками, равными почти половине диаметра членика.	[32, 128]
9	Копеечник грузинский– <i>Hedysarum ibericum</i> M. Bieb.	Почти голое зеленое растение. Стебли ветвистые, восходящие.	Листья из 4–8 пар эллиптических, сверху голых, снизу рассеянно прижато пушистых листочков.	Кисти не густые, 10–20-цветковые, длиннее листьев. Зубцы чашечки равны трубочке. Венчик пурпуровый. Лодочка почти равна флагу и немного длиннее крыльев.	Членики боба округлые или эллиптические, по краям с выдающейся сетью жилок, прижато пушистые, редко с колочками.	[32, 128]
10	Копеечник Туркевича– <i>Hedysarum Turkewiczii</i> B. Fedtsch.	Высота до 50 см. Стебли многочисленные, прижато волосистые.	Прилистники ланцетные. Листочки 3–5-парные, яйцевидно-эллиптические, снизу серовато-пушистые.	Кисти длиннее листьев. Чашечка бело-волосистая. Венчик ярко пурпурово-фиолетовый. Флаг широкий, внезапно суженный в узкий ноготок.	Бобы густо коротко волосистые.	[32, 128]
11	Копеечник яркий– <i>Hedysarum nitidum</i> Willd.	Все растение густо серебристо-пушистое. Стебли прямые или восходящие	Листья из 5–7 пар эллиптических или эллиптически-линейных, туповатых, с обеих сторон пушистых листочков.	Кисти длиннее листьев, густые. Чашечка короче венчика; зубцы ее длиннее трубочки. Венчик желтый; лодочка и крылья на верхушке иногда пурпуровые.	Членики боба густо прижато пушистые, круглые, сетчатые, иногда с рассеянными щетинками.	[32]
12	Копеечник кавказский– <i>Hedysarum caucasicum</i> M. Bieb. (рисунок 1б).	Растение высокое, 30-50 см высотой. Нижние междоузлия не укороченные.	Листья рассеяны по всему стеблю, из 7–12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке.	Кисти на длинных ножках, в 1½–2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Венчик темно-пурпуровый.	Членики боба не крупные, гладкие или слегка зубчатые.	[32, 128]

13	Копеечник армянский– <i>Hedysarum armenum</i> Boiss. et Tchih.	Растение невысокое, 10-20 см высотой. Нижние междоузлия стеблей укороченные.	Листья из 10–13 пар эллиптических или продолговато эллиптических, темно-зеленых листочков.	Кисти на крепких ножках, длиннее листьев, густые. Зубцы чашечки обычно очень короткие, нижние вдвое короче трубочки, верхние еще короче. Венчик темно-пурпуровый.	Членики боба рассеянно прижато пушистые, довольно крупные.	[32, 128]
14	Копеечник крымский– <i>Hedysarum tauricum</i> Pall. ex Willd.	Стебли ветвистые, восходящие, 20-35 см высотой.	Листочки очень узкие, линейно-ланцетные, в числе 6–10 пар, пушистые или голые.	Кисти длиннее листьев, сначала сжатые, позже удлинненные. Чашечка в 3–4 раза короче венчика. Зубцы ее вдвое длиннее трубочки. Венчик пурпуровый.	Членики боба округло эллиптические, бело-пушистые, невооруженные, сетчато морщинистые.	[32, 128]
15	Копеечник азербайджанский– <i>Hedysarum atropatanum</i> Bunge ex Boiss. (рисунок 1г).	Стебли 30-60 см высотой, белые, прямые, рассеянно прижато волосистые.	Листья 6–10-парные; листочки продолговато линейные, с обеих сторон, но снизу гуще прижато серо-волосистые.	Кистеножки длиннее листьев; кисти густые, многоцветковые, при плодах удлинняющиеся. Зубцы чашечки из треугольного основания шиловидные, немного длиннее трубочки. Венчик ярко пурпуровый, 15–18 мм длиной, втрое длиннее чашечки.	Членики боба округлые, по поверхности густо, но не длинно пушисто волосистые.	[32, 128]
16	Копеечник рослый– <i>Hedysarum vegetius</i> B. Fedtsch.	Все растение мелко густо прижато почти серебристо-пушистое. Стебли 20-40 см высотой.	Листья 5–7-парные; листочки несколько расставленные, узко линейные или эллиптически-линейные, на середине листа 18–25 мм длиной, 1,5–3 мм шириной. Кистеножки немного длиннее листьев.	Кисти не густые, 20–30-цветковые, при плодах мало удлинняющиеся. Зубцы чашечки шиловидные, в 3–4 раза длиннее трубочки. Венчик около 10 мм длиной, серовато-розоватый.	Членики боба яйцевидные, по поверхности оттопырено густо и длинно мягко щетинисто волосистые	[20, 32, 128]
17	Копеечник крупноцветковый– <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall. (рисунок 1а).	Многолетник 20-40 см высотой. Бесстебельное или почти бесстебельное.	Прилистники крупные, перепончатые, сросшиеся, бурые, рассеянно-волосистые. Листья на длинных черешках, которые, как и оси, коротко прижато-волосистые и длинно отстоящее опушенные. Листочки 1–4-парные, яйцевидные или широко-эллиптические, крупные, 20–30 мм длиной, 10–18 мм шириной, сверху слабо волосистые, реже голые, снизу густо серебристо-шелковистые.	Цветоносы слегка длиннее листьев, толстые, отстоящие волосистые. Кисти многоцветковые, с отклоненными цветками. Прицветники ланцетные, светло-бурые, волосистые, чашечка колокольчатая, короче венчика, зубцы ее линейно-шиловидные, густо оттопырено-волосистые, в несколько раз длиннее трубки. Венчик 20–25 мм длиной, желтый или пурпурово-фиолетовый, флаг округло-обратно-яйцевидный, 18–25 мм длиной, наверху выемчатый, в основании суженный в короткий ноготок, длиннее лодочки, крылья 15–17 мм длиной, лодочка 17–20 мм длиной, по нижнему краю округло-угловая.	Бобы 2–5-членистые, членики округлые, густо беловолосистые, сетчато-ребристые, по краям с шипиками, загнутыми внутрь	[9, 32, 83, 128]

Таблица 2 – Сравнительная эколого-фитоценотическая характеристика видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Северного Кавказа

№	Латинское и русское название вида	Распространение, время вегетации	Географический тип ареала	Жизненная форма	Фитоценотический тип	ЛИТ
1.	Копеечник шелковстый – <i>Hedysarum sericeum</i> M.Bieb.	VI. Кавказ: Вост. Закавказье.	кавказский	гемикриптофиты	каменистые склоны	[32, 107, 128]
2.	Копеечник изящный – <i>Hedysarum elegans</i> Boiss. et Huet.	V. Кавказ: Южн.-Закавказье. Общ. распр.: Арм-Курд	армянский горный	гемикриптофиты	каменистые склоны	[32, 128]
3.	копеечник серебристый – <i>Hedysarum argenteum</i> M. Bieb.	VI. Европ.ч.: Ниж.-Дон.; Кавказ: Предкавказье.	северокавказско-донецкий	гемикриптофиты	травянистые склоны, степи	[32, 128]
4.	Копеечник Бордзиловский – <i>Hedysarum Bordzilowskyi</i> Grossh.	VII. Кавказ: Южн. Закавказье.	армянский горный	гемикриптофиты	щебнистые склоны	[32, 128]
5.	Копеечник дагестанский – <i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	VI. Кавказ: Даг.	дагестанский	гемикриптофиты	известковые склоны, каменистые места, от 1200 до 1500 м над. у.м.	[32, 128]
6.	Копеечник белый – <i>Hedysarum candidum</i> M. Bieb.	Европ.ч.: Крым; Кавказ: Зап.-Закавказье.	таврический	гемикриптофит, кальцефил, ксерофит,	каменистые, нередко меловые склоны, реже в ковыльные степи	[32, 77, 128]
7.	Копеечник красивый – <i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey. ex Basin.	V. Кавказ: Южн.-Закавказье. Общ.распр.: Иран., Балк.-Малоаз (Болгария)	североиранский	гемикриптофиты	солонцеватые степи	[32, 128]
8.	Копеечник пестрый – <i>Hedysarum varium</i> Willd.	VI. Кавказ: Южн. Закавказье. Общ. распр.: Малоаз., Арм-Курд	малоазийский	гемикриптофиты	сухой склон	[32, 128]
9.	Копеечник грузинский – <i>Hedysarum ibericum</i> M. Bieb.	V- VI. Кавказ: Южн. и Вост. Закавказье.	не установлен	гемикриптофиты	сухой каменистый склон	[32, 128]
10.	Копеечник Туркевича – <i>Hedysarum Turkewiczii</i> V. Fedtsch.	VI – VII. Кавказ: Южн. Закавказье. Общ. распр.: Малоазиат	малоазийский	гемикриптофиты	глинистые и каменистые склоны, мергелистые осыпи	[32, 128]
11.	Копеечник яркий – <i>Hedysarum nitidum</i> Willd.	Кавказ: Закавказье	армянский горный	гемикриптофиты	В среднем горном поясе, на сухих склонах	[32, 128]

12.	Копеечник кавказский – <i>Hedysarum caucasicum</i> M. Bieb.	VII. Кавказ: Предкавк., Зап. и Вост. Закавк., Даг.	кавказский	гемикриптофиты	высокогорные луга, 2000-3000 м., на субальпийских лугах, на моренах, на осыпях, криволесьях	[32, 107, 112, 128]
13.	Копеечник армянский – <i>Hedysarum armenum</i> Boiss. et Tchih.	VII. Кавказ: Предкавкю, Зап. и Южн. Закавк. Общ.распр.: Арм-Курд	армянский горный	гемикриптофиты	горные луга на высоте 2100-3000 м.	[32, 128]
14.	Копеечник крымский – <i>Hedysarum tauricum</i> Pall. ex Willd.	VI. Европ.ч.: Крым; Кавказ: Зап.-Закавк. Общ.распр.: Балк.	таврический	гемикриптофиты	сухие известковые склоны	[32, 128]
15.	Копеечник азербайджанский – <i>Hedysarum atropatanum</i> Bunge ex Boiss.	VI. Кавказ: Южн. Закавк. Общ. распр.: Иран.	не установлен	гемикриптофиты	глинистые скалы	[32, 128]
16.	Копеечник рослый – <i>Hedysarum vegetius</i> B. Fedtsch.	IV-V. Кавказ: Южн.- Закавк. Ср.Азия: Горн.- Туркм. Общ. распр.: Иран.	иранский	гемикриптофит	каменистые склоны в предгорьях	[32, 128]
17.	Копеечник крупноцветковый – <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	V-VII. Европ.ч.: Волж.- Кам.. Волж.- Дон., Заволж., Причерн.; Зап. Сибирь: Верх.-Тоб. (Орский район).	не определен	гемикриптофит, петрофит, мезоксерофит, кальцефил	лесостепь, каменистые степи, щебнистые склоны, на мощных слаборазвитых черноземах, известняки, гипсы; меловые степи, сосняки, степные склоны. урочищ	[32, 45, 61, 83, 84, 92, 128]

Кариологические показатели для видов рода *Hedysarum* L. представлены следующими значениями $2n=28, 56$; $2n=14$; $2n=28, 32, 48$; $2n=56$ (для *Hedysarum gmelinii*) [74]. Известны работы по анатомо-гистологическому анализу корней копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.) [102]. По анатомо-диагностическим признакам листа проведен сравнительный анализ копеечника кустарникового (*Hedysarum fruticosum* Pall.) и копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.), при этом выявлены различия формы рахиса на поперечном сечении, строения устьичного аппарата и трихом [60]. Для анатомического строения листа копеечника кустарникового (*Hedysarum fruticosum* Pall.) приводятся следующие отличительные показатели, такие как наличие гиподермы, присутствие пигментированных клеток в гиподерме и мезофилле листа [59].

1.2 Краткая характеристика основных БАВ, содержащихся в растениях рода *Hedysarum* L.

Химический состав различных видов рода *Hedysarum* L. был изучен отечественными авторами: Неретина О.В. [86, 87, 88], Громова А.С. [86, 87, 88], Луцкий В.И. [86, 87, 88], Семенов А.А. [131], Федоров С.В. [88], Елькин Ю.Н. [88], Нечепуренко И.В. [89], Половинка М.П. [89], Комарова И.Н. [89], Куваев В.Б. [66], Глызин В.И. [22, 23, 24], Глызина Г.С. [26, 27], Баньковский А.И. [22, 66], Быков В.И. [23, 26], Соловьева Е.В. [115], Хоциалова Л.И. [115], Кривут Б.А. [64], Майсурадзе Н.И. [115], Пименов М.Г. [22, 36], Боряев К.И. [42], Денисова-Дятлова О.А. [35, 36, 37], Гавриленко Б.Д. [37], Русакова С.В. [109], Нухимовский Е.Л. [109], Павлова Н.С., Надеждина Н.П. [62], Комиссаренко А.Н. [62], Алания М.Д. [3], Рыбаченко А.И. [110] и др. [21] и зарубежными: Ma X.Q. [178], Jiang W. [159], Duan Z. [149], Xing G. [213], Yang M. [215], Wang W. [208, 209], Li Y. [168], Wang W. [203], Hai L.Q. [155, 156], Zhang Q.Y., Du N.S., Liu Y. [170, 172, 173, 175], Tu G.Z., Wang W.A. [207] и др. Данные о биологически активных веществах, обнаруженных в растениях рода *Hedysarum* L., систематизированы и приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Биологически активные вещества представителей рода *Hedysarum* L.

Название соединений	Вид	Часть растений	ЛИТ
Ксантоны			
Мангиферин	<i>H. alpinum</i> L.	надземные органы, листья, соцветия	[3, 7, 19, 22, 24, 26, 36, 37, 40, 58, 62, 64, 66, 72, 87, 107, 109, 110, 115, 133]
	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	надземные органы, корни, стебли	
	<i>H. flavescens</i> Regel. et Schmalh.	надземные органы, листья, соцветия	
	<i>H. caucasicum</i> M. Bieb.	надземные органы, листья, соцветия	
	<i>H. grandiflorum</i> Pall.	надземные органы	
	<i>H. sericeum</i> M. Bieb.	надземные органы, листья	
	<i>H. sachalinense</i> B. Fedtsch.	надземные органы	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	надземные органы, листья	
	<i>H. consanguineum</i> DC.	надземные органы	
	<i>H. denticulatum</i> Regel. et Schmalh.	листья, соцветия	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	надземные органы, листья, соцветия	
	<i>H. semenovii</i> Regel. et Herd.	надземные органы, листья, соцветия	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	листья	
	<i>H. theinum</i> Krasnob.	надземные органы	
	<i>H. tschuense</i> A.I. Pjak et A.L. Ebel	листья	
	<i>H. arcticum</i> B.Fedtsch.	надземные органы	
	<i>H. cephalotes</i> Franch.	надземные органы	
<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы		
<i>H. komarovii</i> B.Fedtsch.	надземные органы		
Изомангиферин	<i>H. alpinum</i> L.	надземные органы	
	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.	надземные органы	
	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	надземные органы	
	<i>H. sachalinense</i> B. Fedtsch	надземные органы	
	<i>H. flavescens</i> Regel. et Schmalh.	надземные органы	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	надземные органы	
	<i>H. consanguineum</i> DC.	надземные органы	
	<i>H. denticulatum</i> Regel. et Schmalh.	листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	надземные органы	
	<i>H. semenovii</i> Regel. et Herd.	надземные органы	
	<i>H. arcticum</i> B.Fedtsch	надземные органы	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
<i>H. komarovii</i> B.Fedtsch.	надземные органы		

	<i>H. theinum</i> Krasnob.	надземные органы	
Глюкоизомангиферин	<i>H. flavescens</i> Regel. et Schmalh.	надземные органы	[22]
Глюкомангиферин	<i>H. flavescens</i> Regel. et Schmalh.	надземная часть	
Флавоноиды			
Гиперозид	<i>H. alpinum</i> L.	листья	[3, 6, 10, 13, 18, 22, 23, 24, 27, 42, 58, 62, 69, 70, 79, 80, 86, 87, 88, 95, 98, 107, 131, 143, 146, 152, 178, 204, 205, 206, 218]
	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	надземные органы	
	<i>H. sachalinense</i> B.Fedtsch.	надземные органы, листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	надземные органы, листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz et Thell.	листья	
	<i>H. sericeum</i> M. Bieb.	надземные органы	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	листья	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
Полистахозид	<i>H. komarovii</i> B.Fedtsch.	надземные органы	
	<i>H. alpinum</i> L.	листья	
	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	надземные органы	
	<i>H. sachalinense</i> B.Fedtsch.	надземные органы, листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz et Thell.	листья	
Хедизирид-1	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
	<i>H. alpinum</i> L.	листья	
	<i>H. sachalinense</i> B.Fedtsch.	листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	листья	
Рутин	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	листья	
	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.	все растение	
Кверцетин	<i>H. varium</i> Willd.	цветки	
	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.	надземные органы	
	<i>H. sericeum</i> M.Bieb.	надземные органы	
	<i>H. carnosum</i> Desf.	цветки	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	
Изокверцитрин	<i>H. setigerum</i> Turcz. ex Fisch. et Mey.	надземные органы	
	<i>H. sericeum</i> M.Bieb.	надземные органы	

Кемпферол	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.	надземные органы	
	<i>H. sericeum</i> M.Bieb.	надземные органы	
Антозид	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.	надземные органы	
	<i>H. sericeum</i> M.Bieb.	надземные органы	
Авикулярин	<i>H. gmelinii</i> Ledeb.	надземные органы	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
	<i>H. komarovii</i> B.Fedtsch.	надземные органы	
	<i>H. setigerum</i> Turcz. ex Fisch. Et Mey.	надземные органы	
Формононетин	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	
Каликозин	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	
Ононин	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	
Изоликвиритигенин	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	
Изолихиритигенин	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	
Флавоноиды	<i>H. flavescens</i> Regel. et Schmalh.	корни, стебли	
	<i>H. consanguineum</i> DC.	надземные органы	
	<i>H. denticulatum</i> Regel. et Schmalh.	корни, стебли, листья, цветки	
	<i>H. ferganense</i> Korsh.	стебли, листья, цветки, семена	
	<i>H. gmelinii</i> Ledeb.	листья, цветки, семена, стебли	
	<i>H. semenovii</i> Regel et Herd.	листья, соцветия	
	<i>H. dahuricum</i> Turcz. ex B. Fedtsch.	надземные органы	
	<i>H. fruticosum</i> Pall.	надземные органы	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
	<i>H. sangilense</i> Krasnob. et Timochina	надземные органы	
	<i>H. setigerum</i> Turcz. ex Fisch. et Mey.	надземные органы	
	<i>H. turczaninovii</i> Peschkova	надземные органы	
	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	подземные органы	
	<i>H. microphyllum</i> Turcz.	подземные органы	
Дубильные вещества			
Дубильные вещества	<i>H. alpinum</i> L.	надземные органы	[12, 38, 58, 65, 98, 107, 114, 121, 161, 176]
	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.	все растение	
	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	корни, надземные органы	
	<i>H. consanguineum</i> DC.	надземные органы	
	<i>H. ferganense</i> Korsh.	стебли, листья, цветки, семена	
	<i>H. gmelinii</i> Ledeb.	стебли, листья, цветки, семена	

	<i>H. inundatum</i> Turcz	листья	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	листья	
	<i>H. varium</i> Willd.	семена	
	<i>H. consanguineum</i> DC.	стебли, цветки, листья, семена	
	<i>H. theium</i> Krasnob.	стебли, цветки, листья, семена	
	<i>H. varium</i> Willd.	семена	
Алкалоиды			
Алкалоиды	<i>H. alpinum</i> L.	надземные органы	[4, 6, 12, 68, 69, 79, 107, 111, 134, 159]
	<i>H. flavescens</i> Regel. et Schmalh.	корни, стебли, листья, плоды	
	<i>H. denticulatum</i> Regel et Schmalh.	корни, стебли, листья, цветки	
	<i>H. semenovii</i> Regel et Herd.	корни, надземные органы	
	<i>H. baldshuanicum</i> B. Fedtsch	корни, стебли, листья	
	<i>H. dahuricum</i> Turcz. ex B.Fedtsch	стебли, листья	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
Цитизин	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	все растение	
γ -аминомасляная кислота	<i>H. vicioides</i> Turcz.	стебли, листья	
Сапонины			
Сапонины	<i>H. alpinum</i> L.	корни	[4, 12, 42, 68, 69, 107, 132, 206, 178]
	<i>H. denticulatum</i> Regel. et Schmalh.	корни, стебли, листья, цветки	
	<i>H. gmelinii</i> Ledeb.	надземные органы	
	<i>H. semenovii</i> Regel. et Herd.	надземные органы	
	<i>H. baldshuanicum</i> B.Fedtsch	корни, стебель, листья	
	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни, подземные органы	
Тритерпеновые	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	корни	
Жирные масла			
Жирные масла	<i>H. varium</i> Willd.	семена	[107, 161, 176]
	<i>H. coronarium</i> L.	семена	
Полисахариды			
Полисахариды	<i>H. alpinum</i> L.	корни, стебли, листья	[23, 24, 87, 93, 107, 168, 195, 200, 206, 217]
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	корни, стебли, листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	корни, стебли, листья	
	<i>H. hedsaroides</i> Schinz. et Thell.	листья	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	корни, стебли, листья	
	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	подземные органы	
	<i>H. coronarium</i> L.	надземные органы	

	<i>H. sachalinense</i> B.Fedtsch	корни, стебли, листья	
	<i>H. komarovii</i> B.Fedtsch.	надземные органы	
	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	надземные органы	
	<i>H. connatum</i> B.Fedtsch.	надземные органы	
	<i>H. setigerum</i> Turcz. ex Fisch. et Mey.	надземные органы	
Крахмал	<i>H. alpinum</i> L.	корни, стебли	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	корни, стебли	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	корни, стебли	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	корни, стебли	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	корни, стебли	
	<i>H. sachalinense</i> B.Fedtsch.	корни, стебли, листья	
Арабиноза	<i>H. alpinum</i> L.	корни, стебли, листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	корни, стебли, листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	корни, стебли, листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	корни, стебли, листья	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	корни, стебли, листья	
Ксилоза	<i>H. alpinum</i> L.	корни, стебли, листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	корни, стебли, листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	корни, стебли, листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	корни, стебли, листья	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	корни, стебли, листья	
Рамноза	<i>H. alpinum</i> L.	корни, стебли, листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	корни, стебли, листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	корни, стебли, листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	корни, стебли	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	корни, стебли, листья	
Галактоза	<i>H. alpinum</i> L.	корни, стебли, листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	корни, стебли, листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	корни, стебли, листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	корни, стебли, листья	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	корни, стебли, листья	
Галактуроносовая кислота	<i>H. alpinum</i> L.	корни, стебли, листья	
	<i>H. branthii</i> Trautv. et Mey.	корни, стебли, листья	
	<i>H. dasycarpum</i> Turcz.	корни, стебли, листья	
	<i>H. hedysaroides</i> Schinz. et Thell.	корни, стебли, листья	
	<i>H. ussuriense</i> Schischk. et Kom.	корни, стебли, листья	

Сахароза	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	цветки, плоды	
	<i>H. consanguineum</i> DC.	листья, цветки, плоды	
	<i>H. ferganense</i> Korsh.	листья, цветки, плоды	
	<i>H. gmelinii</i> Ledeb.	листья, цветки, плоды	
	<i>H. coronarium</i> L.	корни, надземные органы	
	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	
	<i>H. sikkimense</i> Betham. ex Baker.	надземные органы	
Аминокислоты			
Аминокислоты	<i>H. coronarium</i> L.	надземные органы	[58, 97, 149, 159, 195, 213]
	<i>H. ferganense</i> Korsh.	стебли, листья, бутоны цветки, незрелые и зрелые плоды	
	<i>H. gmelinii</i> Ledeb.	стебли, листья, бутоны цветки, незрелые и зрелые плоды	
	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни, каллус	
	<i>H. theium</i> Krasnob.	стебли, цветки, листья, семена	
Каванин	<i>H. alpinum</i> L.	семена	[107, 140]
Кумарины			
Кумарины	<i>H. alpinum</i> L.	надземные органы	[6, 12, 42, 107]
	<i>H. flavescens</i> Regel. et Schmalh.	надземные органы	
	<i>H. gmelinii</i> Ledeb.	надземные органы	
	<i>H. neglectum</i> Ledeb.	корни	
	<i>H. dahuricum</i> Turcz. ex B.Fedtsch	надземные и подземные органы	
	<i>H. inundatum</i> Turcz.	надземные органы	
Фитоэстрогены			
Фитоэстрогены	<i>H. arcticum</i> Boiss. et Tchih.	надземные органы	[87, 107]
Оксикоричные кислоты			
Феруловая кислота	<i>H. polybotrys</i> Hand.-Mazz.	корни	[218]

По данным литературы можно сделать вывод о перспективных, мажорных соединениях – ксантонах, а также при выполнении дальнейших исследований учесть присутствие флавоноидов, оксикоричных кислот, сапонинов, дубильных веществ, а также аминокислот, участвующих в биосинтезе вторичных метаболитов. Виды, исследуемые в данной работе (*H. grandiflorum* Pall., *H. caucasicum* M.Bieb. и *H. daghestanicum* Rupr. ex. Boiss.), с фитохимической точки зрения не являются изученными. Для копеечника кавказского указаны только сумма ксантонов в пересчете на мангиферин [3], химический состав копеечника дагестанского и копеечника крупноцветкового не изучен [107].

1.3 Характеристика класса ксантонов

Ксантоны – природные фенольные соединения, включающие структуру дибензо- γ -пирона (рисунок 2).

Немецкий ученый Шмидт еще в 1855 году выделил кристаллическое соединение желтого цвета из *Garcinia mangostana* L., вследствие чего и получило название ксантон, которое используется до сих пор [35, 71, 75, 85, 124].

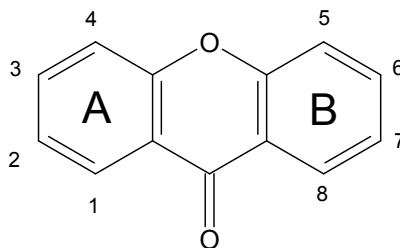


Рисунок 2 – Основной «скелет» ксантона

Впервые в 1921 г. из горечавки желтой выделен генцизин. А в 1969 году активное изучение ксантонов продолжилось в Японии, Швеции, Индии и Франции. На данный момент известно более 300 производных ксантонового ряда. Ксантоны как самостоятельный класс фенольных соединений введены профессором Куркиным В.А. в отечественную фармакогнозию в 1992 году.

Существует несколько классификаций природных ксантонов [35, 75, 85, 124]. В.А. Куркин классифицировал ксантоны на пять групп: 1) собственно ксантоны; 2)

пирано- и дигидропираноксантоны; 3) дипираноксантоны; 4) фураноксантоны; 5) ксантолигноиды [75].

Глызин В.И. и Денисова-Дятлова О.А. выделили три группы ксантонов (таблица 4): 1. собственно ксантоны, замещенные в положениях 1-8 окси-, алкокси-, алкильными и алкенильными группами, С- и О-гликозидными остатками, а также атомами хлора; 2. пирано- и дигидропираноксантоны; 3. фурано- и дигидрофураноксантоны [35]. В зарубежной литературе можно встретить работы, в которых ксантоны классифицируют на: простые оксипроизводные ксантоны, ксантоновые гликозиды, пренилированные и связанные ксантоны, ксантонолигноиды и смешанные ксантоны [189].

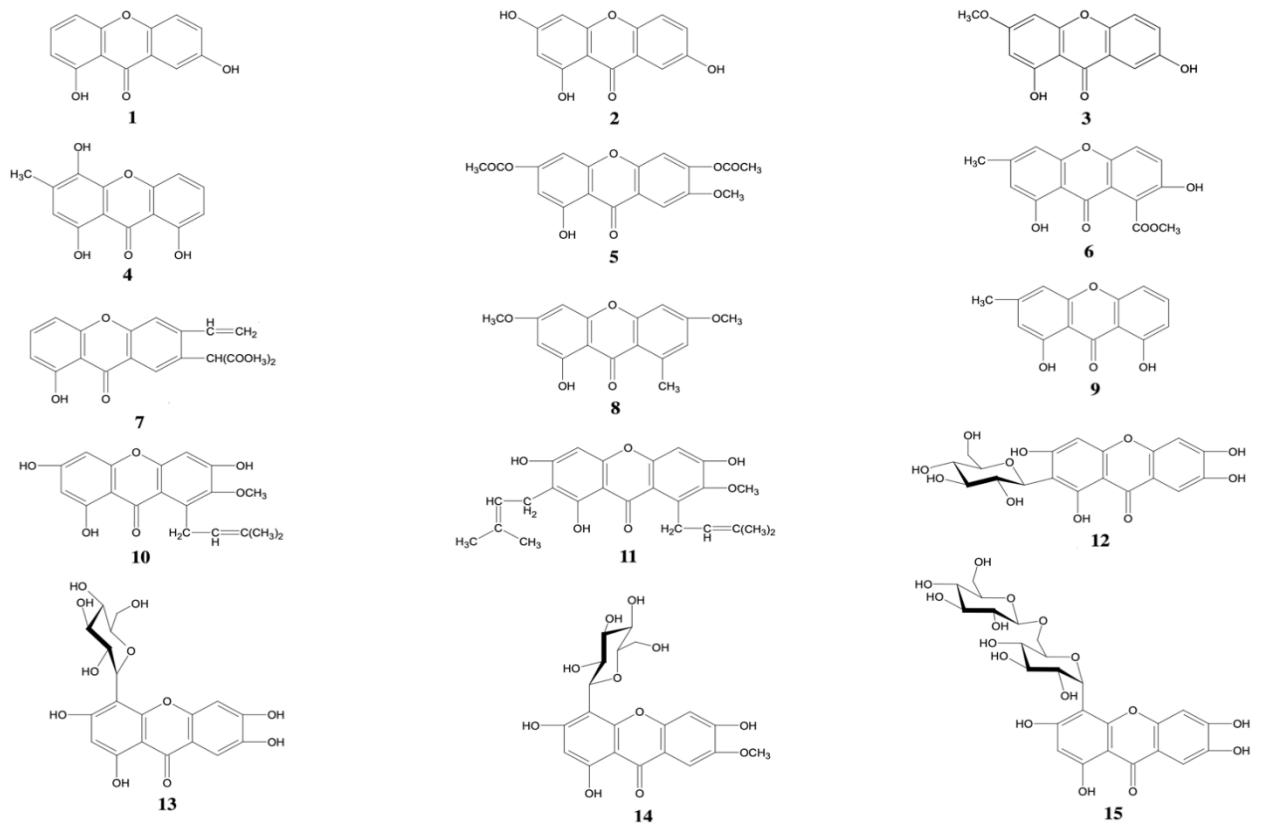
Кроме того, ксантоны подразделяют на классы: ксантоновые мономеры и ксантоновые димеры и гетеродимеры. Данные два класса подразделяются на четыре подкласса: ароматические, дигидроксантоны, тетрагидроксантоны и гексагидроксантоны [179].

Таблица 4 – Классификация ксантонов

Ксантоны	Выделено из вида рода	ЛИТ
I. Собственно ксантоны		
<i>Окси- и метокси-производные ксантона</i>		
Эйксантон 1,7-диоксиксантон (1)	<i>Mangifera indica</i> и <i>Platonia insignis</i>	[34, 35, 111]
Гентизин 1,3,7 -триоксиксантон (2)	<i>Mangifera indica</i> и <i>Platonia insignis</i>	[34, 35, 111]
Гентизеин 3-метокси-1,7-диоксиксантон (3)	<i>Gentiana lutea</i> L.	[34, 35, 111]
Ревенелин 3-метил-1,4,8-триоксиксантон (4)	продукт метаболизма <i>Helminthosporium ravenelii</i> Curt. и <i>H. turcicum</i> Pass.	[35, 111, 179]
<i>Ацетокси-производные ксантона</i>		
3,6-диацетокси-1-окси-7-метоксиксантон (5)	<i>Lawsonia inermis</i> (Lythraceae)	[35, 111]
<i>Карбометокси-производные ксантона</i>		
Пинселиновая кислота (6)	<i>Cassia occidentalis</i> (Fabaceae)	[35, 179]
(7)	<i>Mycosphaerella rosigena</i>	[35]
<i>Метил-производные ксантонов</i>		
1-окси-3,6-диметокси-8-метилксантон (8)	Мицелии некоторых грибов	[35]
1,8-диокси-3-метилксантон (9)	Высшие растения	[35]

<i>Ксантоны, содержащие изопренильный радикал</i>		
(10)	Растения семейства <i>Guttiferae</i>	[35]
(11)	Растения семейства <i>Guttiferae</i>	[35]
<i>Ксантоновые С-гликозиды</i>		
Мангиферин 2-С-β-D-глюкопиранозил-1,3,6,7- тетраоксиксантон (12)	<i>Mangifera indica</i>	[34, 182, 210, 216]
Изомангиферин 4-С-β-D-глюкопиранозил-1,3,6,7- тетраоксиксантон (13)	<i>Mangifera indica</i>	[35]
7-О-метилизомангиферин (14)	<i>Iris florentina</i> L.	[216]
Глюкоизомангиферин 4-С-β-D-глюкобиозил-1,3,6,7- тетраоксиксантон (15)	<i>Mangifera indica</i>	[35]
Ирисксантон (16)	<i>Iris florentina</i> L.	[35]
Нигриканзид (17)		[216]
7-О-метилмангиферин (18)	<i>Iris florentina</i> L.	[216]
Глюкомангиферин 2-С-β-D-глюкобиозил-1,3,6,7- тетраоксиксантон (19)	<i>Mangifera indica</i>	[35]
2-С-β-D-глюкопиранозил-1-окси- 3,5,6,7-тетраметоксиксантон (20)	<i>Hoppea dichotoma</i>	[216]
<i>Ксантоновые О-гликозиды</i>		
1-О-β-D-глюкозил-3,4,7,8- тетраоксиксантон (21)	<i>Swertia angustifolia</i> Buch.-Ham.	[35]
7-О-β-D-глюкозил-1,5,6- триокси-3-метоксиксантон (22)	<i>Hoppea dichotoma</i>	[35]
7-О-ацетилрутинозил-1,8- диокси-3-метоксиксантон (23)	<i>Gentiana bavarica</i> L.	[35]
1,3-ди-О-глюкозил-7,8- диоксиксантон (24)	<i>Swertia perennis</i> L.	[35]
Белидифолозидим 5-О-β-D-глюкопиранозил-1,8- диокси-3-метоксиксантон (25)	<i>Swertia iberica</i> Fisch. et Mey., <i>Swertia connata</i> Schrenk.	[35]
<i>Ксантоновые С-гликозиды и О-гликозиды</i>		
Неомангиферин (26)	<i>Gentiana asclepiadea</i> L.	[35, 210, 216]
мангиферин-7-О-β-D- глюкопиранозид (27)	<i>Gentiana asclepiadea</i> L.	[35, 111, 216]
II. Пирано- и фурано-производные		
(28)	Растения семейства <i>Guttiferae</i> , <i>Polygalaceae</i> , мицелии низших грибов (некоторые виды <i>Aspergillus</i>)	[35]

Товоксантон (29)	Растения семейства <i>Guttiferae</i> , <i>Polygalaceae</i> , мицелии низших грибов (некоторые виды <i>Aspergillus</i>)	[35, 111]
(30)	Растения семейства <i>Guttiferae</i> , <i>Polygalaceae</i> , мицелии низших грибов (некоторые виды <i>Aspergillus</i>)	[35]
(31)	Растения семейства <i>Guttiferae</i> , <i>Polygalaceae</i> , мицелии низших грибов (некоторые виды <i>Aspergillus</i>)	[35]
(32)	Растения семейства <i>Guttiferae</i>	[35]
(33)	Растения семейства <i>Guttiferae</i>	[35]
Стеригматин (34)	Мицелии низших грибов (некоторые виды <i>Aspergillus</i>)	[35, 179]
(35)	Мицелии низших грибов (некоторые виды <i>Aspergillus</i>)	[35]



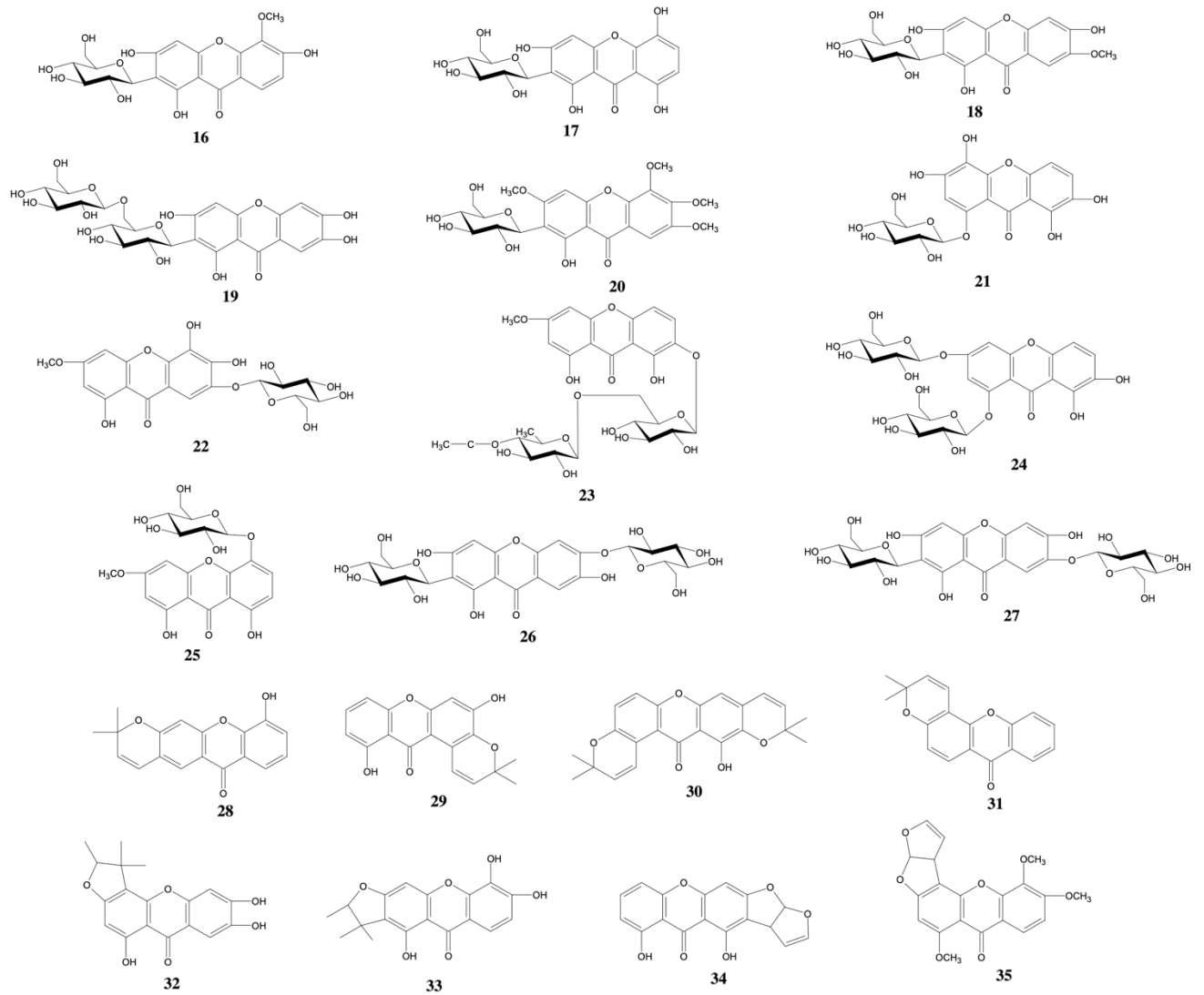


Рисунок 3 – Ксантоновые соединения

Наибольшую известность приобрел С-гликозид мангиферин, который обладает выраженной фармакологической активностью [124].

Мангиферин (1,3,6,7-тетрагидроксиксантон-С2-β-D-гликозид) – светло-желтый мелкокристаллический порошок, растворимый в метаноле, спирте этиловом, щелочах и нерастворимый в воде, хлороформе [135].

Физико-химические свойства мангиферина представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Физико-химические свойства мангиферина

№	Температура плавления	λ max, нм	Ик (KBr), cm^{-1}	ЯМР, ppm	Литература
1.	269-270 °C	205.6; 256.8; 238.4; 315.2; 367.2	3366 (O-H); 2937 (C-H); 1649 (>C=O); 1495 (C=C); 1253 (-C-O); 1050 (C-O-C)	Спектр ^1H ЯМР: 13.81 (ArOH intramolecularly bonded, 1H); 7.9 (ArOH, 3H); 6.82 (Ar-H, 1H); 6.36 (Ar-H, 1H); 7.4 (ArH, 1H); Спектр ^{13}C ЯМР: 2.5 (-C-OH, 4H); 3.7 (-CH-O-, 2H); 3.3 (-CH-, 2H); 3.5 (-CH-, 3H)	[198]
2.	292 °C	240; 258; 316; 364	3367 (O-H); 2918,38, 2849,99 (C-H); 1670 (>C=O); 1624,26 (C=C); 1253,98 (-C- O); 1051,52 (C-O-C)	Спектр ^1H ЯМР: 13.76 (s, 1H, 1 -OH); 10.55 (s, 1H, 6, 7- OH); 9.86 (s, 1H, 3-OH); 7.38 (s, 1H, 8H); 6.37 (s, 1H, 4H)	[139]
3.	_____	240; 257; 317; 365; 390	_____	Спектр ^1H ЯМР: 13.76 (s, 1H, 1 -OH); 10.55 (s, 1H, 6, 7- OH); 9.86 (s, 1H, 3-OH); 4.86 (s, 2H, 3',4'-OH); 4.49 (s, 1H, 6'-OH); 7.38 (s, 1H, 8H); 6.86 (s, 1H, 5-H); 6.37 (s, 1H, 4H)	[154]
4.	258-262 °C	240, 257, 315, 364,	_____	Спектр ^1H ЯМР: 3,71(-CH-O-, 2H)	[24]
5.	266 °C	240, 258, 318, 366	3397 (O-H); 3182 (C=H); 2902 (C-H); 1649 (C=O); 1621 (C=C); 1256 (-C-O); 1195 (C-O-C); 1095 (O-H)	Спектр ^1H ЯМР: 13,75 (1H, c, 1-OH); 10,67 (1H, c, 7-OH); 10,56 (1H, c, 6-OH); 7,38 (1H, c, H-8); 6,86 (1H, c, H-5); 6,37 (1H, c, H-4); 3,11-4,86 (11H); Спектр ^{13}C ЯМР: 179,1 (C=O); 163,9 (C-3); 161,8 (C-1); 156,2 (C-4a); 154 (C-6); 150,8 (C-4b); 143,7 (C-7); 111,8 (C-8a); 108,1 (C-8); 107,6 (C-2); 102,7 (C-5); 101,3 (C-8b); 93,3 (C-4); 81,6 (C-5'); 79,0 (C-3'); 73,1 (C-1'); 70,7 (C- 2'); 70,3 (C-4'); 61,5 (C-6').	[17]
6.	_____	258, 318, 366	_____	Спектр ^1H ЯМР: 6.87 (s, H8); 7.43 (s, H5); 6.37 (s, 1H, 4H); 4,78(d, H2', H4) Спектр ^{13}C ЯМР: 180,2 (C=O); 164,4 (C-3); 162,4 (C-1); 157,5 (C-4a); 154,6 (C-6); 144,3 (C-7); 112,9 (C-8a); 108,8 (C-8); 107,9 (C-2); 103,1 (C-5); 94,3 (C-4); 82,1 (C-5'); 79,5 (C-3'); 73,3 (C-1'); 71,5 (C-2'); 71,2 (C-4'); 62,1 (C- 6'a).	[202]

1.4 Выделение и идентификация мангиферина из растений

Для выделения суммы биологически активных веществ, а именно суммы ксантонов из измельченного растительного сырья используются методы экстракции этиловым спиртом различной концентрации, преимущественно 50, 60, 70, 85% [64, 71, 72, 109, 115, 139, 163, 167], петролейным эфиром, хлороформом, метанолом, гексаном, ацетоном, эфиром [35], а также системой изопропанол-вода (60:40) [17].

Таблица 6 – Результаты значения коэффициента (R_f) мангиферина методом ТСХ в различных системах

Экстрагент	Система	R_f	ЛИТ
Водно-спиртовое извлечение	Уксусная кислота 30%	0,37	[24]
	бензол-этилацетат-хлороформ-ацетонитрил (9:3:1:1)	0,53	[125]
	н-бутанол-ацетон-хлороформ (80:10:3)	0,53	[125]
	уксусная кислота 15%	0,43	[120, 126]
	н-Бутанол: уксусная кислота: вода (4:1:2)	0,48	[120]
этиловый спирт 50%	Этилацетат: муравьиная кислота: ледяная уксусная кислота: вода (100:11:11:26)	0,49	[139]
	Этилацетат: ацетон: муравьиная кислота: вода (8:2:1:1)	0,43	[162]
	Этилацетат: метанол: муравьиная кислота: вода (8:2:1:1)	0,61	[162]
	Этилацетат: муравьиная кислота: вода (67:13:20)	0,53	[162]
этиловый спирт 70%	уксусная кислота 15%	0,4	[104]
этиловый спирт 85%	Этилацетат: ацетон: муравьиная кислота: вода (8:2:1:1)	0,48	[163, 167]
Метанол (70% водный раствор)	Этилацетат: ацетон: муравьиная кислота: вода (8:2:1:1)	0,43	[162]
	Этилацетат: метанол: муравьиная кислота: вода (8:2:1:1)	0,61	[162]
	Этилацетат: муравьиная кислота: вода (67:13:20)	0,53	[162]
Ацетон 70%	Этилацетат: ацетон: муравьиная кислота: вода (8:2:1:1)	0,43	[162]
	Этилацетат: метанол: муравьиная кислота: вода (8:2:1:1)	0,61	[162]
	Этилацетат: муравьиная кислота: вода (67:13:20)	0,53	[162]
этиловый спирт 95 %	н-Бутанол: уксусная кислота: вода (4:1:2,2)	0,77	[198]
водно-спиртовое извлечение	бензол- этилацетат-хлороформ-ацетонитрил (9:3:1:1)	0,53	[125]
	н-бутанол-ацетон-хлороформ (80:10:3)	0,53	[125]

Проведя анализ полученных данных, можно сделать вывод, что наиболее подходящими для идентификации мангиферина можно считать следующие

системы: н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5), хлороформ-метанол-вода (13:7:2), уксусная кислота 15%.

1.5 Применение видов рода *Hedysarum* L. в медицине

О лечебных свойствах копеечника известно давно. Широкое его применение в официальной и народной медицине связано с антибактериальной и противовирусной активностью. Из литературных данных известно, что выраженной антибактериальной активностью в отношении тест-культур *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia* обладают экстракты из корней копеечника забытого (*H. neglectum*), копеечника чайного (*H. theinum*), копеечника крупноцветкового (*H. grandiflorum*) [76, 127]. В одной из работ Федоровой Ю.С., Кузнецова А.С. и Сухих А.С. проводилась оценка антиоксидантной активности экстрактов копеечника забытого (*H. neglectum*), копеечника чайного (*H. theinum*) и копеечника альпийского (*H. alpinum*). Исследования проводились по сравнению с настойкой «Красный корень» (Россия, г. Москва), каплями «Красный корень» (Россия, г. Бийск), глазными каплями эмоксипин 1% и раствором танина аптечного 1%. Наибольшей антиоксидантной активностью из всех перечисленных препаратов и фитопрепаратов обладает копеечник альпийский (*H. alpinum*), процент ингибирования малонового диальдегида составляло 83%. Фитопрепараты из копеечника забытого (*H. neglectum*), копеечника чайного (*H. theinum*) и копеечника альпийского (*H. alpinum*) обладают выраженным ингибированием малонового диальдегида и могут быть рассмотрены как перспективные лекарственные препараты с явной антиоксидантной активностью неферментного характера [127].

Сотрудниками ВИЛАР было установлено, что противогерпетическое действие копеечника обусловлено ксантоновым гликозидом – мангиферином, выделенным из копеечника альпийского (*H. alpinum* L.) и копеечника желтеющего (*H. flavescens* Regel. et Schalh.). Некоторые виды копеечника обладают омолаживающим эффектом и повышают иммунитет благодаря полисахаридам, выделенным из корней [33, 113, 158, 166 217].

Применение в народной медицине. Настои или настойки из травы и отвары или настойки из корней видов рода *Hedysarum* L. применяются в народной медицине при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, поносах, женских болезнях, малокровии, нервных заболеваниях, как стимулятор центральной нервной системы, как мочегонное, противовоспалительное, тонизирующее и общеукрепляющее средство [16, 65, 123]. Из корней копеечника забытого (*H. neglectum*) выпускается настойка «Красный корень плюс» для лечения бактериального хронического простатита. Красный корень плюс обладает противовоспалительным и противоотечным действием, улучшает уродинамику мочевыводящих путей, нормализует микроциркуляцию в предстательной железе [16, 65].

При этом, известны более 40 видов рода *Hedysarum* L., естественно произрастающих в северо-западном и юго-западном Китае, к ним относятся *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz., *Hedysarum limprichtii* Ulbrich., *Hedysarum vicioides* Turcz., *Hedysarum taibeicum* Hand.-Mazz. и *Hedysarum smithianum* [152]. Народная медицина Китая и Тибета применяет настои и отвары корней копеечника *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz., для профилактики и лечения острых респираторных вирусных заболеваний, хронических заболеваний легких, атеросклероза и герпеса. Данный вид известный как «*Hongqi*» включен в фармакопею Китая [190, 191].

На территории Туниса в Марокко естественно произрастает *Hedysarum coronarium* L., который в народной медицине носит название *sulla*. Данный вид известен в культуре стран Средиземноморья, в том числе и Португалии [203]. *Hedysarum coronarium* L. имеет достаточно большую сырьевую массу и используется в сельском хозяйстве как кормовое растение, обладающее противоглистным действием [203].

Хозяйственное значение. Многие представители рода *Hedysarum* L. являются кормовыми растениями, например, *H. austrosibiricum* B. Fedtsch., *H. neglectum* Ldb., *H. alpinum* L. и др. Подземные органы некоторых видов съедобные (*H. vicioides* Turcz., *H. sachalinense* B. Fedtsch.) [14, 128].

Наиболее распространенными декоративными видами являются следующие: *H. austrosibiricum* B. Fedtsch., *H. grandiflorum* Pall., *H. Fedtschenkoanum* Rgl. et Schmalh. и др. [15, 128].

1.6 Потенциал практического использования мангиферина в медицине

Из травы копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* RGL. et Schmalh.) и копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) отечественными учеными разработан противовирусный препарат «Алпизарин», в состав которого входит ксантоновый гликозид мангиферин, обладающий выраженной противовирусной активностью в отношении *Herpes zoster*, *Herpes simplex*, *Cytomegalovirus* [5, 62, 72].

На данный момент проблема хронических рецидивирующих вирусных заболеваний очень актуальна. Согласно данным ВОЗ около 67% населения Земли страдают от заболеваний различных органов и систем, вызванных вирусом простого герпеса [57].

В Индии мангиферин используется для лечения иммунодефицитных заболеваний, к ним относятся артрит, гепатит, диабет, сердечные и психические расстройства. На Кубе производится экстракт обогащенный мангиферином под торговым названием «Vimang», используемый как пищевая добавка. Данная добавка является мощным иммунорегулятором, оказывает антиоксидантное, обезболивающее и противовоспалительное действие. Кроме жидкой лекарственной формы у LABIOFAM GENIX выпускается крем «Vimang», обладающий омолаживающим действием [197] и устраняющий мимические морщины [144, 188, 194].

Среди исследований, проводимых в других странах, можно встретить достаточно большое количество публикаций, связанных с антиоксидантной, антибактериальной, противопаразитарной, противораковой активностью мангиферина [164, 211] и его производных [150, 185, 199]. По своей активности превосходит тролокс, который является стандартом для анализа антиоксидантной способности [163, 177, 180]. Изучена фармакологическая активность мангиферина против проявлений деменции при лечении болезни Альцгеймера [148].

Мангиферин также обладает противоопухолевой активностью. Он влияет на метастазы и рост опухоли метастатической меланомы. Мангиферин может быть перспективным в качестве нового лекарственного средства для лечения рака в борьбе с меланомой, поскольку этот глюкозилксантон оказывает сильное антиангиогенное и метастатическое действие [145].

Кроме противовирусного действия в отношении ДНК-содержащих вирусов, мангиферин обладает ингибирующим механизмом действия на полиовирус. Ингибирование синтеза вирусного белка было также доказано иммунофлуоресцентным анализом, что свидетельствует о том, что мангиферин является привлекательным претендентом для лечения полиовирусной инфекции [193].

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1

1. По данным литературы проведен анализ видового состава рода *Hedysarum* L. семейства *Fabaceae*, выявлены основные ареалы распространения видов, произрастающих на территории Северного Кавказа.

2. Приведенные литературные данные о биологически активных веществах, обнаруженных в растениях рода *Hedysarum* L. показывают, что, в основном, в надземных органах видов рода накапливаются ксантоны: мангиферин, изомангиферин, глюкоизомангиферин, флавоноиды, оксикоричные кислоты, кумарины, сапонины, дубильные вещества, алкалоиды, γ -аминомасляная кислота, тритерпеновые соединения, полисахариды и жирные масла.

3. Проведенный анализ литературных сведений о химическом составе *H. grandiflorum* Pall., *H. caucasicum* M.Bieb. и *H. daghestanicum* Rupr. ex Boiss. свидетельствует о том, что данные либо фрагментарны, либо полностью отсутствуют. Для копеечника кавказского указаны только сумма ксантонов в пересчете на мангиферин, химический состав копеечника дагестанского и копеечника крупноцветкового не изучен.

4. При анализе современного состояния изученности ксантонов выявлены основные методики выделения, качественного анализа и количественного определения суммы ксантонов и мангиферина.

5. Фармакологические свойства и применение видов рода *Hedysarum* L. в медицине свидетельствуют о выраженных противовирусных, антибактериальных, антиоксидантных и противовоспалительных свойствах данных растений.

6. На основании проведенного обзора литературы можно сделать заключение о перспективности дальнейшего изучения видов рода *Hedysarum* L. в качестве сырья для производства противовирусных и антибактериальных средств.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Объектом для исследования послужили образцы сырья и гербарные образцы видов рода *Hedysarum* L.: копеечник кавказский (*H. caucasicum* Vieb.), копеечник крупноцветковый (*H. grandiflorum* Pall.), копеечник дагестанский (*H. daghestanicum* Rupr. ex. Boiss.), собранные на территории Северного Кавказа в различную фазу вегетации с 2015-2019 гг., а также выращенные на базе Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (таблица 7, рисунок 4, 5, 6). Ботанические виды идентифицировали, сравнивая образцы, собранные в природных популяциях, гербаризированные образцы с описаниями и иллюстрациями определителей Флоры Кавказа [50, 51, 56].

Таблица 7 – Характеристика объектов исследования с указанием эколого-биологических особенностей произрастания

№	Место сбора, координаты	Высота над у.м.	Эколого-биологические особенности произрастания	Фаза вегетации, дата сбора
<i>Копеечник кавказский Hedysarum caucasicum</i> M.Vieb				
1.	Район Зольский, ущелье Джи́лы-Су, Кабардино-Балкария; N – 43°43'46", E – 42°53'65"	2100 м	открытые увлажненные участки среди крупных валунов	Цветение 27-28.07.2017
				Цветение 15.07.2018
2.	район Домбайского ущелья, гора Алибек, КЧР; N – 40°30'17", E – 44°40'0"	2200 м	юго-восточном склон г. Алибек ущелье горы Алибек	Плодоношение 30.07.2017
				Цветение 2.07.2018
3.	район Левашинский, село Цудахар, Республика Дагестан; N–42°19'32,21", E – 47°09'49,1"	1250 м	глубокое расположение речных долин между горными отрогами	Цветение. 3.07.2019
<i>Копеечник крупноцветковый Hedysarum grandiflorum</i> Pall.				
1.	Район Иловлинский, село Кондраши, Волгоградская область; N – 49°27'15,9", E – 44°09'19,4"	200 м	открытые сухие каменистые участки, солончаки	Цветение 25.05.2018
				Плодоношение 5.07.2018
2.				Цветение 15.05.2019
3.	район Левашинский, село Цудахар, Республика Дагестан; N–42°19'32,21", E – 47°09'49,1"	1250 м	глубокое расположение речных долин между горными отрогами	Цветение. 5.06.2019
<i>Копеечник дагестанский Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex. Boiss.				

1.	район Ботлихский, село Анди Республика Дагестан; N–42°41'38,2", E – 46°14'27,2"	1100 м.	Склон юго-восточной экспозиции, крутизна 30°	Цветение 28.05.2015
2.	район Ботлихский, село Годобери, Республика Дагестан, N – 42°38'15,7", E – 46°09'45,8	850 м.	Каменисто-мелко- щебнистый остепненный склон северо-восточной экспозиции	Цветение 18.05.2016
3.	Район Буйнакский, село Чиркей, Республика Дагестан; N – 42°59'32,9", E – 46°54'46,9"	460 м	Остепненный каменисто- мелкощебнистый крутой участок на вершине склона	Цветение 20.05.2015
4.				Плодоношение 23.06.2017
5.				Цветение 15.05.2018
6.				Плодоношение 25.06.2018
7.				Цветение. 10.05.2019
8.	район Левашинский, село Цудахар, Республика Дагестан; N–42°19'32,21", E – 47°09'49,1"	1250 м	глубокое расположение речных долин между горными отрогами	Цветение. 15.06.2019

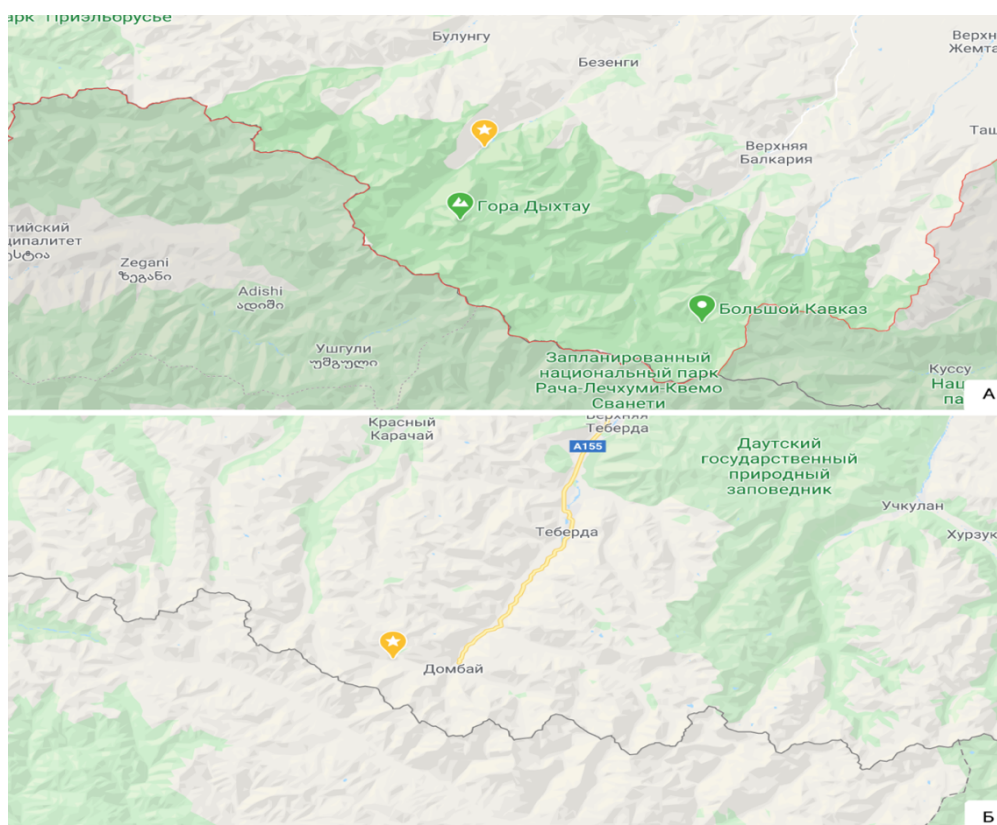


Рисунок 4 – Кабардино-Балкарская республика (А) и Карачаево-Черкесская республика (Б). Пункты сбора материала для изучения *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

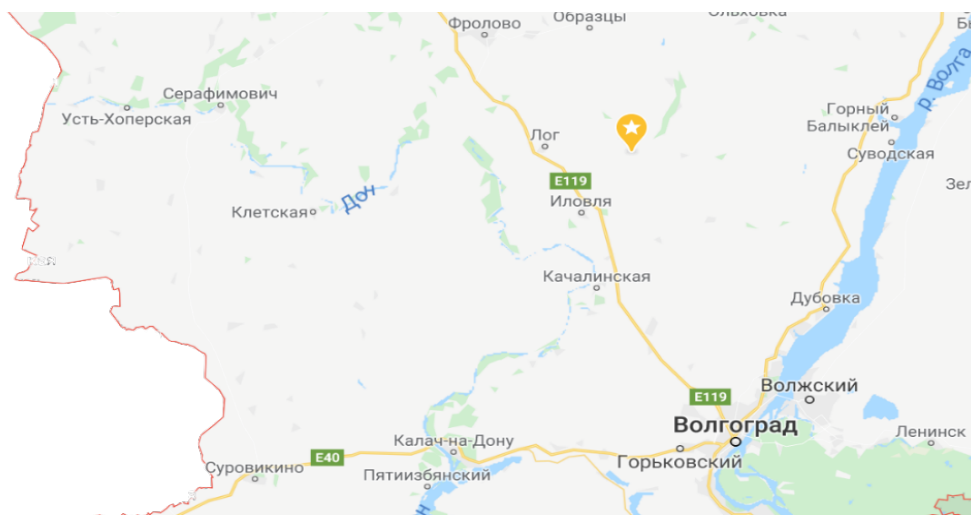


Рисунок 5 – Волгоградская область. Пункты сбора материала для изучения *Hedysarum grandiflorum* Pall.

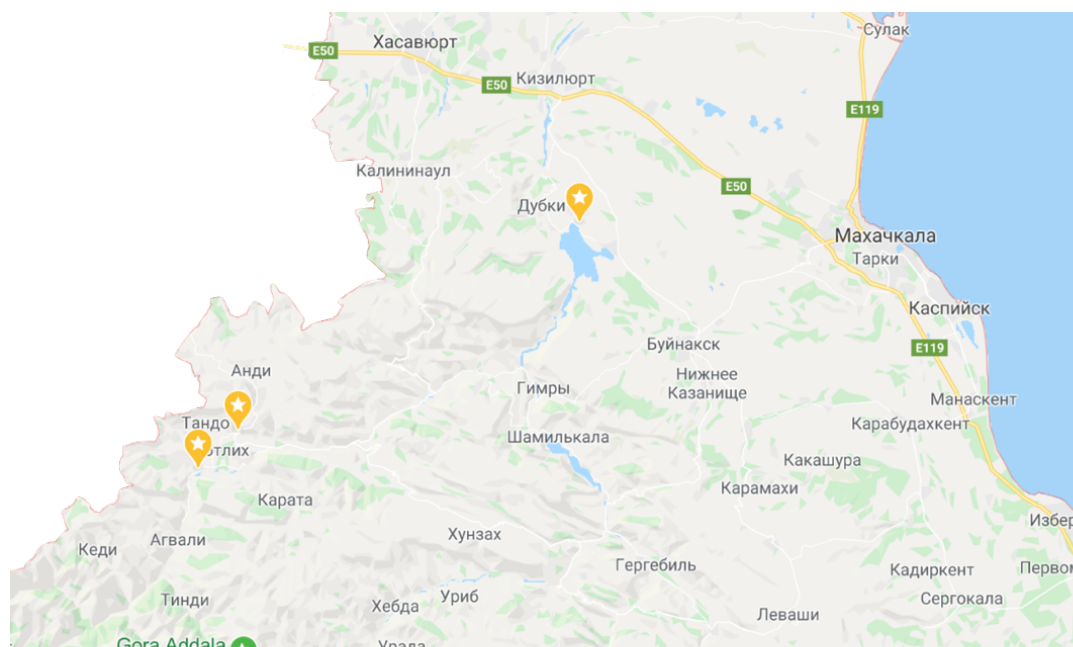


Рисунок 6 – Республика Дагестан. Пункты сбора материала для изучения *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss.

Сырье хранили в соответствии с общей фармакопейной статьей (ОФС) ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», сохраняли при комнатной температуре в сухом помещении с достаточным уровнем вентиляции. Для определения подлинности и числовых показателей качества сырья, его распределяли на серии по годам сбора [31].

2.2 Биологические методы исследования

2.2.1 Методы морфологического и микроскопического исследования

Для исследования использовали следующие методы: микроскопический, гистохимический, сравнительно-морфологический [31].

Макроскопический анализ сырья проводили по методикам, описанным в ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» ГФ РФ [31, 55].

Исследуемый материал фиксировали в системе: спирт этиловый: вода: глицерин в соотношении 1:1:1. Поперечные срезы стебля, черешка листа и листовой пластинки выполняли при помощи лезвий. Микропрепараты фиксировали в глицерине. Микродиагностические признаки изучали на микроскопе «Биомед 6», увеличение 640х, 160х. Микрофотографии выполняли цифровой камерой «DCM 510» в программе Score.

Гистохимические реактивы готовят по ГФ РФ: флороглюцина раствор 1 % и серная кислота 50% на лигнифицированные элементы [31].

2.2.2 Методы молекулярно-генетических исследований

Секвенирование проводили по методу Сэнгера, определяя последовательность ITS1-5.8S-ITS2 рДНК. Секвенирование последовательностей ДНК проводили в Центре коллективного пользования Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (ЦКП БИН РАН) в лаборатории биосистематики и цитологии на генетическом анализаторе AbiPrism 3130 (Applied Biosystems). Полученные хроматограммы визуально проверяли на наличие полиморфных сайтов. Анализ последовательностей ДНК выполняли с помощью программ MEGA 10.0 [165]. Выделение геномной ДНК производили СТАВ (бромистого цетилтриметиламмония) методом из листьев гербарных образцов [147, 153]. Для амплификации использовались реактивы Dream Taq PCR Master Mix (Thermo Scientific). Полимеразная цепная реакция была проведена на амплификаторе C1000 Thermal Cycler (Bio-Rad, USA). Параметры циклов амплификации: 3 мин 98°C; 35 циклов: 1 мин 98°C; 30 секунд 54°C; 30 секунд 72°C; 10мин 72°C. Для секвенирования использовался Big Dye Terminator Kit v.2.0 (Perkin Elmer Life Sciences, Inc., USA) и секвенатор ABI Prizm 3130 (Applied Biosystems, UK).

2.2.3 Методики эколого-фитоценологических интродукционных исследований

Полевой описательный метод, эколого-географический метод, сравнительно эколого-морфологические стационарные методы. Для изучения признаков использованы вегетативные и генеративные побеги и плоды 10 различных образцов. На собранном материале изучены следующие признаки: на побегах – длина растения, число междоузлий, количество листьев, длина и ширина листьев, число плодов; на плодах – длина и ширина плодов, длина и ширина семени, масса плодов и семени [46, 48].

Для определения урожайности сырья в условиях интродукции использовали метод расчета урожайности при использовании метода учетных площадок [124].

2.3 Анализ компонентов ксантонов

2.3.1. Качественное обнаружение мангиферина

Хроматографический анализ в тонком слое сорбента

Идентификацию мангиферина проводили методом тонкослойной хроматографии с использованием пластинок «*Sorbfil ПТСХ-АФ-А*» 10x15 см и 10x10 см. Стандартным образцом является мангиферин (Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$). Параллельно в качестве препарата сравнения использовали таблетки алпизарина 100 мг, произведенные ЗАО «Фармцентр ВИЛАР».

Активацию пластин проводили путем их нагревания при температуре 105-110°C в течение 1 часа. Для хроматографирования использовали системы различного состава: н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5); хлороформ-метанол-вода (13:7:2); 15% уксусная кислота. Детекция проводилась спиртовым раствором алюминия хлорида 1 %, раствор железа (III) хлорида 2 %, а также парами аммиака и УФ-облучением (люминесцентная лампа УФ-А) [31].

2.3.2. Количественное обнаружение мангиферина

Метод спектрофотометрии

Спектрофотометрическое изучение проводили на спектрофотометре СФ-2000, ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Санкт-Петербург, Россия, толщина слоя кюветы 10 мм.

Метод использовался для количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части исследуемых видах рода *Hedysarum* L. В качестве стандартного образца использовали мангиферин фирмы «Sigma-Aldrich» (кат.М3547, США, 2017).

Определение величины удельного показателя поглощения мангиферина. Точную навеску СО мангиферина (около 0,01 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 20 мл спирта этилового 70%, перемешивали до полного растворения мангиферина и доводили объем раствора в колбе до метки.

Метод капиллярного электрофореза

Исследование проводили на системе капиллярного электрофореза «Капель – 105м» (ОАО «Люмэкс-маркетинг», Россия) с кварцевым капилляром Лэфф/Лобщ=50/60 см, ID=75 мкм. Кварцевый капилляр предварительно промывали последовательно водой очищенной, 1 М водными растворами натрия гидроксида и кислоты хлористоводородной. В качестве электролита использовали боратный буферный раствор 0,01 М с рН 9,2±0,02, приготовленный согласно ГОСТ 4919.2-2016 «Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления буферных растворов». Схема эксперимента данными методами включала анализ стандартного образца мангиферина (Sigma-Aldrich), построение калибровочного графика в диапазоне концентраций для КЭ 0,05–0,5 мг/мл и анализ растительных извлечений, расчет количественного содержания мангиферина в траве исследуемых видов.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Для определения количественного содержания мангиферина в исследуемых видах использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Условия: регистрация электронных спектров проводилась на жидкостном хроматографе Shimadzu Prominence LC-20AD, с дегазатором DGU-20A3R; колонка 250 × 4,6 мм, C₁₈ (размер частиц сорбента 5 мкм) категория L1 по USP, например Zorbax Eclipse XDB-C18 или аналогичная при условии соблюдения требований пригодности хроматографической системы; подвижная фаза: смесь буферного

раствора, ацетонитрила и метанола в соотношении 81:16:3. Анализ проводили при комнатной температуре, подача элюента составляла 0,8 мл/мин. Детектирование осуществляли при длине волны 365 нм с применением УФ детектора. Для анализа использовали спиртовое извлечение из травы копеечника кавказского (70% спирт этиловый), объем пробы — 20 мкл. В качестве стандартного образца использовали образец мангиферина (Sigma-Aldrich, кат.М3547, США, 2017).

Буферный раствор. 15,6 г натрия фосфата однозамещенного дигидрата ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяли в 200 мл воды очищенной, затем доводили водой очищенной до метки и перемешивали. Определяли потенциометрическим методом значение рН, которое должно быть $4,40 \pm 0,05$. При необходимости рН доводили до требуемой величины добавлением фосфорной кислоты разведенной 10% или раствора натрия гидроксида 1 М капельно.

Подвижная фаза. Смесь буферного раствора, ацетонитрила и метанола в соотношении 81:16:3.

2.4 Методы выделения, идентификации и количественного определения основных групп биологически активных веществ

2.4.1. Качественный анализ

Для выполнения качественного анализа БАВ получали различные извлечения из сырья. В качестве экстрагентов использовали воду очищенную и спирт этиловый различной концентрации. Обнаружение дубильных веществ, флавоноидов, сапонинов, полисахаридов, лейкоантоцианов, тритерпеновых соединений и полифенольных соединений проводили по общепринятым методикам [52, 67, 75].

Качественное обнаружение дубильных веществ

Наличие дубильных веществ выявляли путем прибавления к водному извлечению (1:100) из травы копеечника кавказского (*H. caucasicum* Vieb.), копеечника крупноцветкового (*H. grandiflorum* Pall.), копеечника дагестанского (*H. daghestanicum* Rupr. ex. Boiss.) [67]:

– железа (III)-аммония сульфата раствор 1%; при присутствии гидролизуемых дубильных веществ наблюдается черно-синее окрашивание либо осадок, а при присутствии конденсированных – черно-зеленое окрашивание либо появление осадка;

– 0,5% раствора бромной воды; при присутствии конденсированных дубильных веществ образуется осадок;

– кислоты хлористоводородной разведенной и формальдегида раствора 40% (реакция Стиасни); при наличии конденсированных дубильных веществ выпадает осадок, который отфильтровывают. После добавления к фильтрату квасцов железоаммонийных раствор 1% и свинца ацетата кристаллического, появляется синее или фиолетовое окрашивание.

Качественное обнаружение полисахаридов

Для качественного обнаружения полисахаридов готовили водный раствор (1:10), при нагревании на водяной бане в течение 10 мин [75].

Фильтрацию проводили после охлаждения. К 10 мл приготовленного раствора, добавляли 30 мл спирта этилового 95% и перемешивали. Наблюдалось выпадение аморфного хлопьевидного осадка.

Качественное обнаружение сапонинов

Для качественного обнаружения сапонинов было приготовлено водное извлечение (1:10), при нагревании на водяной бане в течение 10 мин [67].

1. Реакция пенообразования путем встряхивания полученного извлечения.
2. Реакция Лафона: к 2 мл водного извлечения, последовательно приливали 1 мл кислоты серной концентрированной, затем 1 мл спирта этилового и каплю раствора железа (III) сульфата 10%. В присутствии сапонинов раствор окрашивается сине-зеленый цвет.

Качественное обнаружение тритерпеновых соединений

Для качественного обнаружения тритерпеновых соединений в сырье готовили извлечения с использованием спирта этилового 70%. К спиртово-водным извлечениям прибавляли раствор ванилина в кислоте хлористоводородной 1%

(реакция Розенталя), при присутствии данных соединений раствор приобретает окрашивание красно-коричневого цвета в виде кольца [52].

Качественное обнаружение флавоноидов

Для обнаружения флавоноидов проводили следующие качественные реакции со спиртовым извлечением [52, 75]:

1. цианидиновая проба: к извлечению добавляли 5-7 капель насыщенной кислоты хлористоводородной, 100 мг металлического магния, при нагревании в течение 2-3 мин наблюдали розово-красное, красно-оранжевое окрашивание.
2. реакция с раствором аммиака: при наличии антоцианов наблюдается сине-фиолетовое окрашивание;
3. реакция Вильсона: к спиртовому извлечению добавляли 2 мл 1% раствора борной и лимонной кислот в метиловом спирте (борно- лимонная реакция), наблюдали ярко-желтое окрашивание с желто-зеленой флуоресценцией;
4. реакция с раствором свинца ацетата основного: наблюдали желтое окрашивание.

Качественное обнаружение лейкоантоцианов

К раствору, полученному для обнаружения флавоноидов, прибавили 1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, при нагревании на водяной бане в течение 2 мин наблюдали красное окрашивание [52].

Качественное обнаружение полифенолов

Для качественного обнаружения полифенолов готовили водный раствор (1:20), измельченное сырьё нагревали течение 5 мин. К 1 мл полученного извлечения прибавляли несколько капель железа (III) хлорида раствора 1 %, наблюдали зелёное окрашивание [52].

2.4.2. Количественный анализ

Определение количественного содержания дубильных веществ проводили титриметрическим методом перманганатометрии в пересчете на танин [31, 67].

Метод перманганатометрического титрования применялся по Левенталю=Курсанову в соответствии с ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ [31, 67].

Около 2,0 г сырья (точная навеска), измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 3 мм, помещали в коническую колбу объемом 500 мл, добавляли 250 мл разогретой до кипения воды и кипятили с обратным холодильником в течение 30 мин при интенсивном помешивании. Полученное извлечение остужали до комнатной температуры и отфильтровывали в мерную колбу емкостью 250 мл, и довели до метки водой. 25,0 мл раствора поместили в коническую колбу объемом 1000 мл, прибавили 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты, титровали при непрерывном перемешивании калия перманганата раствором 0,02 М до золотисто-желтого окрашивания.

2.5 Анализ аминокислотного состава

Аминокислотный анализ травы видов рода *Hedysarum* L. проводили методом колоночной жидкостной хроматографии на аминокислотном анализаторе по методике указанной в ГОСТ 32195-2013. Качественный и количественный анализ аминокислот осуществляли на анализаторе AminoAcidAnalyzer 400 (фирмы – «ИНГОС», Чехия).

0,2 г (точная навеска) измельченного сырья, проходящего сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, помещали в колбу на 20 мл, доливают 6 моль/л хлористоводородной кислоты, закрывали, оставляли в сушильном шкафу при 110°C на 23 часа. Гидролизуемый раствор охлаждали. К выпаренному досуха образцу добавляли 50 мл загрузочного буфера (рН 2,2), который фильтровали перед введением в ионообменную колонку. [30, 47, 53].

2.6 Определение доброкачественности сырья

В образцах растительного материала проводили определение:
- влажности по методике ГФ РФ, том 2, ОФС 1.5.3.0007.15 [31, 49];

- золы общей – по ГФ РФ, том 2, ОФС 1.2.2.2.0013.15 [31, 49] и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – по ГФ РФ, том 2, ОФС 1.5.3.0005.15 [31, 49];
- экстрактивных веществ – по ГФ РФ, том 2, ОФС 1.5.3.0006.15 [31, 49];
- тяжелых металлов – по ГФ РФ, том 2, ОФС 1.5.3.0009.15 [31, 49].

2.7 Изучение элементного состава

Анализ испытуемых образцов проведен в Центральной испытательной лаборатории АО «Кавказгеолсъемка» в г. Ессентуки. Пробоподготовка проводилась по методике ГФ РФ «Зола общая». Золу исследовали по методике предприятия МП 4С атомно-эмиссионной спектроскопии на дифракционном спектрографе ДФС-8-1. Посредством электрической дуги выполняли испарение пробы золы в ячейку графитового электрода. При равновесных процессах возбуждения и обратного перехода в основное состояние электронов атомов элементов регистрировали спектры испускания (эмиссии).

2.8 Статистические методы анализа

Статистическая обработка полученных результатов эксперимента проведена на основании ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Программное обеспечение: Microsoft Office Excel 2020 (версия 16.44) с использованием функции Стьюдента.

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ РОДА *HEDYSARUM* L.

3.1 Морфолого-анатомическое исследование копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.)

Морфологическая характеристика: *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. Жизненная форма – многолетние травянистые растения, полукустарники и кустарники, высотой 10-20 см. Листовая пластинка слегка опушена короткими волосками. Листья непарно-перисто-сложные, прилистники у основания сросшиеся, листочки 2-4 парные, продолговатые, на верхушке суженные, заострённые, 15-18 мм длиной, 5-8 мм шириной (рисунок 7).



Рисунок 7 – Внешний вид *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.

Цветоносы едва длиннее листьев. Цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые. Кисти немногочетковые, густые. Чашечка в четыре раза короче венчика. Зубцы чашечки ланцетно-шиловидные вдвое длиннее крыльев, но короче

флага. Венчик пурпурово-фиолетовый, реже желтый 13-16 мм в длину. Плод - бобы состоят из 2–4 члеников. Членики чечевицеобразные, бородавчатые, ребристые, иногда бугорчатые.

Анатомическое исследование

Поперечный срез листовой пластинки. Тип строения – дорзовентральный. Покровная ткань эпидерма, характерны трихомы. Структурный состав мезофилла – губчатый и палисадный. Палисадный мезофилл находится под верхней эпидермой в 3-4 слоя, не прерывается в зоне центральной жилки. Между клетками палисадного мезофилла расположены крупные вместилища вытянутой прямоугольной формы в 1 слой. Форма клеток мезофилла – округлая, имеют хлоропласты. Губчатый мезофилл – форма клеток рыхлая с крупными клетками, округлые, овальные. Проводящая система представлена в виде коллатерального одиночного пучка. Наличие, расположение и тип механической ткани – колленхима под нижней эпидермой в 2-3 слоя (рисунок 8).

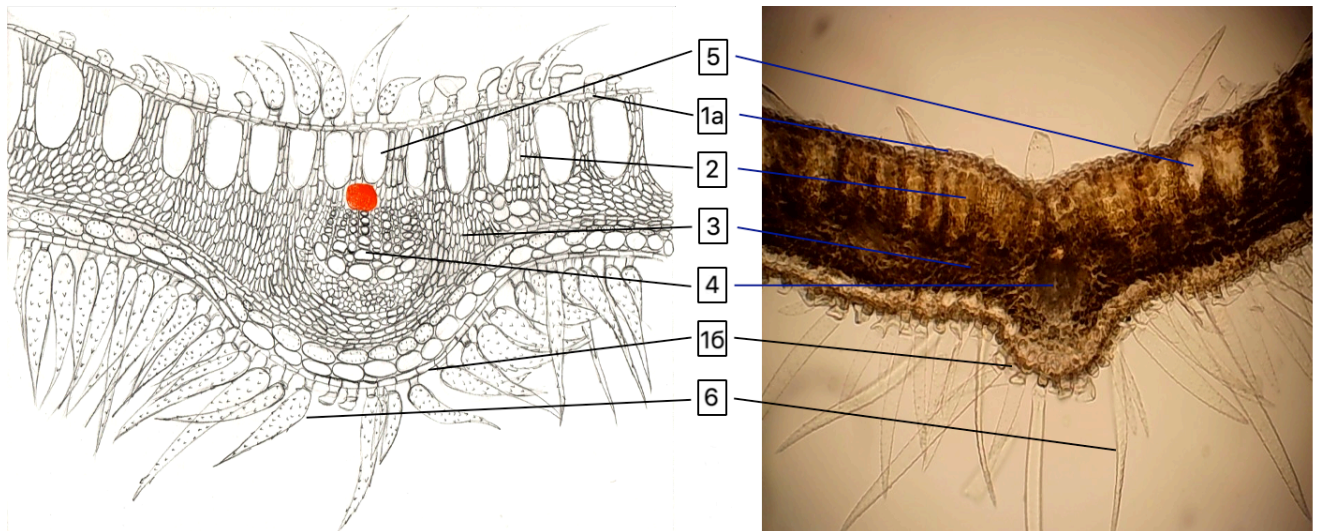


Рисунок 8 – Анатомическое строение листовой пластинки

Hedysarum daghestanicum Rupr. ex Boiss.

1а- верхняя эпидерма; 1б- нижняя эпидерма; 2- палисадный мезофилл; 3- губчатый мезофилл; 4- проводящий пучок; 5- вместилища; 6- трихомы

Строение верхней эпидермы листовой пластинки. Тип покровной ткани – эпидерма, состоит из основных клеток, устьичных аппаратов, трихом. Форма

антиклинальных стенок основных клеток эпидермы прямая. Тип устьичных аппаратов анизоцитный. Тип трихом – простые одноклеточные волоски с характерной структурой, сверху покрыты шероховатой кутикулой (рисунок 9).

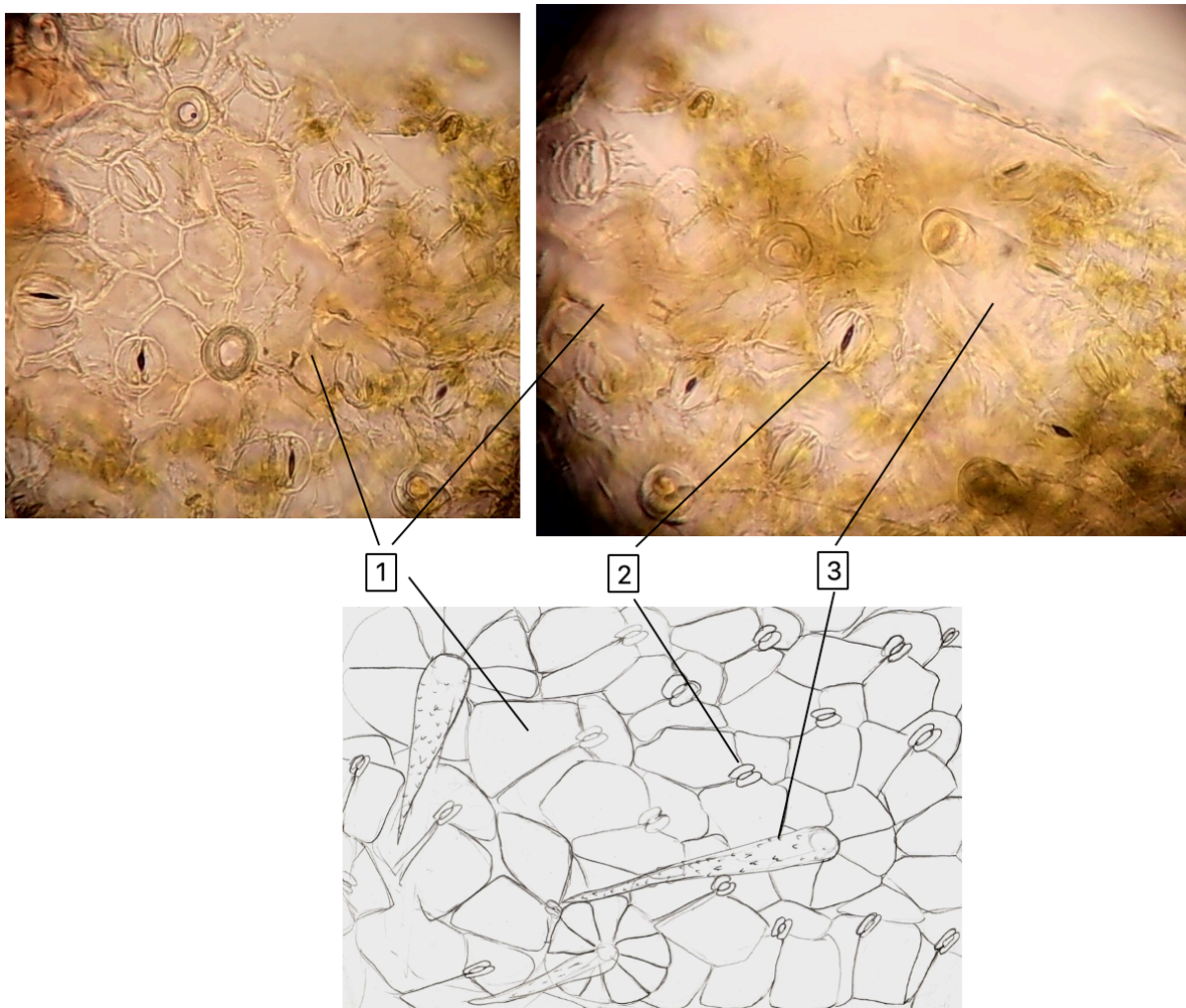


Рисунок 9 – Анатомическое строение верхней эпидермы листовой пластинки *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.

1- основные клетки эпидермы; 2- устьичные аппараты; 3- трихомы

Строение нижней эпидермы листовой пластинки. Тип покровной ткани - эпидерма состоит из основных клеток, устьичных аппаратов, трихом. Форма антиклинальных стенок основных клеток эпидермы более извилистая по сравнению с верхней эпидермой. Тип устьичных аппаратов анизоцитный. Тип трихом – простые одноклеточные волоски с характерной структурой, сверху покрыты шероховатой кутикулой, выраженные в большом количестве (рисунок 10).

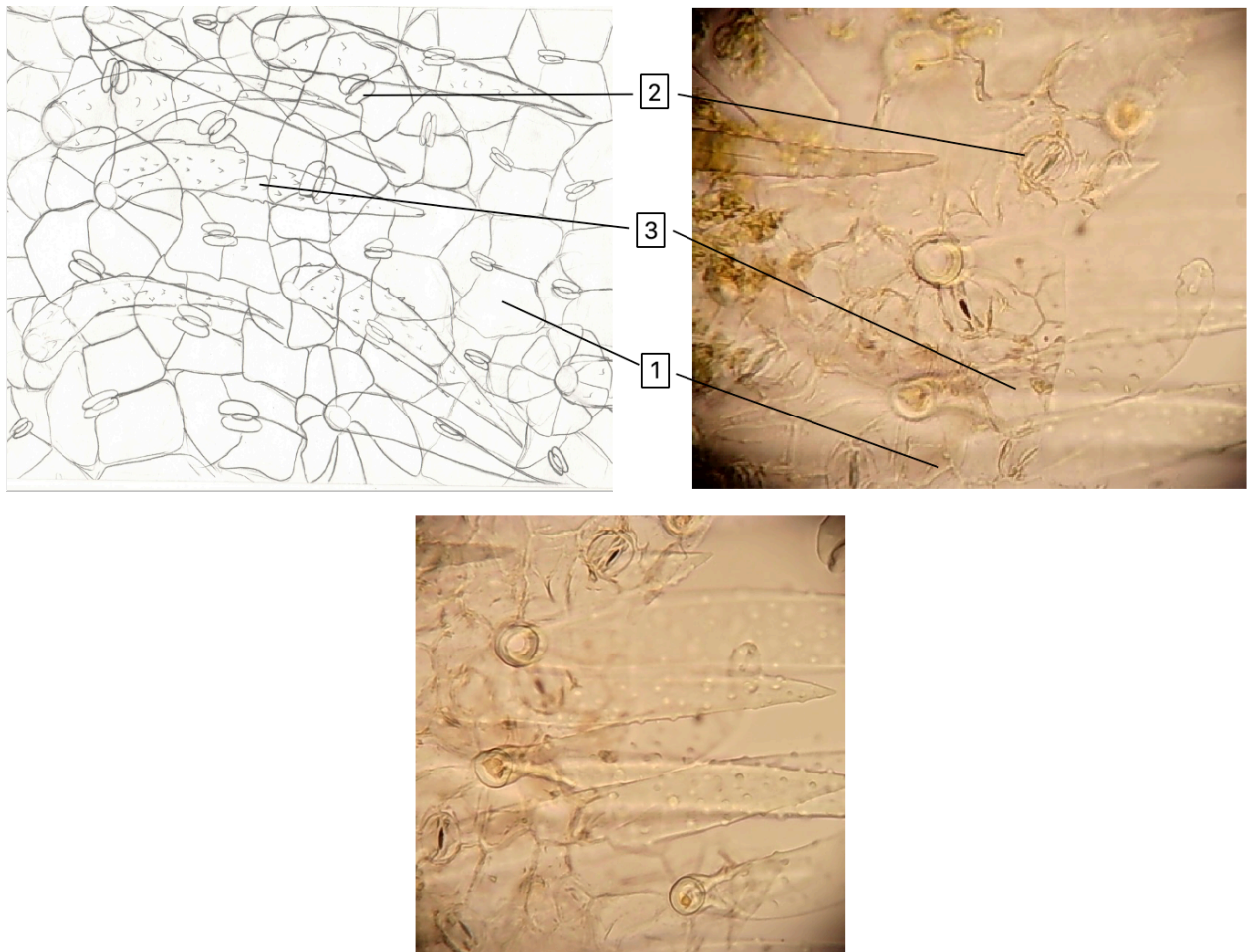


Рисунок 10 – Анатомическое строение нижней эпидермы листовой пластинки *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.

1- основные клетки эпидермы; 2- устьичные аппараты; 3- трихомы

Поперечный срез черешка листа. Форма на поперечном сечении – седловидная. Покровная ткань – эпидерма, клетки которой расположены в 1 слой. Характерно большое количество простых одноклеточных волосков. Колленхима пластинчатая, расположена в 2- 3 слоя под эпидермой.

Склеренхима развита над проводящими пучками. Проводящая система пучкового типа представлена 5 пучками – 3 из которых соединены между собой и расположены в дорзальной части черешка, при этом 2 мелких расположены в вентральной части. В результате отмечено, что паренхимные клетки в центральной части черешка достаточно крупные, содержат пигмент оранжевого цвета (предположительно мангиферин) (рисунок 11).

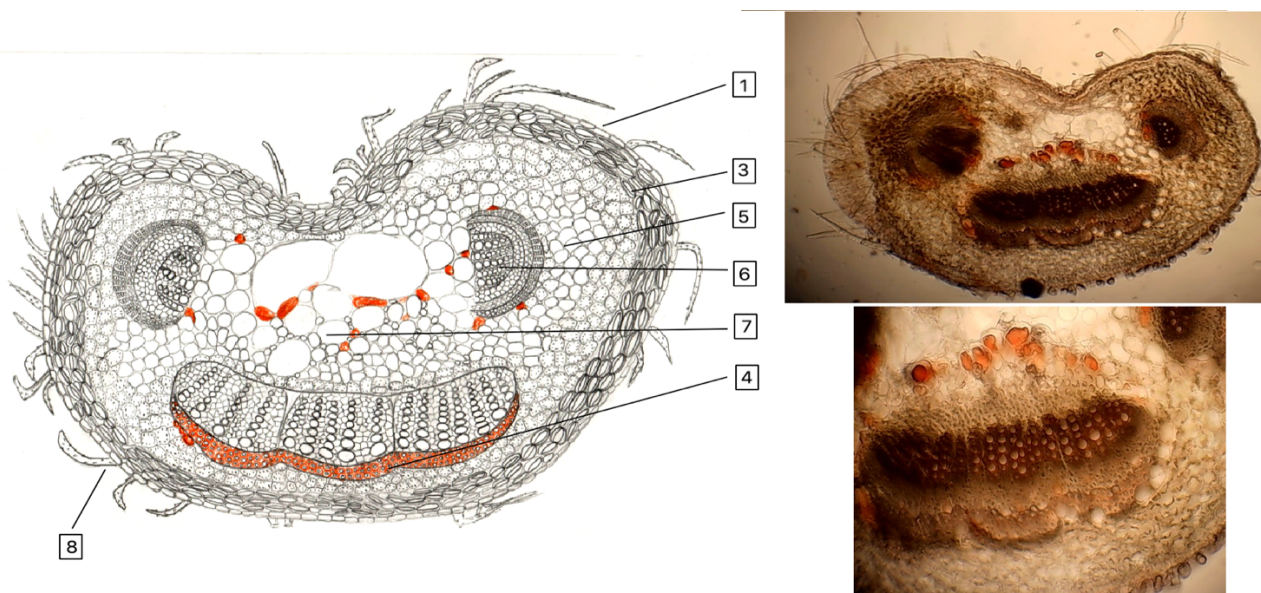


Рисунок 11 – Анатомическое строение черешка листа в нижней части
Hedysarum daghestanicum Rupr. ex Boiss.

1- эпидерма; 2- волоски; 3- колленхима; 4- склеренхима; 5- флоэма; 6- ксилема; 7- обкладочные клетки; 8- трихомы

Поперечный срез стебля. Тип строения – травянистый, воздушный. Форма на поперечном сечении – округлая. Тип покровной ткани – эпидерма, представлена 1 слоем живых паренхимных клеток. Характерны трихомы, в виде простых одноклеточных волосков с шероховатой кутикулой. Кора состоит из колленхимы, залегающей в 3 слоя – пластинчатая, ассимиляционная, выполняющая. Структурный состав осевого цилиндра – перицикл, флоэма, ксилема, камбий, паренхима сердцевин, сердцевинных лучей. Гистологический состав перицикла – перицикл в виде склеренхимных волокон, которые расположены над проводящими пучками.

Тип строения проводящей системы – пучковый. Тип стели – эустель, пучки открытые, коллатеральные, расположены по кругу, в количестве 10. *Строение проводящих тканей.* Флоэма ситовидные трубки, клетки спутницы. Наличие, расположение и тип образовательной ткани: перицикл, камбий между флоэмой и ксилемой. *Структурный состав сердцевин.* Строение клеток сердцевин – крупные тонкостенные паренхимные клетки. Между клетками паренхимы

сердцевины обнаружены крупные клетки идиобласты с содержимым оранжевого цвета (предположительно мангиферин) (рисунок 12).

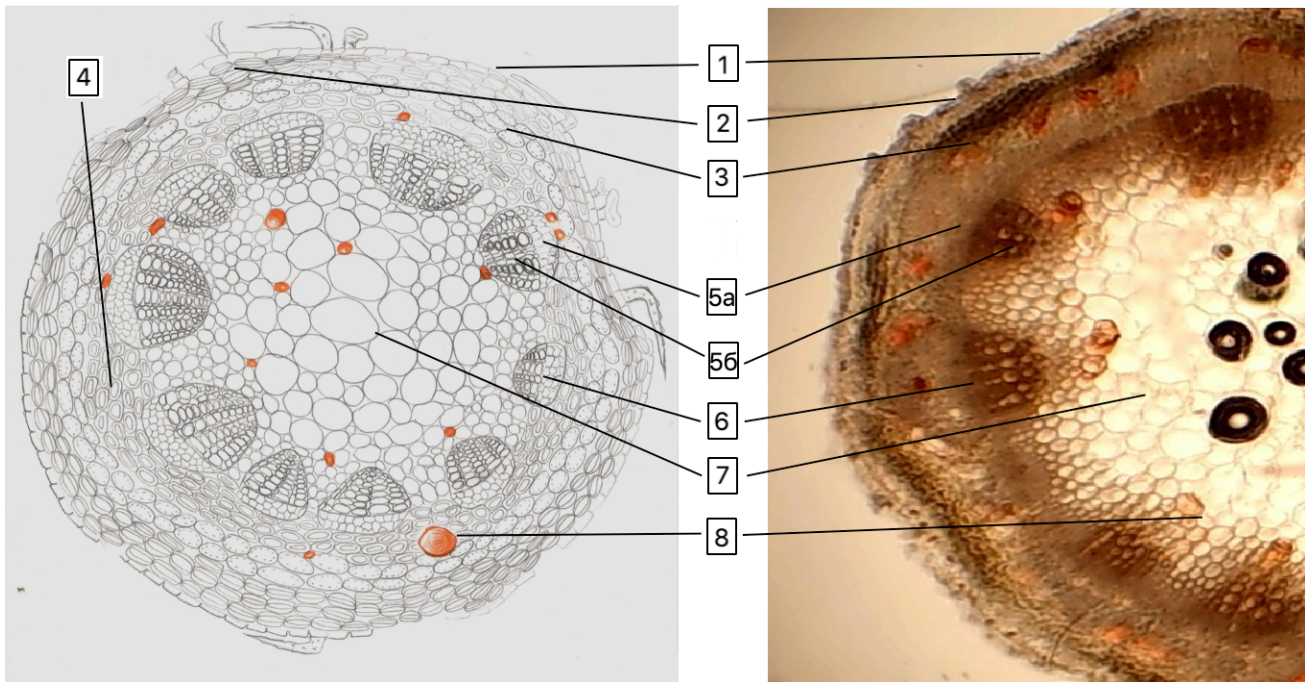


Рисунок 12 – Анатомическое строение стебля в нижней части

Hedysarum daghestanicum Rupr. ex Boiss.

1- эпидерма; 2- колленхима; 3- хлоренхима; 4- склеренхима перициклическая; 5- коллатеральный пучок: 5а- флоэма, 5б- ксилема; 6- камбий; 7- выполняющая паренхима сердцевины; 8- идиобласты

3.2 Морфолого-анатомическое исследование копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb)

Морфологическая характеристика: жизненная форма – гемикриптофит, многолетнее травянистое растение, до 60 см высотой. Нижние междоузлия не укороченные. Стержнекорневой травянистый многолетник. Листья зеленые. Листья рассеяны по всему стеблю, из 7–12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке. Листья непарно-перистосложные. Соцветия кистевидные на длинных ножках, в 1,5–2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Венчик малиновый. Плод – боб плоский, распадающийся на округло-ланцетные членики. Членики боба не крупные, гладкие или слегка зубчатые (рисунок 13).



Рисунок 13 – Внешний вид *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

Поперечный срез листовой пластинки. Тип строения – дорзовентральный. Структурный состав представлен: покровной тканью, мезофиллом, проводящими тканями и механическими тканями. Покровная ткань – эпидерма. Эпидерма разделяется на верхнюю и нижнюю. Верхняя представлена слоем живых тонкостенных клеток, снаружи покрытых слоем кутикулы. Форма антиклинальных стенок основных клеток эпидермы – извилистая. Устьичный аппарат анизоцитного типа. Мезофилл палисадный и губчатый. Губчатый мезофилл – клетки округлой формы, расположенные рыхло с крупными межклетниками. Палисадный мезофилл под верхней эпидермой в 2 слоя, между которыми отдельные вместилища с содержимым оранжевого цвета. Колленхима углового типа, расположена под эпидермой в области жилки в 3-4 слоя. Тип проводящих пучков — закрытые коллатеральные. Пучок состоит из флоэмы и ксилемы. Флоэма ориентирована к дорзальной стороне листа, ксилема к вентральной (рисунок 14).

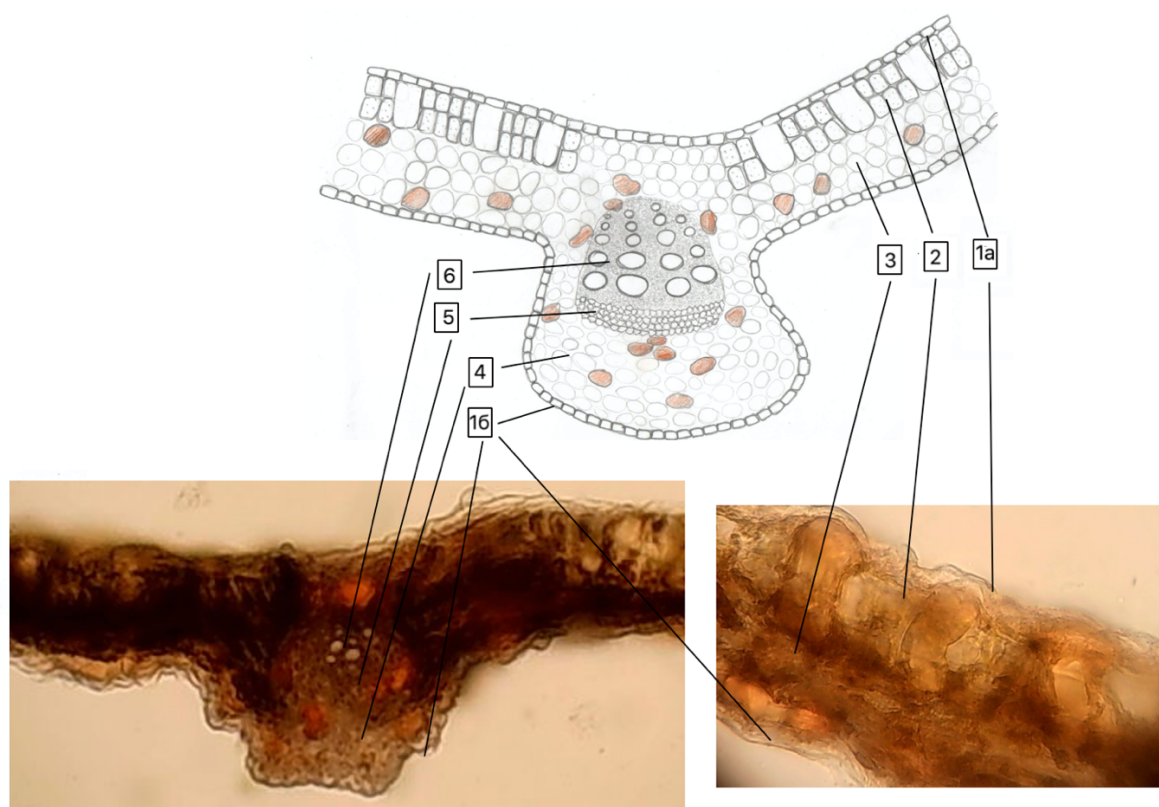


Рисунок 14 – Анатомическое строение листовой пластинки *Hedysarum caucasicum* М.Вieb.:

1а- верхняя эпидерма; 1б- нижняя эпидерма; 2- палисадный мезофилл; 3- губчатый мезофилл; 4- колленхима; 5- флоэма; 6- ксилема

Строение нижней и верхней эпидермы листовой пластинки. Основные клетки эпидермы имеют сильно извилистые стенки. Устьичные аппараты анизоцитного типа. Количество устьичных аппаратов с нижней стороны листа гораздо больше, чем с верхней. Трихомы отсутствуют. Верхняя эпидерма представлена основными клетками эпидермы, устьичными аппаратами и трихомами. Основные клетки имеют извилистые антиклинальные стенки. Устьичный аппарат анизоцитного типа. Трихомы отсутствуют. По жилкам располагается большое количество друз оксалата кальция (рисунок 15, 16).

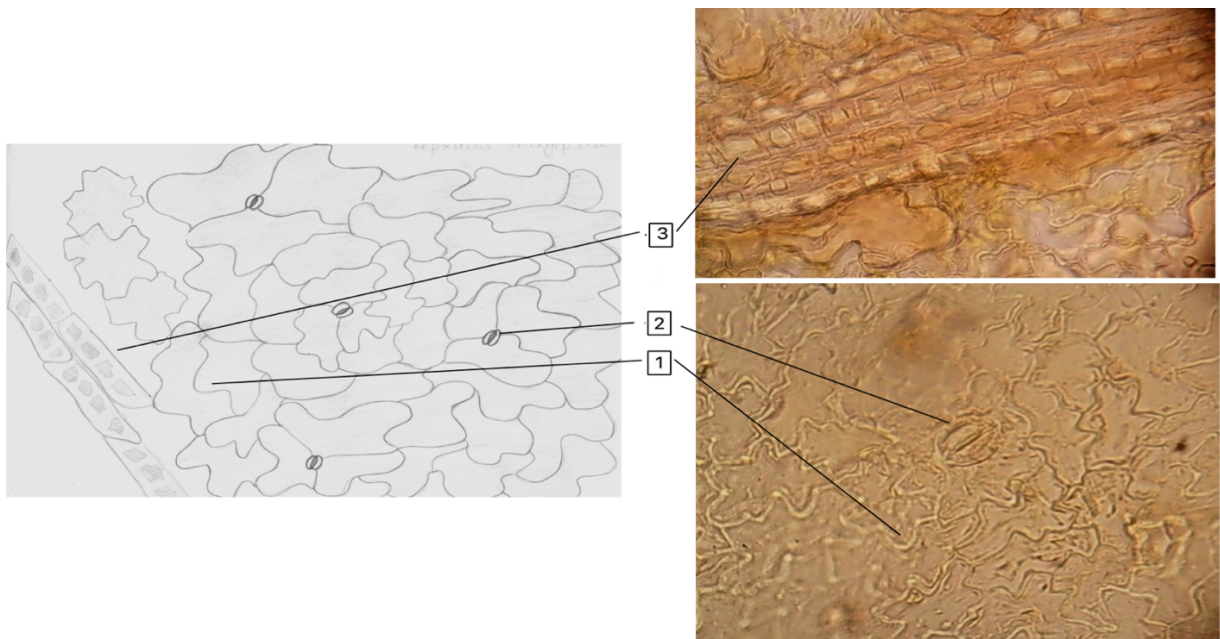


Рисунок 15 – Анатомическое строение верхней эпидермы листовой пластинки *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

1- основные клетки эпидермы; 2- устьичные аппараты; 3- жилки

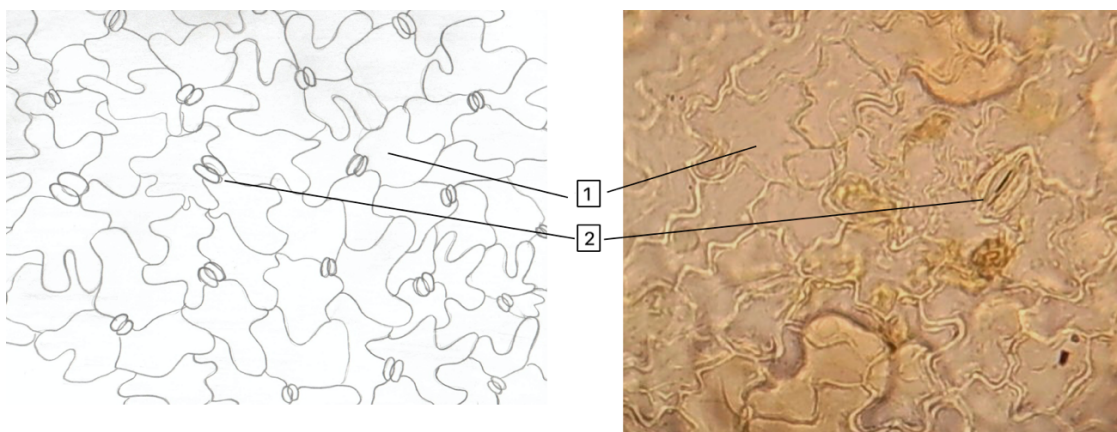


Рисунок 16 – Анатомическое строение нижней эпидермы листовой пластинки *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

1- основные клетки эпидермы; 2- устьичные аппараты

Поперечный срез черешка листа. Форма на поперечном сечении V-образная. Покровная ткань эпидерма, которая состоит из 1 слоя тонкостенных живых клеток. Трихомы отсутствуют. Проводящая система пучкового типа, представлена 6 пучками, один из которых расположен на дорзальной стороне, а 5 других на вентральной. В зонах вокруг проводящих пучков обнаружены отдельно лежащие или собранные пучками идиобласты, с содержимым оранжевого цвета (предположительно мангиферин). Склеренхима расположена над проводящими пучками и образована склеренхимными волокнами. В центральной части черешка находится паренхима сердцевинки (рисунок 17).

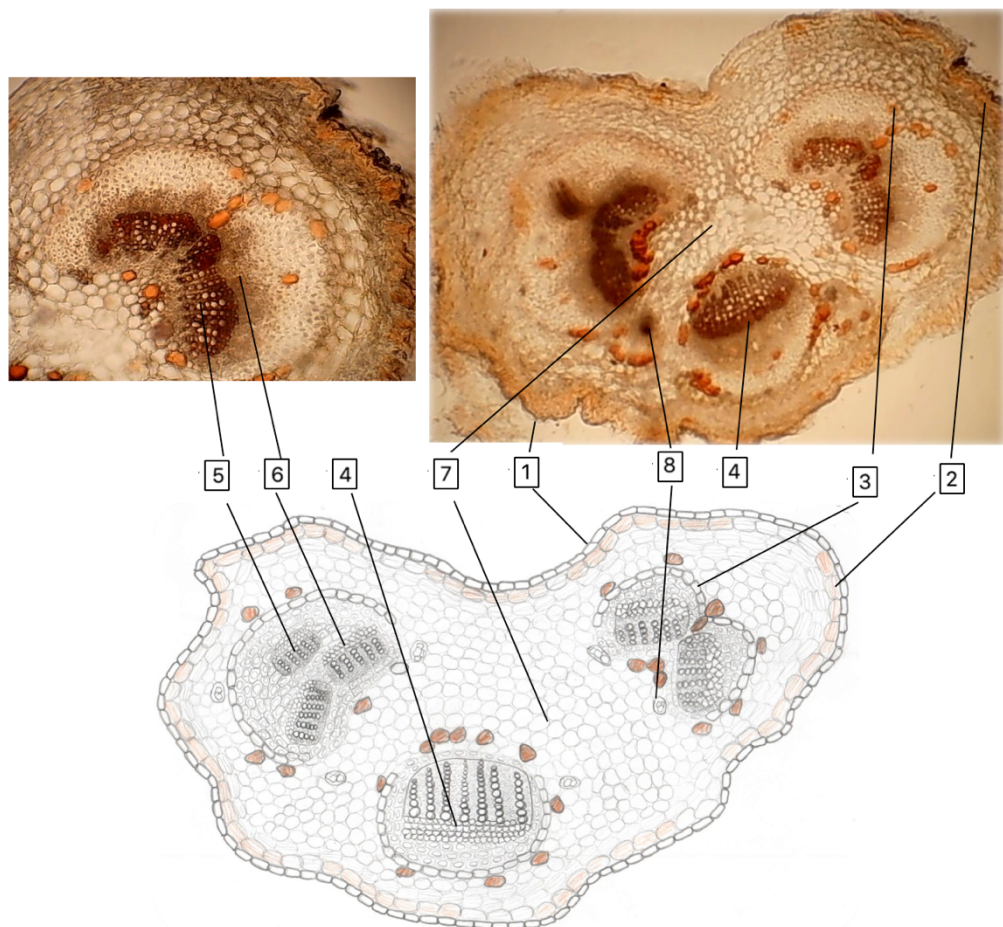


Рисунок 17 – Анатомическое строение черешка листа в нижней части

Hedysarum caucasicum M.Vieb.

1- эпидерма; 2- колленхима; 3- перицикл; 4- камбий; 5- ксилема; 6- флоэма; 7- паренхима; 8- друзы

Анатомическое исследование стебля. Стебель имеет многогранную на поперечном сечении. Покровная ткань представлена эпидермой, которая состоит

из слоя живых тонкостенных клеток, трихомы отсутствуют. Ткани коры представлены колленхимой углового типа, расположенной под эпидермой в 3 слоя, ассимиляционной паренхимой и эндодермой. Ткани центрального цилиндра представлены перициклом, флоэмой, камбием, ксилемой, паренхимой сердцевины. Клетки межпучковой паренхимы содержат пигмент оранжевого цвета, предположительно мангиферин. Перицикл дифференцирован в склеренхимные волокна, которые расположены над пучками. Пучковый тип проводящей системы, тип стели – эустель. Открытые коллатеральные пучки расположены по кругу в количестве 9-13. Сердцевина представлена паренхимными живыми округлыми тонкостенными клетками, в центральной части паренхима разрушается, образуя полость (рисунок 18).

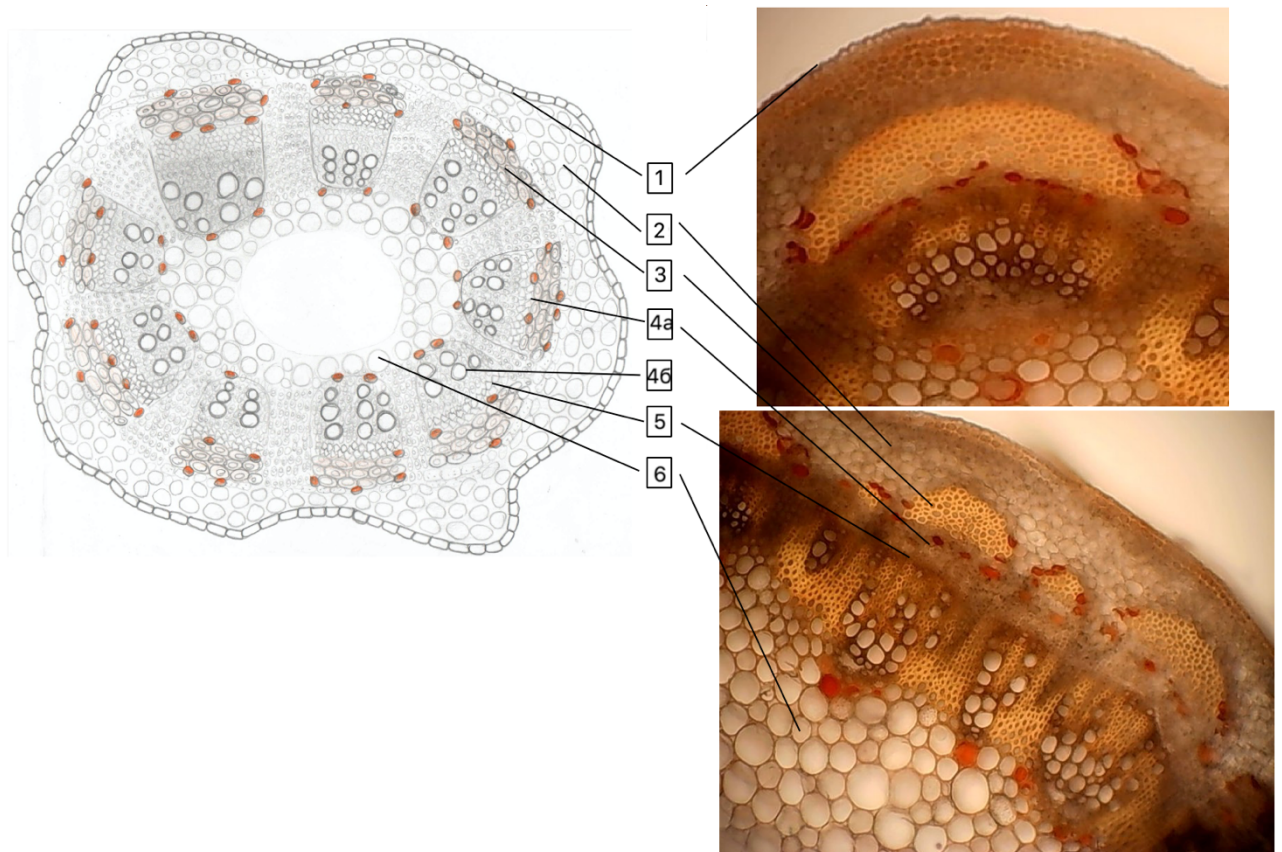


Рисунок 18 – Анатомическое строение стебля в нижней части

Hedysarum caucasicum M. Bieb.

1- эпидерма; 2- колленхима; 3- склеренхима перициклическая; 4- коллатеральный пучок: 4а- флоэма, 4б- ксилема; 5- камбий; 6- выполняющая паренхима сердцевины

3.3 Морфолого-анатомическое исследование копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.)

Морфолого-анатомическое исследование копеечника крупноцветкового было проведено ранее. Известны работы Поповой И.А. [102, 103]. Авторами приводится подробное анатомическое строение корней и фрагментов сложного листа. Нами же проводились комплексные морфолого-анатомические исследования элементов каулифолиарной системы для выявления основных отличительных диагностических признаков данного вида.

Морфологическое описание. Копеечник крупноцветковый – стержнекорневой травянистый многолетник высотой 10-40 см. Побеги ветвистые, достигают в длину до 5 см, в нижней части образуется каудекс, который может разветвляться, образуя большое количество укороченных побегов (рисунок 19).



Рисунок 19 – Внешний вид *Hedysarum grandiflorum* Pall.

Листья густо серебристо-волосистые, непарно-перистосложные. Листочки могут быть эллиптическими, продолговато-яйцевидными, реже ланцетными. Листья сильно опушенные с нижней стороны, могут быть шелковисто опушенные. Прилистники пленчатые или кожистые, бурые, сросшиеся между собой, волосистые, по краям слегка реснитчатые. Соцветие ботриоидное, простое, может образовывать густую многоцветковую кисть. Кисти многоцветковые, образованные 12-16 отклоненными зигоморфными цветками. Прицветники ланцетные, чашечка колокольчатая, зубцы линейно-шиловидные, густо оттопыренно-волосистые. Венчик желтый или слегка оранжевый, флаг округло-обратно-яйцевидный. Плоды – членистые бобы, членики почти округлые, сетчато-ребристые, белойочные, покрыты шипами.

Анатомическое исследование

Поперечный срез листовой пластинки. Дорзовентральный тип строения. Покровная ткань эпидерма, представлена одним слоем живых тонкостенных клеток, снаружи покрытых слоем кутикулы. Устьичный аппарат анизоцитного и аномоцитного типа. Тип трихом – простые волоски с характерным расширением в основаниях. Мезофилл дифференцирован на палисадный и губчатый. Палисадный мезофилл располагается под верхней эпидермой в 1, 2 или 3 слоя, характерным признаком является то, что в области главной жилки слой мезофилла не разрывается. Между клетками палисадного мезофилла обнаружены крупные вместилища овальной формы, заполненные содержимым оранжевого цвета, что характерно для мангиферина. Проводящая система пучкового типа, пучки коллатерального типа, расположены в центральной части жилки. Механическая ткань представлена склеренхимой, которая расположена вокруг проводящих пучков, и уголкового колленхимой, расположенной под нижней эпидермой в 3-4 слоя (рисунок 20).

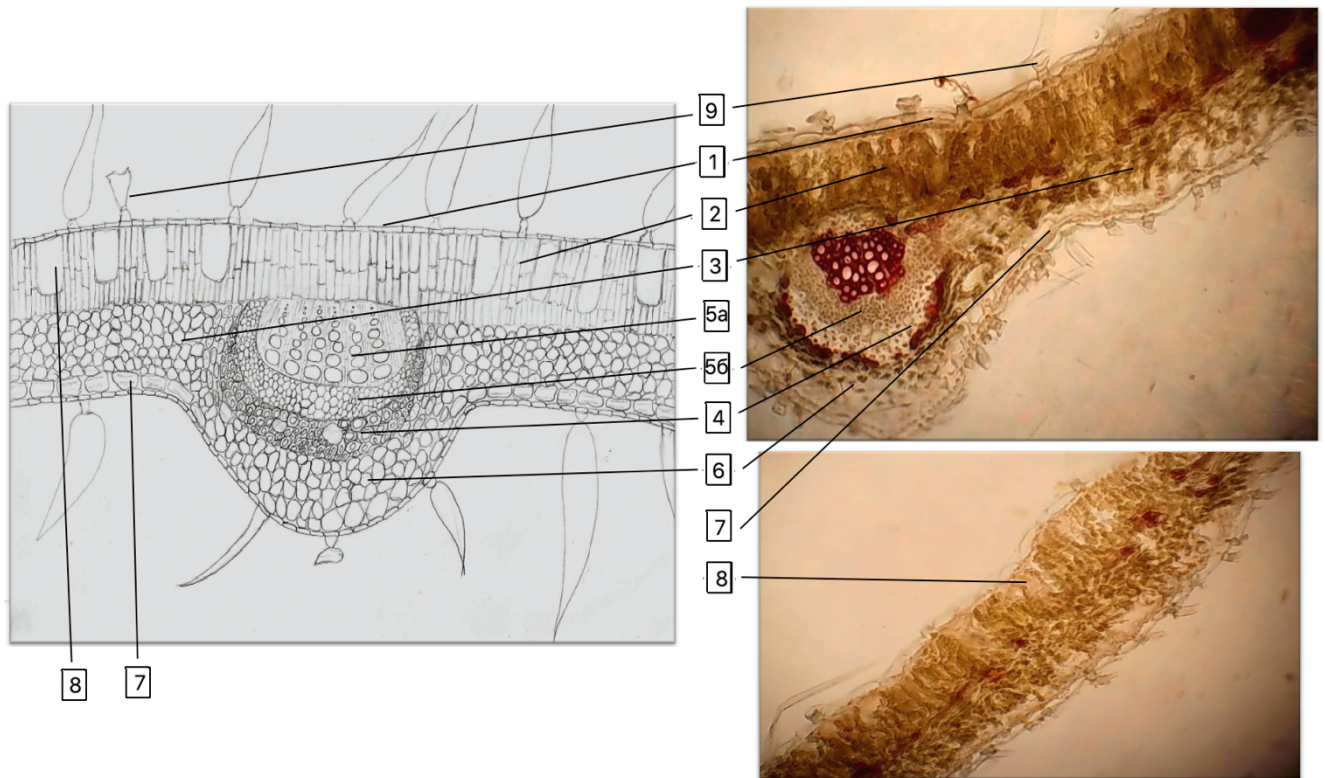


Рисунок 20 – Анатомическое строение листовой пластинки

Hedysarum grandiflorum Pall.

1- верхняя эпидерма; 2- палисадный мезофилл; 3- губчатый мезофилл;
4- склеренхима перициклическая; 5- коллатеральный пучок: 5а- флоэма,
5б- ксилема; 6- камбий; 6- уголковая колленхима; 7- пластичная колленхима;
8- идиобласты; 9- трихомы

Строение верхней эпидермы листовой пластинки. Эпидерма представлена основными клетками, устьичными аппаратами и трихомами. Основные клетки имеют слабоволнистые антиклинальные стенки. Устьичный аппарат аномоцитного и анизоцитного типа, что касается опушения, то оно образовано простыми двуклеточными волосками с характерным утолщением. Характерным признаком является форма апикальной клетки волоска, а также наличие шероховатой неоднородной кутикулы (рисунок 21).

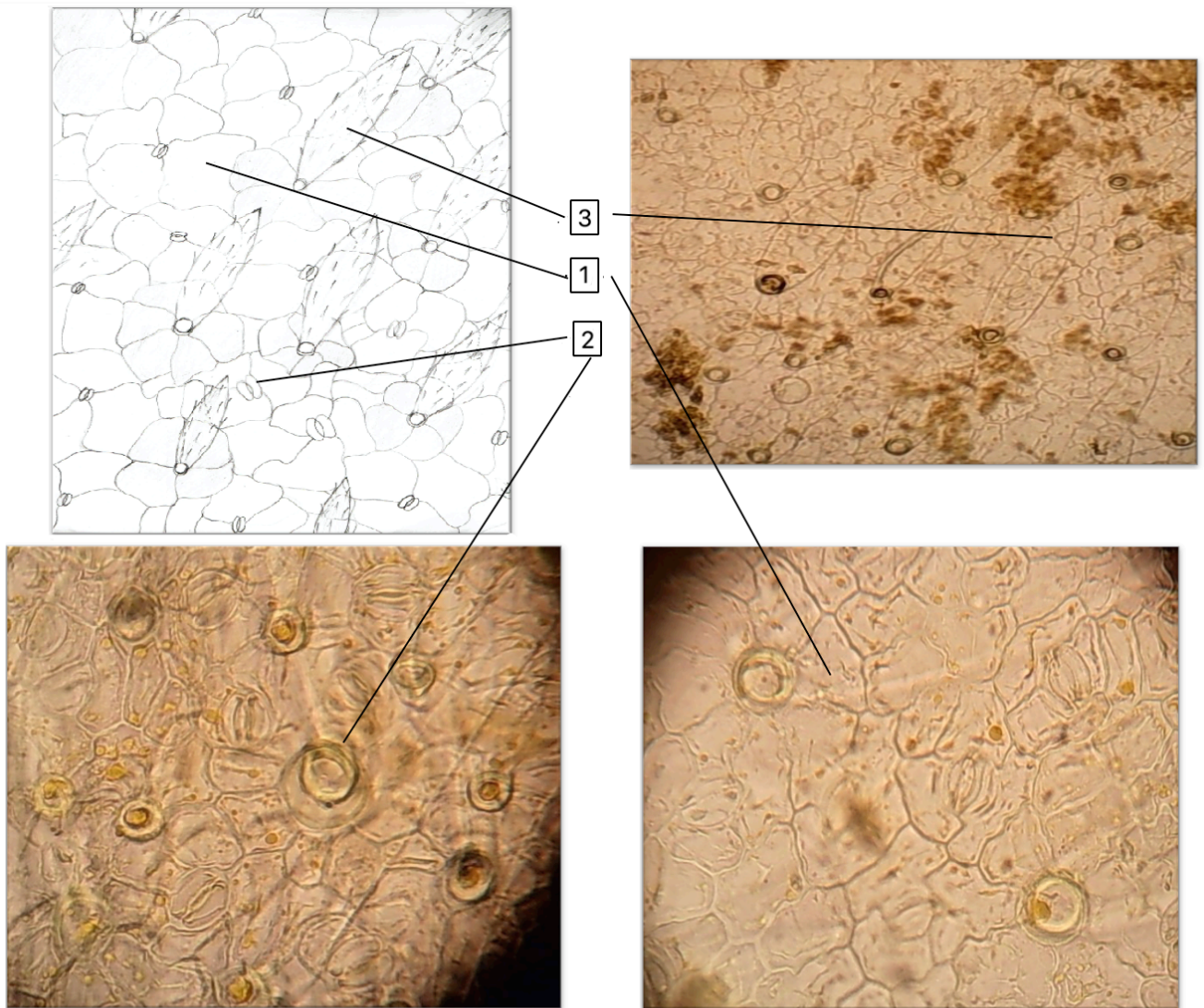


Рисунок 21 – Анатомическое строение верхней эпидермы листовой пластинки *Hedysarum grandiflorum* Pall.

1- основные клетки эпидермы; 2- устьичные аппараты; 3- трихомы

Строение нижней эпидермы листовой пластинки. Основные клетки имеют слабоволнистые антиклинальные стенки. Устьичные аппараты анизоцитного и аномоцитного типов. Количество устьиц больше, чем с верхней стороны листа. Трихомы в значительном количестве расположены на нижней стороне листовой пластинки, имеют более длинную структуру (рисунок 22).

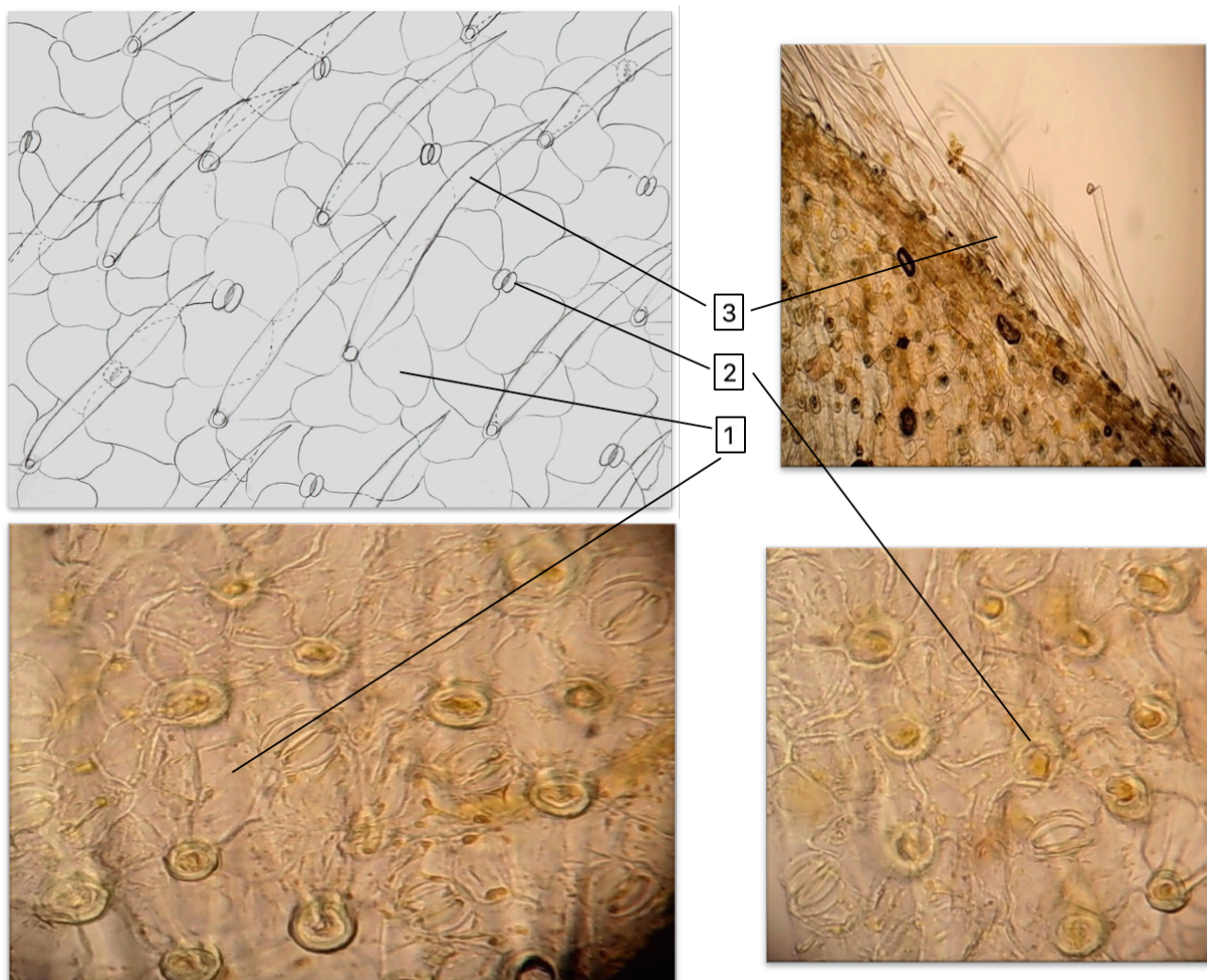


Рисунок 22 – Анатомическое строение нижней эпидермы листовой пластинки *Hedysarum grandiflorum* Pall.

1- основные клетки эпидермы, 2- устьичные аппараты, 3- трихомы

Поперечный срез черешка листа. Черешок имеет V-образную форму на поперечном сечении. Покровная ткань – эпидерма состоит из 1 слоя живых тонкостенных клеток. Под эпидермой расположена уголкового колленхима в 2-3 слоя. Хлоренхима образует 3-4 слоя клеток. Проводящая система пучкового типа, представлена коллатеральными пучками, в количестве трех, два вентральных и один дорзальный. В зонах вокруг проводящих пучков обнаружены отдельно лежащие или собранные группами идиобласты с содержимым оранжевого цвета. Склеренхима расположена строго над проводящими пучками и образована склеренхимными волокнами. В центральной части паренхима сердцевинки частично разрушается (рисунок 23).

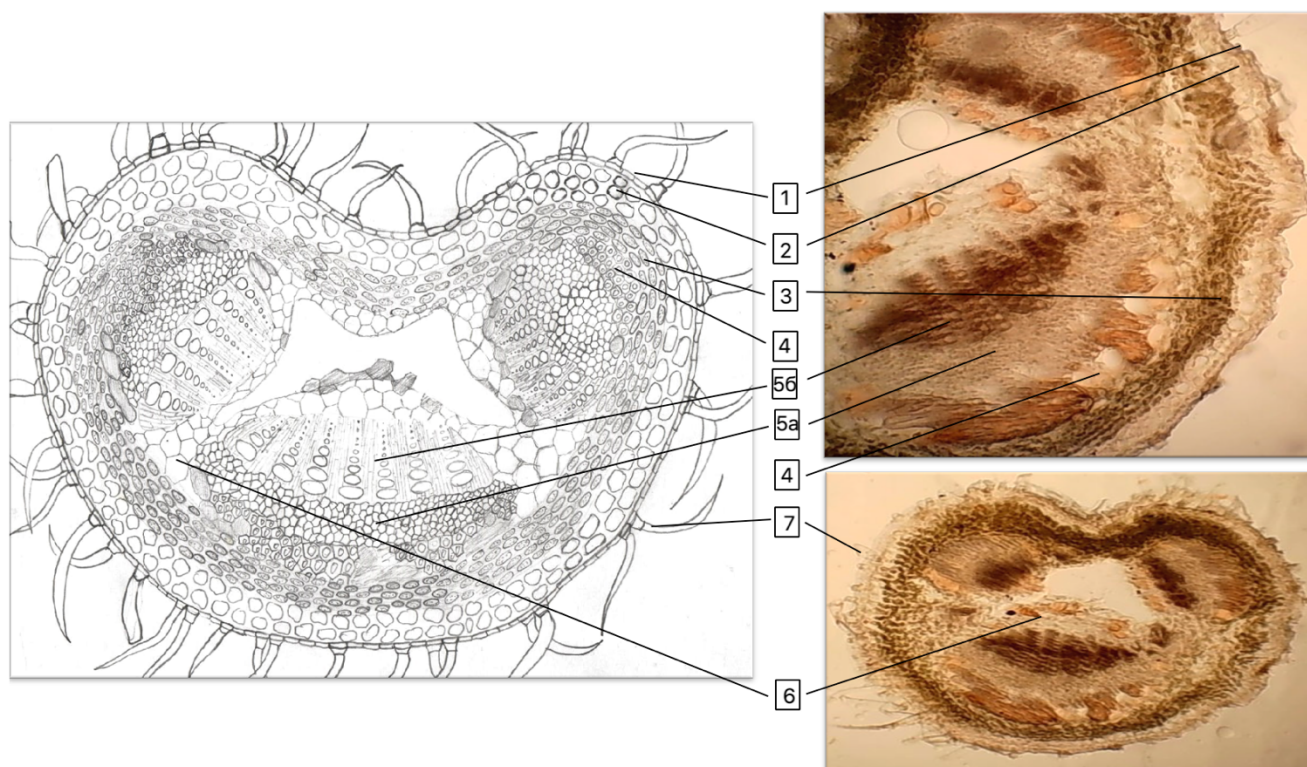


Рисунок 23 – Анатомическое строение черешка листа в нижней части
Hedysarum grandiflorum Pall.

1- эпидерма; 2- колленхима; 3- хлоренхима; 4- склеренхима перициклическая;
5- коллатеральный пучок: 5а- флоэма, 5б- ксилема; 6- выполняющая паренхима
сердцевины; 7- трихома

Поперечный срез стебля. Характерна ребристая форма на поперечном сечении. Покровная ткань представлена эпидермой, состоящей из 1 слоя живых тонкостенных клеток. Имеется большое количество сильноопушенных одноклеточных волосков. Кора представлена колленхимой, хлоренхимой и эндодермой. Колленхима уголкового типа, расположена под эпидермой в 3-4 слоя. Хлоренхима содержит хлоропласты.

Центральный цилиндр состоит из перицикла, флоэмы, камбия, ксилемы и паренхимы сердцевины. Перицикл дифференцирован в склеренхимные волокна и паренхимные клетки. Проводящая система пучкового типа, открытые коллатеральные пучки, в количестве от 7 до 12. Тип стели – эустель. Проводящая ткань представлена флоэмой и ксилемой. Флоэма включает ситовидные трубки с клетками спутницами, в состав ксилемы входят сосуды и трахеиды. Сердцевина представлена паренхимой сердцевины. Между клетками паренхимы наблюдается

большое количество идиобластов с содержимым оранжевого цвета, что характерно для присутствия мангиферина. В центральной части паренхима сердцевины разрушается (рисунок 24).

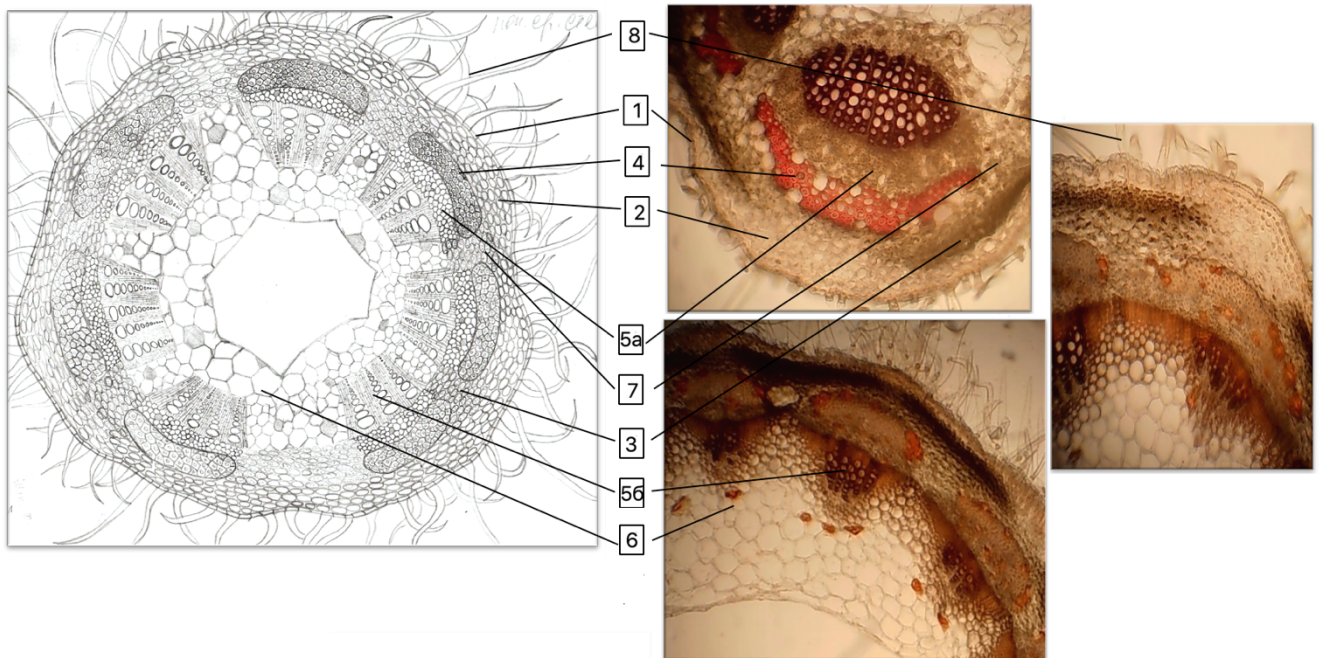


Рисунок 24 – Анатомическое строение стебля в нижней части *Hedysarum grandiflorum* Pall.

1- эпидерма; 2- колленхима, 3- хлоренхима; 4- склеренхима перициклическая; 5- коллатеральный пучок: 5а- флоэма, 5б- ксилема; 6- выполняющая паренхима сердцевины; 7- эндодерм; 8- трихома

3.4 Сравнительное морфолого-анатомическое исследование каулифолиарной системы видов рода *Hedysarum* L.

Впервые проведен анализ строения каулифолиарной системы видов рода *Hedysarum* L., при анализе морфологических особенностей строения и расположения листьев, а также фрагментов цветonoсных побегов, выявлены основные морфологические признаки, которые могут быть использованы при составлении нормативной документации и могут служить для диагностики растительного объекта. Морфологические признаки указаны в таблице 8.

Таблица 8 – Сравнительная морфологическая характеристика видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Северного Кавказа

Наименование вида	Жизненная форма, побеги	Строение листьев	Строение соцветий и цветков	Строение плодов
Копеечник кавказский <i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	Растение высокое, 30-50 см высотой. Нижние междоузлия не укороченные.	Листья рассеяны по всему стеблю, из 7-12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке. Опушение не развито.	Кисти на длинных ножках, в 1½-2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Венчик темно-пурпуровый.	Членики боба не крупные, гладкие или слегка зубчатые.
Копеечник крупноцветковый <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	Многолетник 20-40 см высотой. Бесстебельное или почти бесстебельное. Прилистники крупные, перепончатые, сросшиеся, бурые, рассеянно-волосистые.	Листья на длинных черешках, которые, как и оси, коротко прижато-волосистые и длинно отстоящие, опушенные. Листочки 1-4-парные, яйцевидные или широко-эллиптические, крупные, сверху слабо волосистые, реже голые, снизу густо серебристо-шелковистые.	Кисти многоцветковые, с отклоненными цветками. Прицветники ланцетные, светло-бурые, волосистые, чашечка колокольчатая, зубцы ее линейно-шиловидные, густо оттопыренно-волосистые, Венчик желтый.	Бобы 2-5-членистые, членики округлые, густо беловолосистые, сетчато-ребристые, по краям с шипиками, загнутыми внутрь
Копеечник дагестанский <i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	Бесстебельный стержнекорневой многолетник. Цветоносы с кистями длиной 10-25 см. Все части растения серого цвета от прижатого опушения.	Листья с обеих сторон покрыты шелковистым опушением, с 2-3-парами боковых листочков, продолговатые, заостренные, длиной до 18 мм и шириной до 8 мм. Верхушечный листочек более крупный. Прилистники сросшиеся.	Кисти немногочетковые, густые. Цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые. Чашечка в 4 раза короче венчика. Лодочка короче флага и в 2 раза длиннее крыльев. Цветки крупные, кремово-белые.	Бобы из 2-4 члеников. Членики чечевицеобразные, бородавчатые

При сравнительном изучении анатомического строения каулифолиарной системы основное внимание было привлечено к анатомическому строению черешка и рахиса сложного листа. Выявлены следующие различия – изменяется форма на поперечном сечении черешка сложного листа от явно седловидной до округло-треугольной формы, меняется количество ребер на абаксиальной стороне. Выявлены различия, касающиеся строения и расположения колленхимы, склеренхимы и проводящей системы. Проводящая система черешка и рахиса сложного листа представлена тремя крупными и 2-7 мелкими проводящими пучками.

Проводящие пучки имеют выраженное коллатеральное строение, при этом один крупный, дорзальный проводящий пучок, расположен на абаксиальной стороне, он имеет характерную округлую или полулунную форму и армирован склеренхимными волокнами со стороны флоэмы. Два вентральных проводящих пучка более мелкие и располагаются обычно в зоне ребер, также армированы склеренхимой со стороны флоэмы. Количество и расположение дополнительных мелких проводящих пучков может изменяться в зависимости от той зоны черешка или рахиса, в которой выполнен срез. Так, для зоны рахиса характерно обычно 2-4 дополнительных проводящих пучка, либо они полностью отсутствуют. Количество и расположение проводящих пучков нам представляется наиболее интересным и более информативным с точки зрения диагностики данного вида, произрастающих в различных экологических условиях (рис. 8-12, 13-18, 20-24).

При сравнительном анализе анатомического строения стебля выявлены общие черты, к которым относятся многогранная форма стебля на поперечном сечении, опушение представлено простыми двуклеточными волосками, которые имеют зауженное основание и расширенную структуру, характерной особенностью волосков является бородавчатость кутикулы.

При проведении комплексного морфолого-анатомического исследования трех видов рода *Hedysarum* L. выявлены микроморфологические диагностические признаки, которые представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Сравнительные микроскопические диагностические признаки видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Северного Кавказа.

Наименование вида/ диагностические признаки	<i>Hedysarum caucasicum</i> M. Bieb.	<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.
Тип строения листа	дорзовентральный	дорзовентральный	дорзовентральный
Структура палисадного мезофилла	Палисадный мезофилл под верхней эпидермой в 2 слоя	Палисадный мезофилл в 1, 2 или 3 слоя, в области главной жилки слой мезофилла не разрывается.	Палисадный мезофилл под верхней эпидермой в 3-4 слоя, не прерывается в зоне центральной жилки.
Наличие вместилищ	отдельные вместилища с содержимым оранжевого цвета.	Между клетками палисадного мезофилла обнаружены крупные вместилища овальной формы, заполненные содержимым оранжевого цвета	Между клетками палисадного мезофилла расположены крупные вместилища вытянутой прямоугольной формы в 1 слой.
Тип листа	амфистоматический	амфистоматический	амфистоматический
Типы устьичных аппаратов	анизоцитный и аномоцитный	анизоцитный	анизоцитный.
трихомы, наличие и особенности строения	Трихомы отсутствуют	простые волоски с характерным расширением в основаниях.	простые одноклеточные волоски с шероховатой кутикулой
Форма черешка листа на поперечном сечении	V- образная или округло-треугольная	V- образная	Седловидная
Тип проводящей системы черешка, количество и расположение проводящих пучков	пучкового типа, 6 проводящих пучков, 1 расположен на дорзальной стороне, а 5 - на вентральной.	пучкового типа, 3 коллатеральными пучками, 1 расположен на дорзальной стороне, а 2 на вентральной.	пучкового типа, 5 коллатеральных пучков, 3 соединены между собой и расположены в дорзальной части, 2 мелких расположены в вентральной.
Форма стебля на поперечном сечении	многогранная или ребристая	ребристая	многогранная
структура проводящей системы	эуфель, пучки открытые коллатеральные, в количестве 13-15.	эуфель, пучки коллатеральные, в количестве 7-12.	эуфель, пучки открытые, коллатеральные, в количестве 10.
расположение идиобластов	клетки межпучковой паренхимы, обкладочные клетки вокруг проводящих пучков	клетки паренхимы сердцевины	клетки паренхимы сердцевины
Колленхима, количество слоев и структура	уголкового типа, 3 слоя	уголкового и пластинчатого типа, 4-5 слоя	пластинчатого типа, 3 слоя

Выявленные диагностические признаки были использованы при составлении нормативной документации на лекарственное сырье.

3.5 Использование методов секвенирования при идентификации видов рода *Hedysarum* L.

Наряду с известными методами фармакогностического анализа в последние годы вводится перспективный молекулярно-генетический метод исследования для проведения идентификации растительного сырья [28, 100, 108, 129, 137]. Что касается изученности рода *Hedysarum* L., то следует отметить публикации таких зарубежных авторов, как Chennaoui H., Marghali S., Marrakchi M., Trifi-Farah N., в которых были изучены филогенетические связи в пределах данного рода, на основе морфологических и биохимических исследований [136, 141, 142, 169, 185]. Молекулярно-генетическими исследованиями на основе сравнительного анализа рибосомных генов видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Юго-Восточной Азии, занимались Nafisi H., Ranjbar M., Wojciechowski M.F. и др. [184, 185, 192, 212].

Были изучены виды *H.chaiyrakanicum* и *H.theinum*, для которых авторами отмечен выраженный полиморфизм внутренних транскрибируемых спейсеров ITS рДНК и признаки филогенетического родства со средиземноморскими видами рода. Отмечается связь между азиатскими и европейскими видами *H.chaiyrakanicum* и *H.gmelinii*, которые относятся к родственным секциям *Subacaulia* и *Multicaulia*. Кроме известных зарубежных авторов, немалый вклад для рода *Hedysarum* L. внесли отечественные авторы, среди которых Шанцер И.А. и Супрун Н.А., которые изучали генетическую изменчивость *H.grandiflorum*, *H.biebersteinii* и *H.argyrophyllum*. Для изучения генетического полиморфизма копеечников использовали анализ ISSR маркеров, что позволило проанализировать более 100 фрагментов ДНК, оказавшиеся полиморфными [117].

Задачами являются оценка возможности применения молекулярно-генетического метода при проведении комплексных фармакогностических

исследований и изучение внутри- и межпопуляционной изменчивости трех видов рода *Hedysarum* L., собранных на территории Северного Кавказа (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.(H₁), *Hedysarum grandiflorum* Pall.(H₂), *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Voiss.(H₀)), определить возможные филогенетические связи между видами рода копеечник.

В соответствии с методикой, описанными в главе 2, п. 2.2. выделение ДНК проводили с помощью методики СТАВ из листьев гербарных образцов или листьев и включала следующие стадии:

- листья исследуемых образцов измельчали в тонкий порошок в течение 10 секунд используя измельчитель TissueLyser;
- добавляли 700 мкл предварительно нагретого экстракционного буфера EB, энергично встряхивали;
- инкубировали при 65°C в течение 1, 2 или более часов;
- очищали равным объемом смеси хлороформ:изоамилового спирта (24:1), встряхивали в течение 5 минут и центрифугировали образцы в течение 10 мин при комнатной температуре при 14000 об / мин.;
- переносили верхнюю фазу в новую 1,5 мл пробирку, последовательно осаждали ДНК с помощью 2/3 объема изопропанола (5 мин при комнатной температуре);
- центрифугировали при комнатной температуре в течение 10 минут при 14000 об./мин.;
- удаляли супернатант и дважды промывали осадок с помощью Wash Buffer WB. Осадок высушивали на воздухе и растворяли в 300 мкл TE-буфера;
- добавляли 3 мкл РНКазы (10 мг/мл) и инкубировали 30 мин при 37°C. Доводили растворенную нуклеиновую кислоту до 2 М NaCl;
- повторно осаждали, добавив 2 объема спирта этилового 96%, промывали 500 мкл 70% спирта этилового, высушивали гранулы на воздухе и растворяли в TE-буфере.

Для прямого ПЦР-анализа использовали Thermo Scientific TM Phire TM Plant Direct PCR Master Mix, непосредственно предназначенный для листьев и семян

растений без предварительной очистки ДНК. Контроль ПЦР проводили визуально с помощью УФ-трансиллюминатора. Полоску геля, содержащую необходимый фрагмент ДНК, вырезали и помещали в стерильную пробирку. Для выделения ДНК из геля использовали набор «QIA quick Gel Extraction Kit» (QIA quick). Электрофорез в агарозном геле является стандартным методом для разделения, идентификации и очистки интактных молекул ДНК и их фрагментов (высокомолекулярная хромосомная ДНК всегда фрагментируется при изоляции из клетки). За движением ДНК (РНК) в пластине геля можно следить, так как полосы окрашенной флуоресцентными красителями ДНК, формируемые молекулами одного размера при продвижении через поры геля, видны в УФ свете. Для окрашивания ДНК применяют краситель этидия бромид ($\lambda_{\max} = 590\text{nm}$). Молекулы этидия бромида интеркалируют в молекулы ДНК, т.е. встраиваются между соседними парами нуклеотидов. Интенсивность флуоресценции связанного с этидия бромидом в 20 раз выше, чем свободного (рисунок 25) [8].

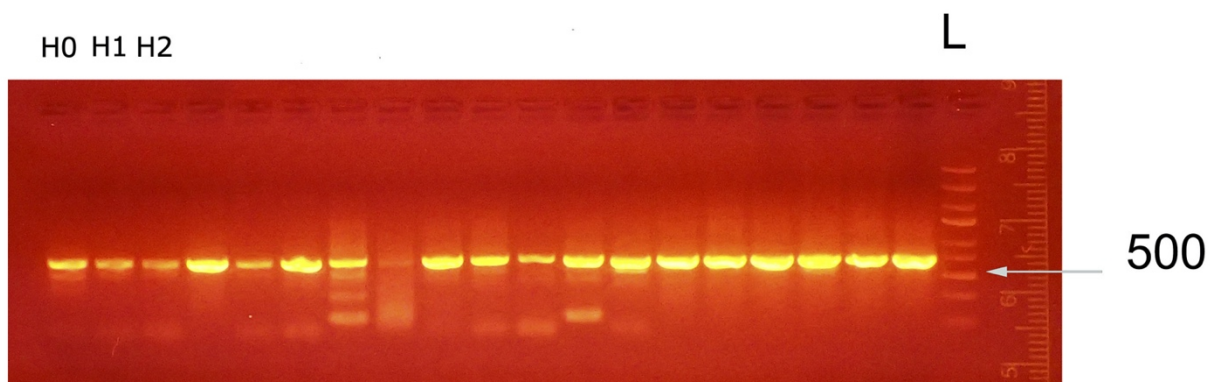


Рисунок 25 – Результаты окрашивания ДНК в УФ-свете
(краситель этидия бромид):

*H*₀- *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss; *H*₁- *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.;
*H*₂- *Hedysarum grandiflorum* Pall.

Нами секвенирован маркерный участок ITS1–5.8S–ITS2 гена рРНК у представителей рода *Hedysarum* L. Филогенетическая реконструкция была основана на сравнении этого маркерного участка секвенированных нами образцов разного географического происхождения и данных из Генбанка NCBI. Для

построения филогенетических деревьев был использован метод максимального правдоподобия с бутстреп-тестом в программе MEGA10 [165].

Было проведено сравнительное молекулярное изучение образцов *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss, *Hedysarum grandiflorum* Pall., представленные во флоре Кавказа. Проведено сравнение последовательностей ITS1–5.8S–ITS2 гена 5.8S рРНК у *Hedysarum caucasicum* сданными, представленными в Genbank/ EMBL/DDBJ [153].

Полученное филогенетическое древо показано на рисунке 26. Часть исследованных нами видов формирует хорошо поддерживаемые клады, что можно сказать о видах, отнесенных к секции *Obscura*.

В результате исследований проведен комплексный эколого-морфологический и молекулярно-генетический анализ, позволяющий провести корреляцию между морфологическими, эколого-фитоценоотическими, молекулярно-генетическими показателями. Из 309 видов рода *Hedysarum* L., который относится к семейству *Fabaceae*, на территории Российской Федерации произрастает 129 видов, во флоре Кавказа встречается 16 видов. Род *Hedysarum* L. включает в себя 6 секций: секция *Fruticosa*; секция *Spinossissima*; секция *Obscura*; секция *Multicaulia*; секция *Subacaulia*; секция *Crinifera* [20, 32, 116, 128, 130].

Приведены морфологические показатели, такие как жизненная форма, особенности строения листьев, элементы строения генеративных органов, таких как цветок, кроме того, для каждого вида указываются эколого-фитоценоотические характеристики, включая особенности произрастания и высотный уровень (таблица 10).

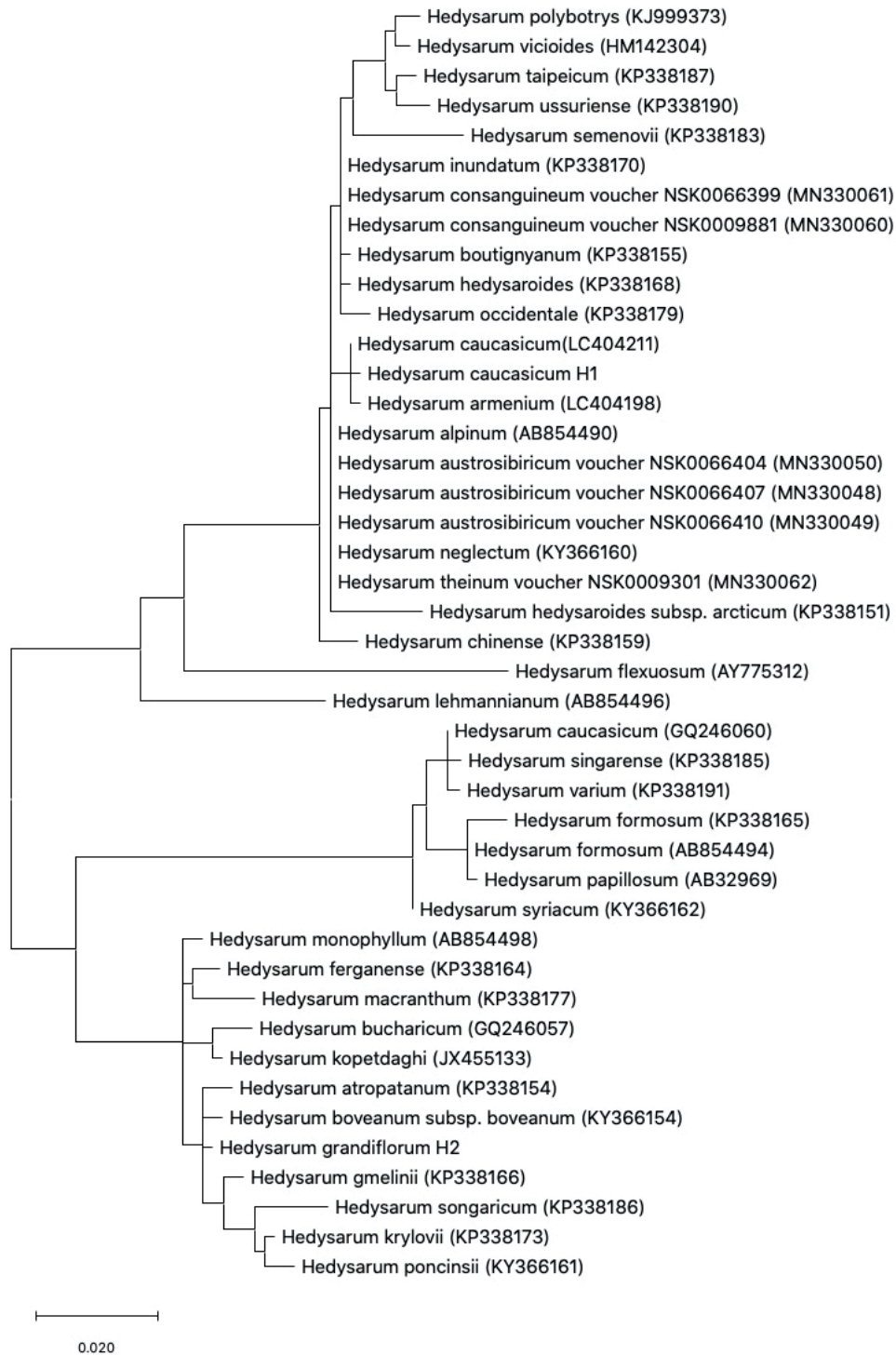


Рисунок 26 – Филогенетические взаимоотношения видов рода *Hedysarum* L.

Таблица 10 – Сравнительная характеристика морфологических и эколого-фитоценологических признаков видов рода *Hedysarum* L. из филогенетического древа, произрастающих на территории Российской Федерации

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценотический тип	ЛИТ
Секция 2. <i>Spinosissima</i>					
1	Копеечник изгибистый <i>Hedysarum flexuosum</i> L.	Однолетнее растение; Стебель крепкий, ветвистый, 50-120 см высотой; Прилистники крупные, свободные; Листочки 2–5-парные, почти округлые или продолговатояйцевидные, снизу рассеянно-пушистые, 15-22 мм длиной, до 10 мм шириной	Цветоносы коротко прижато-волосистые; Кисти довольно густые, удлинённые; Венчик пурпуровый или розовый, длиной 10-12 мм, завязь волосистая	Склоны, луга, на глубоких глинистых почвах; до 100 м	[128, 151]
Секция 3. <i>Obscura</i>					
2	Копеечник арктический <i>Hedysarum arcticum</i> V.Fedtsch.	Многолетнее растение; Стебель крепкий, голый, 20-35 см высотой; Прилистники многочисленные, сросшиеся между собой; Листочки в числе 4–9-парные, продолговато-эллиптические, сверху голые, снизу опушенные по жилкам и краям или почти голые, 12-20 мм длиной	Цветоносы выходят из пазух верхних листьев, заканчивая собой стебель; Кисти в начале цветения сжатые, 4-7 см длиной; Цветки в количестве 5-30, несколько поникающие, лиловые, фиолетово-красные	В арктической и прилегающей лесной зоне в тундрах, на песчаных островах, в лиственничном редколесье, приречных кустарниковых зарослях; в высокогорном поясе	[128]
3	Копеечник затопляемый <i>Hedysarum inundatum</i> Turcz.	Многолетнее растение; Стебли прямостоячие, почти голые, 20-40 см высотой; Листья образуют 2-4 междоузлия; Прилистники светло-бурые, длиной 8-12 см, черешок листа короткий; Листочки 5-9-парные, продолговато-эллиптические, длиной 24-28 мм, шириной 9-12 мм	Цветоносы верхушечные; Кисти густые, длиной 4-6 см; Цветки в количестве 24-35, слегка поникающие; Прицветники светло-бурые, линейно-ланцетные, цветоножки опушенные, чашечка коротко-колокольчатая; Венчик 16-20 мм длиной, розово-лиловый	По галечникам и утесам в субальпийской и высокогорной зонах, зоны горных хребтов	[116, 128, 130]
4	Копеечник родственный <i>Hedysarum consanguineum</i> DC.	Многолетнее растение; Стебли прямостоячие, коротко-пушистые или почти голые, 20-45 см высотой; Листья зеленые, образующие 2-4 междоузлия; Прилистники многочисленные, сросшиеся, короткие, бурые; Листочки 4–8-парные, почти голые или прижато коротко-волосистые	Цветоносы верхушечные, одиночные или восходящие из пазух 2-3 верхних листьев, кисти 10-18 см длиной; Цветки в количестве 27-30, горизонтальные или поникающие; Чашечка коротко-колокольчатая, пушистая, зубцы ланцетно-шиловидные; Венчик 17-19 мм длиной, розово-лиловый	По долинам рек и болотистым лесам. В высокогорном поясе на альпийских, субальпийских лугах, каменистых россыпях, в тундре	[128, 130]

5	Копеечник южносибирский <i>Hedysarum austrosibiricum</i> B.Fedtsch.	Многолетнее растение; Стебли прямостоячие, крепкие, голые, 20-40 см высотой; Прилистники сросшиеся в основании стеблей; Листочки в числе 4-9 пар, продолговато-эллиптические, сверху голые, снизу по средней жилке и краям едва опушенные, 15-25 мм длиной, 7-10 мм шириной	Цветки лиловые, фиолетово-лиловые, по 15-30 цветков в густых кистях 3-7 см длиной, удлинняющихся при плодах до 10-15 см; Прицветники ланцетные, желто-бурые, почти достигающие зубцов чашечки; Чашечка 4-6 мм длиной, голая, иногда опушенная, коротко-колокольчатая. Зубцы ее ланцетные, почти равны трубке. Завязь голая.	В высокогорном поясе на лесных, альпийских и субальпийских лугах, в тундре, на щебнисто-лишайниковых гольцах.	[128, 130]
6	Копеечник копеечниковый <i>Hedysarum hedysaroides</i> L.	Многолетнее растение; Стебли прямостоячие, голые, 30-60 см высотой; Прилистники бурые, нижние почти полностью сросшиеся между собой, верхние – частично сросшиеся, с ланцетовидно-вытянутыми свободными концами; Листья 6-10 см длиной; Листочки 6–9 парные, короткочерешковые, по оси с редкими волосками, овальные или продолговато-овальные, реже – ланцетные, на верхушке тупые или закругленные, сверху – голые, снизу – по всей поверхности либо только по средней. жилке и по краю негусто опушенные, 12-20 мм длиной и 4-8 мм шириной	Цветоносы длиннее листьев; Кисти негустые, удлиненные; Цветки многочисленные, 30-40 шт., поникающие, темно-фиолетовые; Чашечка с косым отгибом, зубцы ланцетные или шиловидные; Венчик 25-30 мм длиной, завязь линейная, голая	По горным лугам в верхних частях лесной зоны	[128]
7	Копеечник забытый <i>Hedysarum neglectum</i> Ldb.	Многолетнее растение; Стебли прямостоячие, голые или коротко-пушистые, 25-60 см высотой; Прилистники многочисленные, короткие, бурые, сросшиеся; Листья образуют 4-6 междуузлий, длина листа до 12 см, черешок листа короткий; Листочки 4–10-парные, продолговато-эллиптические, с обеих сторон прижато опушенные, 17-22 мм длиной, 9-11 мм шириной	Цветоносы верхушечные; Кисть рыхлая, 15-30-цветковая; Цветки в количестве 25-50, горизонтальные, прицветники бурые, линейно-ланцетные, голые или мало-опушенные; Чашечка коротко-колокольчатая, коротко-пушистая; Венчик лиловый, пурпурно-лиловый, 17-20 мм длиной.	В высокогорном поясе, спускается в лесной; на субальпийских, альпийских, лесных лугах, каменистых склонах, в разреженных лиственничных лесах.	[128, 130]
8	Копеечник кавказский <i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	Многолетнее растение; Стебли прямые, олиственные, 30-60 см высотой; Листья зеленые.; Листочки 7–12-парные, эллиптические или яйцевидно-продолговатые, с остроконечием на верхушке, 12-16 мм длиной, 7-9 мм шириной	Цветоносы длиннее листьев; Кисти на длинных ножках, в 1,5-2 раза длиннее листьев, не очень густые; Венчик темно-пурпуровый или малиновый, 16-18 мм длиной, завязь пушистая или голая	Высокогорные луга, 1500-3500 м., на субальпийских и альпийских лугах, на моренах, на осыпях, криволесьях, уступы скал	[32, 54, 128]

9	<p>Копеечник Семенова <i>Hedysarum Semenovii</i> Rgl. et Herd.</p>	<p>Многолетнее растение; Стебли одиночные, реже в числе 2-3, прямостоящие, бороздчатые, голые или рассеянно волосистые, 50-120 см высотой; Прилистники крупные, между собой сросшиеся, бурые, самые нижние безлистые, стеблеобъемлющие; Листья коротко черешковые, черешки их, как и ось листа, прижато-волосистые; Листочки 4–8-парные, округлые или округло-яйцевидные, нежные, сверху голые, снизу рассеянно, полу-прижато-волосистые, 15-35 мм длиной, 13-25 мм шириной</p>	<p>Цветоносы пазушные, прижато-волосистые; Кисти продолговатые, многоцветковые, густые; Прицветники ланцетные, бурые, 4-6 мм длиной; Чашечка широко-колокольчатая, 5-6 мм длиной, слегка скошенная, голая или слабо волосистая; Венчик желтый</p>	<p>Растет на травянистых склонах, в поясе елового леса.</p>	[116, 128]
10	<p>Копеечник альпийский <i>Hedysarum alpinum</i> L.</p>	<p>Многолетнее растение; Стебли прямостоячие, голые или в верхней части опушены короткими и слегка курчавыми волосками, 40–120 см высотой; Листья сложные непарноперистые; Листочки 6–11-парные, продолговато-яйцевидные, 15-30 мм длиной, 4-10 мм шириной</p>	<p>Соцветия длинные, густые кисти; Цветки в количестве 20–30, розовые, лилово-розовые, в высушенном состоянии фиолетовые, в кистях 5-15 см длиной; Чашечка 3,5-4,5 мм, опушена короткими слегка курчавыми волосками; Венчик 13–15 мм длиной, завязь голая или опушенная</p>	<p>На лесных лугах, в березовых и сосновых лесах, по склонам и на береговых обрывах</p>	[128, 130]
11	<p>Копеечник горошковидный <i>Hedysarum vicioides</i> Turcz.</p>	<p>Многолетнее растение; Стебель голый, 50-120 см высотой; Прилистники сросшиеся в виде влагалища; Листочки 8–9-парные, линейно-продолговатые, сверху голые, снизу по средней жилке и краям едва опушенные.</p>	<p>Цветоносы (без кисти) почти одинаковой длины с листьями; Кисти рыхловатые, 15-20 см длиной; Цветки в количестве 10-30; Чашечка голая; Венчик бледно-желтый, 10-12 мм длиной</p>	<p>В долинах рек, на лугах, приречных галечниках, в лиственничных и сосновых лесах.</p>	[128, 130]
12	<p>Копеечник уссурийский <i>Hedysarum ussuriense</i> I.Schischk&Kom.</p>	<p>Многолетнее растение с толстым, деревянистым, длинно-стержневым корнем; Стебли многочисленные, до 50 см высотой; Листья непарноперистые; Листочки 3–5-парные, продолговато-яйцевидные, почти голые, с четко выступающими жилками, 10–20 мм длиной и 5–10 мм шириной</p>	<p>Цветки беловато-желтые, многочисленные (до 20), в рыхлом, однобоком, кистевидном соцветии, на длинном цветоносе, превышающем листья</p>	<p>Растет на известняковых скалах и открытых каменистых склонах до 700 м над уровнем моря. Местами образует заросли. Облигатный кальцефил.</p>	[116, 128]
13	<p>Копеечник чайный <i>Hedysarum theinum</i> Krasnob.</p>	<p>Многолетнее травянистое растение; Стебли прямые, бороздчатые, голые или слабо прижато-волосистые, 80 см высотой; Прилистники бурые, сросшиеся между собой, крупные, чешуевидные; Листочки 2–5-парные, короткочерешковые, эллиптические или яйцевидно-эллиптические, сверху голые, а по краям и снизу, по главной жилке, коротко-волосистые</p>	<p>Пурпурно-лиловые цветки собраны по 15-30 штук в рыхлые кисти</p>	<p>Копеечник забытый растет на альпийских и субальпийских лугах, на травянистых и каменистых склонах, в арчевниках и на галечниках рек</p>	[128, 130]

14	Копеечник армянский <i>Hedysarum armenium</i> Boiss. et Tchih.	Многолетнее травянистое растение; стебли прямостоячие, укороченные, 10-30 см, прилистники светло-коричневые, широкие; листочки 10–13-парные, эллиптические или продолговато-эллиптические, тёмно-зелёные, длиной 8-12 мм	Кисти густые, по 20-30 цветков; венчик 15-16 мм длиной, тёмно-пурпуровый, завязь опушенная	На горных лугах, на высоте 2100-3000 м	[54, 128]
Секция 4. <i>Multicaulia</i>					
15	Копеечник красивый <i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey.	Многолетнее травянистое растение; Стебли очень толстые, крепкие, до 5 мм в диаметре, прямые, слегка извилистые, ветвистые, 40-70 см высотой; Прилистники крупные, ланцетные, нижние сросшиеся, верхние обычно свободные; Листочки 6–10-парные, продолговато эллиптические, сверху голые, снизу пушистые	Кисти удлинённые; Зубцы чашечки из ланцетного основания шиловидные; Венчик желтый, 13-15 мм длиной, бледный	Солонцеватые степи	[32, 54, 128]
16	Копеечник азербайджанский <i>Hedysarum atropatanum</i> Vge. ex Boiss.	Многолетнее растение; Стебли белые, прямые, рассеянно серебристо-волосистые 30–40 см высотой; Прилистники нижние бело-перепончатые, прижато-волосистые, коротко-треугольные, срастающиеся основаниями, верхние ланцетные, свободные; Листья коротко-черешковые; Листочки 6–10-парные, округло-эллиптические или продолговатые, густо покрытые прижатыми серебристыми волосками с обеих сторон, 10-12 мм длиной, 7-9 мм шириной	Цветоносы крепкие; Кисти удлинённые, по 10-15 цветков; Чашечка колокольчатая, зубцы ее из узко-ланцетного основания шиловидные, кверху голые; Венчик розово-фиолетовый, 15–18 мм длиной	На глинистых сланцах	[32, 54, 128]
17	Копеечник копетдагский <i>Hedysarum kopetdaghi</i> Boriss.	Многолетнее растение; Многостебельное, 25-35 см высотой; Прилистники перепончатые, ланцетные, 4-5 мм длиной; Развитые междоузлия, скудно и прижато волосистые; Листья с короткими черешками, 7-12 см длиной; Листочки 5–7-парные, продолговато-эллиптические, на верхушках тупые, с коротким остроконечием, к основанию округло-клиновидные, с двух сторон прижато волосистые, 15-30 мм длиной, 5-15 мм шириной	Соцветие-кисть, 4-7 см длины, до 2 см шириной; Цветки на коротких цветоножках; Прицветники нитевидные, перепончатые, до 5 мм длиной, чашечка широко колокольчатая, 9-10 мм длиной, с нитевидными зубцами; Венчик фиолетовый, флаг 12-13 мм длиной, 8-9 мм шириной, с округло-яйцевидной пластинкой, на верхушке выемчатый	На травянистых склонах гор, на высоте 1800-2000 м.	[128]
18	Копеечник пестрый <i>Hedysarum varium</i> Willd.	Многолетнее растение; Стебли восходящие, многочисленные, ветвистые, 20-40 см высотой; Прилистники сросшиеся, прижато-волосистые; Листочки 3–5-парные, продолговатые или эллиптические, тупые, реже островатые, сверху голые, снизу пушистые	Кисти густые, равные листьям или длиннее их; Венчик желтый; лодочка на верхушке фиолетовая, равная крыльям, короче флага, на сгибе закругленная	Сухой склон	[32, 54, 128]

19	Копеечник Гмелина <i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb.	Многолетнее растение; Стебли немногочисленные, почти прямые, опушенные, с прижатыми волосками, внизу 2-3 мм в диаметре, 20-35 см высотой; Прилистники перепончатые, сросшиеся, концы их свободные, ланцетные; Листочки 5–11-парные, продолговатые или эллиптические, снизу волосистые, сверху иногда голые, 7-30 мм длиной, 3-12 мм шириной	Цветонос длиннее листьев; кисти 15–30-цветковые, густые, под конец удлиненные; Прицветники ланцетные, чашечка прижато- волосистая; Венчик розово-пурпурный, 18-20 мм длиной	По луговым и каменистым степям	[128, 130]
20	Копеечник джунгарский <i>Hedysarum songaricum</i> Bong.	Многолетнее растение; Стебли хорошо развитые, многочисленные, почти голые, 25-60 см высотой; Прилистники пленчатые, нижние сросшиеся при основании, слегка окрашенные, волосистые; Листочки 5–8-парные, ланцетные или продолговато-эллиптические, сверху голые, снизу прижато-волосистые, около 20 мм длиной, 2-5 мм шириной	Цветоносы длиннее листьев; Кисти многоцветковые, продолговатые; Цветки не поникающие; Прицветники пленчатые, ланцетовидные; Чашечка колокольчатая, с ланцетно-шиловидными зубцами, в 2-3 раза длиннее трубки; Венчик розово-фиолетовый, флаг 12-14 мм длиной, пластинка его продолговато-яйцевидная, слегка превышает лодочку	Растет в степях, на щебнистых и мелко- землистых склонах в среднем и нижнем поясах гор.	[128]
21	Копеечник азербайджанский <i>Hedysarum atropatanum</i> Vge. ex Boiss	Многолетнее растение; стебли ветвистые, серебристо-волосистые; прилистники бело-перепончатые, прижато-волосистые; листья коротко-черешковые; листочки 4–6-парные, округло-эллиптические или продолговатые, длиной 10-12 мм	Кисти удлиненные, по 10-15 цветков; чашечка колокольчатая, венчик 14-15 мм длиной розово- фиолетовый	На глинистых сланцах	[128]
Секция 5. Subacaulia					
22	Копеечник Лемана <i>Hedysarum Lehmannianum</i> Vge.	Многолетнее растение; Стебли неразвитые, прижато-волосистые, 15-35 см высотой; Прилистники продолговато-ланцетные, бурые, между собой сросшиеся, прижато-волосистые; Листочки 7–12-парные, продолговато-эллиптические, снизу густо прижато-волосистые, сверху опушенные, реже почти голые, 10-18 мм длиной, 5-7 мм шириной	Цветоносы с кистью длиннее листьев; Кисти довольно сжатые, многоцветковые; Цветки в количестве 12-20, длиной 18-20 мм; Чашечка оттопырено-волосистая, зубцы ланцето- шиловидные; Венчик пурпуровый, завязь сидячая, волосистая	На каменистых горных склонах, по кустарникам в субальпийских степях	[128]

23	Копеечник однолисточковый <i>Hedysarum monophyllum</i> Boriss.	Многолетнее растение, 5-12 см высотой; Бесстебельное или почти бесстебельное, шелковисто-волосистое; Прилистники черепичато расположены при основании листьев, между собою высоко сросшиеся, в свободной части ланцетные, заостренные, в нижней части округло-яйцевидные; Листочки простые, прикорневые, с округло-яйцевидной пластинкой, шелковистые от прижатых волосков, на верхушке округлые или островатые, иногда выемчатые, у основания округлые, 10-40 мм длиной, 7-35 мм шириной	Цветоносы волосистые, соцветие округло-головчатое, компактное, 2-3,5 см в диаметре; Прицветники яйцевидные или яйцевидно-продолговатые, на верхушке заостренные, перепончатые, снаружи бело-волосистые, 6-10 мм длиной, 3-4 мм шириной; Чашечка широко-колокольчатая волосистая 8-21 мм длиной; Венчик 13-17 мм длиной, сухой, желтоватый или фиолетовый, завязь продолговатая	На каменистых и глинистых склонах гор, на высоте до 2500 м.	[128]
24	Копеечник крупноцветковый <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	Многолетнее растение; Стебли неразвитые, реже - сильно укороченные, 20-40 см высотой; Прилистники крупные, кожистые, перепончатые, сросшиеся, бурые, рассеянно-волосистые; Листья сложные, непарноперистые, на длинных черешках, которые, как и оси, коротко прижато-волосистые; Листочки 1-4-парные, яйцевидные или широко-эллиптические, крупные, сверху слабо волосистые, реже голые, снизу густо серебристо-шелковистые, 20-30 мм длиной, 10-18 мм шириной	Цветоносы слегка длиннее листьев, толстые, отстоящие волосистые; Кисти многоцветковые, с отклоненными цветками; Прицветники ланцетные, светло-бурые, волосистые, чашечка колокольчатая, короче венчика, зубцы ее линейно-шиловидные, густо оттопыренно-волосистые; Венчик желтый или пурпурово-фиолетовый 20-25 мм длиной	Лесостепь, каменистые и тимьянниковые степи, щебнистые и глинисто-известняковые склоны, на мощных слабо развитых черноземах, известняки, гипсы; меловые степи, сосняки, степные склоны. Урочищ, на обнажениях мела и мергеля	[54, 128]
25	Копеечник ферганский <i>Hedysarum ferganense</i> Korsh.	Многолетнее растение; Стебли почти неразвитые 10-30 см высотой; Листья почти все скученные на коротком протяжении, прилистники продолговато-ланцетные, серо-буроватые, прижато-волосистые, под конец почти голые; Листочки 4-7-парные, продолговатые или эллиптические, покрытые короткими белыми, прижатыми волосками, на верхней поверхности листочков опушение менее густое, 10-18 мм длиной, 4-6 мм шириной	Цветоносы (с кистью) длиннее листьев, прижато бело-волосистые; Прицветники буроватые, ланцетные; кисть густая; Цветки в количестве 15-30, длиной 12-13 мм; Чашечка колокольчатая, зубцы ее линейные, в 2-3 раза длиннее трубки, покрытые прижатыми или несколько оттопыренными волосками; Венчик лилово-фиолетовый, завязь волосистая	На горных лугах, на каменистых и щебнистых склонах	[128]
26	Копеечник Понсена <i>Hedysarum Ponicinsii</i> V.Franchet.	Многолетнее растение; Стебли неразвитые, густо бело-войлочное, 5-10 см высотой Прилистники бело-перепончатые, со слабой примесью коричневатой окраски; Листочки 3-4-парные, продолговато-обратнояйцевидные, 5-7 мм длиной, 2-2,5 мм шириной	Цветоносы восходящие кисть сжатая, головчатая; Цветки в количестве 10-15, 10-12 мм длиной; Чашечка колокольчатая, зубцы ее линейно-нитевидные, покрыты отстоящими волосками; Венчик темно-фиолетовый	Степи, 2800-3200 м	[128]

27	Копеечник Крылова <i>Hedysarum Krylovii</i> Sumn.	Многолетнее растение; Бесстебельное, реже с укороченным стеблем Прилистники белые, пленчатые, высоко сросшиеся между собой, прижато-волосистые, свободные концы их яйцевидно-ланцетные, 5-10 мм длиной; Листья 13-20 см длиной; Листочки 3-7-парные, продолговато-ланцетные, тупые, на верхушке выемчатые, или слегка заостренные, на верхней поверхности голые или с немного прижатыми волосками, на нижней серебристые от прижатого опушения, 10-23 мм длиной и 4-8 мм шириной	Цветоносы почти равные листьям или длиннее их, по отцветании же превышают листья почти в два раза; Соцветие многоцветковые, продолговатые, реже яйцевидные, по отцветании достигают до 15 см длиной; Прицветники почти равны трубке чашечки; цветки пурпуровые 15-20 мм длиной	На солонцеватых степях и щебнистых террасах	[128]
28	<i>Hedysarum</i> Копеечник дагестанский <i>daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	Многолетнее растение; Бесстебельное стержнекорневое растение, серого цвета от прижатого опушения; Прилистники сросшиеся; Листья с обеих сторон покрыты шелковистым опушением, Листочки 2-3-парные, продолговато- или яйцевидно-ланцетные, острые, верхушечный листочек более крупный, длиной до 18 мм и шириной до 8 мм.	Цветоносы с кистями длиной 10-25 см; Кисти немногочетковые, густые; Цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые	Известковые и сухие травянистые склоны, каменистые места, от 800 до 1500 м над у.м.	[20, 32, 54, 128]
Секция 6. Crinifera					
29	Копеечник крупноцветный <i>Hedysarum macranthum</i> Freyn. et Sint.	Многолетнее растение; Бесстебельное или почти бесстебельное, 20-30 см высотой; Прилистники травянистые, шелковистые, сросшиеся между собою, ланцетные; Листья до 28 мм длиной; Листочки 5-7-парные	Цветоносы длиннее листьев, длинно-заостренные; прицветники, волосистые, чашечка широко колокольчатая	На каменистых и щебнистых склонах	[128]
30	Копеечник бухарский <i>Hedysarum bucharicum</i> B.Fedtsch.	Многолетнее растение; Стебли тонкие, восходящие, прижато-волосистые, 15-20 см высотой; Прилистники бледные, сросшиеся основаниями, треугольно-ланцетные; Листочки 5-8-парные, продолговато-ланцетные, 14-18 мм длиной, 2-8 мм шириной	Цветоносы превышают листья; Кисти подконец негустые; Цветки в количестве 12-25; прицветники неоппадающие; Венчик ярко-фиолетовый, 10-12 мм длиной, завязь голая или опушенная	Гипсы и известняки, среди арчового редколесья, и полынно-разнотравных сообществах	[128]

При анализе полученных данных следует отметить предполагаемую корреляцию между ареалом произрастания высокогорных видов, обитающих преимущественно на скалах, галечниках, осыпях, в субальпийском и альпийском поясе с увлажненным типом почвы и пурпуровой или розово-фиолетовой окраской лепестков венчика. Примерами могут служить такие виды, как *Hedysarum flexuosum* L., *Hedysarum arcticum* B.Fedtsch., *Hedysarum inundatum* Turcz., *Hedysarum austrosibiricum* B.Fedtsch., *Hedysarum hedysaroides* L., *Hedysarum neglectum* Ldb., *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum alpinum* L., *Hedysarum theinum* Krasnob., *Hedysarum kopetdaghi* Boriss., *Hedysarum songaricum* Bong.

При этом можно выделить группу желто-цветковых копеечников, произрастающих преимущественно на солонцеватых, сухих известняковых склонах с низким уровнем увлажненности почвы, на галечниках, на глинистых сланцах. Данные виды можно отнести к группе кальцефилов, среди них *Hedysarum Semenovii* Rgl. et Herd., *Hedysarum vicioides* Turcz., *Hedysarum ussuriense* I.Schischk.&Kom., *Hedysarum formosum* Fisch. et Mey., *Hedysarum varium* Willd., *Hedysarum grandiflorum* Pall.

Проведен анализ хромосомных чисел видов рода *Hedysarum*. Результаты приведены в таблице 11.

Таблица 11 – Хромосомные числа видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Российской Федерации

№	Название вида	Номер в GenBanke	Хромосомный набор	Литература
Секция 1. <i>Fruticosa</i>				
1.	<i>Hedysarum fruticosum</i> Pall.		2n=16	[14, 54, 116, 130]
Секция 2. <i>Spinosissima</i>				
2.	<i>Hedysarum flexuosum</i> L.	AY775312	2n=16	[151, 153]
Секция 3. <i>Obscura</i>				
3.	<i>Hedysarum arcticum</i> B.Fedtsch.	KP338151	2n=14	[14, 130, 153]
4.	<i>Hedysarum inundatum</i> Turcz.	KP338170	2n=8, 2n=28	[63, 116, 153]
5.	<i>Hedysarum consanguineum</i> DC.	NSK0066399 (MN330061) NSK0009881 (MN330060)	2n=14	[116, 153]
6.	<i>Hedysarum austrosibiricum</i> B.Fedtsch.	NSK0066407 (MN330048)	2n=14	[116, 130, 153]

		NSK0066410 (MN330049) NSK0066404 (MN330050)		
7.	<i>Hedysarum hedysaroides</i> L.	KP338168	2n=14	[14, 94, 141, 153]
8.	<i>Hedysarum neglectum</i> Ldb.	KY366160	2n=14	[14, 116, 153]
9.	<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	GQ246060	2n=14	[14, 153]
10.	<i>Hedysarum Semenovii</i> Rgl. et Herd.	KP338183		[153]
11.	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	AB854490	2n=14	[14, 116, 153]
12.	<i>Hedysarum vicioides</i> Turez.	HM142304	2n=14	[130, 153]
13.	<i>Hedysarum ussuriense</i> ISchischk&Kom.	KP338190	2n=16	[14, 153]
14.	<i>Hedysarum theinum</i> Krasnob.	NSK0009301		[153]
Секция 4. Multicaulia				
15.	<i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey.	AB854494 KP338165		[153]
16.	<i>Hedysarum atropatanum</i> Bge. ex Boiss.	KP338154		[153]
17.	<i>Hedysarum kopetdaghi</i> Boriss.	JX455133		[153]
18.	<i>Hedysarum varium</i> Willd.	KP338191		[153]
19.	<i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb.	KP338166	2n=28	[63, 116, 153]
20.	<i>Hedysarum songaricum</i> Bong.	KP338186		[153]
Секция 5. Subacaulia				
21.	<i>Hedysarum Lehmannianum</i> Bge.	AB854496		[153]
22.	<i>Hedysarum monophyllum</i> Boriss.	AB854498		[153]
23.	<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	исследуемый объект		[153]
24.	<i>Hedysarum ferganense</i> Korsh.	KP338164		[153]
25.	<i>Hedysarum setigerum</i> Turcz.		2n=28, 32, 48	[116, 153]
26.	<i>Hedysarum Poncinsii</i> B.Franchet.	KY366161		[153]
27.	<i>Hedysarum Krylovii</i> Sumn.	KP338173		[153]
Секция 6. Crinifera				
28.	<i>Hedysarum macranthum</i> Freyn. Et Sint.	KP338177	2n=16	[14, 153]
29.	<i>Hedysarum bucharicum</i> B.Fedtsch.	GQ246057		[153]

Кроме того, изучен химический состав видов рода *Hedysarum* L. на предмет накопления основной маркерной группы биологически активных веществ – ксантонового гликозида мангиферина [3, 7, 19, 22, 24, 26, 36, 37, 40, 58, 62, 64, 67, 72, 87, 107, 109, 110, 115, 135]. Результаты приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Содержание ксантонов в различных видах рода *Hedysarum* L.

№	Название вида	Сумма ксантонов
Секция 3. Obscura		
1.	<i>Hedysarum austrosibiricum</i> B.Fedtsch.	3,0
2.	<i>Hedysarum neglectum</i> Ldb.	3,6
3.	<i>Hedysarum flavescens</i> Rgl. et Schmalh.	5,5
4.	<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	4,0

5.	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	6,0
6.	<i>Hedysarum theinum</i> Krasnob.	3,1
Секция 4. Multicaulia		
7.	<i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb.	1,2

По результатам, приведенным в таблице, можно сделать заключение, что для видов секции *Obscura* характерно максимальное накопление ксантоновых гликозидов, преимущественно мангиферина, так, для *Hedysarum alpinum* L. содержание составило 6,0%, *Hedysarum flavescens* Rgl. et Schmalh. – 5,5%, *Hedysarum theinum* Krasnob. – 3,1%.

На основании проведенных исследований можно предположить несколько направлений филогенетических закономерностей, в том числе касающихся корреляции между химическим составом основных групп биологически активных веществ, участвующих в метаболизме данного рода, в том числе маркерного ксантонового гликозида мангиферина, и изменением окраски лепестков венчика. Отдельным направлением можно считать возможную корреляцию эколого-фитоценотической характеристики произрастания видов и накопления основных групп ксантонов. На основании приведенного анализа можно составить прогноз дополнительных сырьевых источников мангиферина и других групп ксантонов при использовании молекулярных данных, примером данного предположения может служить секция *Obscura*. На основании полученных данных можно сделать заключение о том, что в пределах данной секции можно подтвердить морфологическую классификацию данного рода.

Для секции *Obscura*, к которой относятся более 20 видов, в том числе изученный нами копеечник кавказский, характерны схожие морфологические и эколого-фитоценотические показатели, по данным Генбанка практически все указанные виды относятся к данной секции, что полностью подтверждает соотнесение классического таксономического и молекулярно-генетического метода. Для данной секции характерно значительное накопление мангиферина, от 3,0 до 6,0%. В надземной части копеечника кавказского нами обнаружено до 4,0% суммы ксантонов в пересчете на мангиферин. Следует отметить, что данная группа видов произрастает преимущественно в альпийском и субальпийском поясе, и

имеет характерную фиолетово-пурпурную окраску лепестков венчика. Для секции *Subcaulia*, к которой относятся 22 вида, характерны аридные местообитания, сухие каменистые известняковые склоны, данная группа кальцефильна, имеет преимущественно желтую окраску лепестков венчика, представители данной секции, в том числе копеечник крупноцветковый, накапливают незначительное количество ксантонов от 0,05 до 0,1 %.

Получены предварительные результаты, позволяющие провести комплексную идентификацию изученных образцов 3 видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* Vieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr.ex Voiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.), произрастающих в различных высокогорных участках Северного Кавказа. Представлены предварительные результаты применения молекулярно-генетических методов исследований при анализе рода *Hedysarum* L., впервые идентифицированы и изучены нуклеотидные замены в последовательности гена 5.8S рРНК у взятых в анализ образцов рода *Hedysarum* L., построена вероятная вторичная структура и показано, что у представителей рода *Hedysarum* L., возникающие мутации в гене не затрагивают консервативные мотивы и не оказывают существенного влияния на вторичную структуру молекулы ДНК. Следует отметить, что наблюдаемая корреляция накопления вторичных метаболитов ксантонового ряда и эколого-фитоценотической характеристики могут послужить в дальнейшем для выделения видов секции *Obscura* для поиска дополнительных сырьевых источников мангиферина и его производных, обладающих выраженной противовирусной активностью.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3

1. Проведено морфолого-анатомическое исследование каулифолиарной системы трех видов рода *Hedysarum* L.: *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Впервые установлены диагностические признаки, к которым относятся трихомы в виде простых одноклеточных и двуклеточных волосков с бородавчатой кутикулой, устьичные аппараты аномоцитного и анизоцитного типа, седловидная форма черешка на поперечном сечении, наличие идиобластов в паренхимной обкладке коллатеральных проводящих пучков.

2. Проведено молекулярно-генетическое исследование *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Секвенирован маркерный участок ITS1-5.8S ITS2 гена рРНК, по Сэнгеру методом СТАВ. Впервые выявленная корреляция накопления вторичных метаболитов ксантонового ряда и эколого-фитоценотической характеристики позволяет предположить перспективность видов секции *Obscura* для поиска дополнительных сырьевых источников мангиферина и его производных, обладающих выраженной противовирусной активностью.

ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ ВИДОВ РОДА *HEDYSARUM* L.

4.1. Разработка методики выделения суммы основных групп биологически активных веществ

Для выявления оптимальной методики выделения основных групп биологически активных веществ нами проводилось определение суммы экстрактивных веществ в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.), копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.) и копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.) в зависимости от экстрагента. В качестве экстрагентов использовали воду, спирт этиловый в концентрациях 96% и 70%. Результаты приведены в таблице 13.

Таблица 13 – Содержание экстрактивных веществ в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.), копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.) и копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.) в зависимости от экстрагента

Вид экстрагента	Содержание экстрактивных веществ, %		
	<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.
Вода	40,82±1,43	50,59±2,55	44,71±1,68
этиловый спирт 96%	28,87±1,81	34,34±1,50	33,64±2,02
этиловый спирт 70%	37,55±1,69	42,81±1,79	36,89±1,93

В результате установлено, что максимальное содержание экстрактивных веществ в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.), копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.) и копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.) наблюдается при проведении экстракции водой и спиртом этиловым 70%. При этом, для проведения экстрагирования основной группы действующих веществ – ксантонов чаще всего используется спирт этиловый различной концентрации [64, 71, 72, 109, 115, 139,

163, 167]. Для проведения качественного обнаружения и количественного определения суммы ксантонов нами был выбран в качестве экстрагента 70% спирт этиловый.

4.2. Разработка методик качественного обнаружения мангиферина методом хроматографии в тонком слое сорбента

Качественное обнаружение мангиферина осуществляли при помощи хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ). Процесс разделения проводили на пластинах «Sorbfil ПТСХ-АФ-А» 10 x 15 см и 10 x 10 см в хроматографической камере 22,5 x 22 x 6 см. В качестве подвижной фазы использовали системы:

1. хлороформ-метанол-вода (13:7:2);
2. н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5);
3. уксусная кислота 15%.

Пластины опрыскивали реактивами алюминия хлорида спиртовым раствором 1%, раствором железа (III) хлорида 2 %, а также парами аммиака, наблюдали изменение окраски при использовании люминесцентной лампы УФ-А. По результатам хроматографии в тонком слое сорбента подтверждено наличие мангиферина в видах *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss. (таблица 15).

Для количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин рассчитывали показатель потеря массы при высушивании методом ГФ РФ (таблица 14).

Таблица 14 – Потеря в массе при высушивании травы копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.) и копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.)

Вид	n	f	\bar{X}	S_x	$S_{\bar{x}}$	$t(P, f)$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	6	5	6,97	0,1520	0,0621	2,57	0,160	2,29
<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	6	5	6,89	0,1618	0,0661	2,57	0,169	2,46

Таблица 15 – Результаты хроматографирования видов рода *Hedysarum* L. совместно со стандартным образцом мангиферина (n=6)

Значение Rf	Цвет хроматографической области									
	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.		<i>H. grandiflorum</i> Pall.		<i>H. daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.		СО Мангиферина		Алпизарин	
	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления	До проявления	После проявления
Система 1: н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5)										
0,51±0,1	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый
Система 2: Хлороформ-метанол-вода (13:7:2)										
0,56±0,1	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый	Бледно-желтый	Ярко-зеленый
Система 3: 15% уксусная кислота										
0,38±0,1	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Ярко-желтый	Бледно-желтый	Оранжевый

По результатам хроматографии в тонком слое сорбента (таблица 15) подтверждено наличие мангиферина в видах *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss.

4.3 Количественное определение суммы основных действующих веществ

4.3.1. Количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии

Содержание в объектах исследования суммы ксантонов в пересчете на мангиферин рассчитывали двумя способами, используя значение оптической плотности раствора стандартного образца мангиферина и величину удельного показателя поглощения мангиферина в аналогичных условиях.

Определение величины удельного показателя поглощения мангиферина. Точную навеску СО мангиферина (около 0,01 г) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 20 мл спирта этилового 70%, перемешивали до полного растворения мангиферина и доводили объем раствора в колбе до метки. Из полученного раствора готовили следующие разведения. Аликвоты в количестве 0,5; 0,25; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 1,75 мл переносили в мерные колбы вместимостью 25 мл и доводили объемы растворов в колбах до метки спиртом этиловым 70%. Измеряли величину оптической плотности в полученных растворах в кюветах с толщиной слоя 10 мм при длине волны 365 нм. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 70%. В таблице 16 приведены результаты эксперимента.

Таблица 16 – Результаты определения величины удельного показателя поглощения мангиферина (точная навеска СО 0,0101 г)

Аликвота, мл	Концентрация мангиферина, % $\times 10^{-4}$	Величина оптической плотности, A	Рассчитанное значение удельного показателя поглощения, $A_{1\text{см}}^{1\%}$	Метрологические характеристики
0,25	4	0,1278	319,5	$S_{\bar{x}}=1,8433$ $t_{0,95}=2,45$ $\Delta X = 4,52$ $\varepsilon = \pm 1,40\%$
0,50	8	0,2603	325,4	
0,75	12	0,3945	328,8	
1,00	16	0,5178	325,7	
1,25	20	0,6427	321,4	
1,50	24	0,7718	321,5	
1,75	28	0,9338	333,5	
			=325,1	

Полученные результаты статистически обработаны, относительная погрешность определения составила $\pm 1,40\%$, что позволяет сделать вывод о достоверности полученных результатов.

Методика анализа суммы ксантонов в пересчете на мангиферин. Аналитическую пробу 1,0 г (точная навеска) измельченного до 2 мм сырья помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, добавляли 40 мл спирта этилового 70%, в течение 30 мин проводили нагревание на водяной бане с обратным холодильником, после чего полученный экстракт в течение 30 минут охлаждали. Водно-спиртовое извлечение декантировали и фильтровали через вату в колбу для отгонки вместимостью 250 мл. Экстракцию повторяли 2 раза. Полученное извлечение упаривали при температуре 80-85°C до водного остатка объемом около 50 мл, который количественно с помощью 50 мл воды очищенной переносили в делительную воронку вместимостью 250 мл. Содержимое делительной воронки обрабатывали хлороформом 3 раза порциями по 30 мл. Хлороформные извлечения не использовали в дальнейшем.

К оставшейся фракции последовательно добавляли этилацетат, 4 раза по 20 мл. Этилацетатные извлечения последовательно фильтровали с 2 г натрия сульфата безводного в колбу для отгонки вместимостью 250 мл, фильтр ополаскивали 10 мл этилацетата. Извлечение упаривали при температуре 80-85°C до полного удаления органического растворителя. Остаток смешивали с 30 мл спирта этилового 70% и переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл. Объем раствора доводили до метки спиртом этиловым 70% (раствор А).

К 3,0 мл раствора А добавляли 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30% и доводили объем раствора спиртом этиловым 70% в мерной колбе вместимостью 25 мл (раствор Б). Измеряли оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 365 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 70%.

Содержание в сырье суммы ксантонов в пересчете на мангиферин (X, %) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \times 50 \times 25 \times 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \times a_x \times 3 \times (100 - w)}$$

где, A_x – оптическая плотность в испытуемом растворе;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ - удельный показатель мангиферина, 325,1;

a_x - навеска сырья, г;

w - влажность сырья, %.

Количественное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин рассчитывали с использованием величины оптической плотности стандартного образца мангиферина (I) и величины удельного показателя поглощения мангиферина (II), установленной нами экспериментально. В таблице 17 приведены результаты количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве копеечника кавказского.

Таблица 17 – Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.)

($a_0 = 0,0101$ г; $A_0 = 0,5178$; $A_{1\text{см}}^{1\%} = 325,1$; $w = 7,23\%$)

Масса навески, г	Значение оптической плотности, A_x ($\lambda = 364$ нм)	Содержание суммы ксантонов, % (рассчитано по A_0)		Метрологические характеристики	
		I	II	I	II
1,0015	0,4621	0,640	0,637	$\bar{X} = 0,63$	$\bar{X} = 0,62$
1,0018	0,4672	0,647	0,644	$S_{\bar{x}} = 0,0830$	$S_{\bar{x}} = 0,0830$
1,0100	0,4671	0,642	0,639	$\Delta x = 0,021$	$\Delta x = 0,021$
0,9989	0,4329	0,601	0,599	$\bar{x} \pm \Delta x =$	$\bar{x} \pm \Delta x =$
0,9996	0,4358	0,605	0,602	$0,63 \pm 0,021$	$0,62 \pm 0,021$
0,9898	0,4504	0,632	0,629	$\varepsilon = 3,39\%$	$\varepsilon = 3,42\%$

В результате хроматографических исследований трех видов рода копеечник выявлено, что максимальное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин составляет $0,62 \pm 0,021\%$ и наблюдается в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (таблица 18).

Таблица 18 – Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве видов рода *Hedysarum* L. по величине удельного показателя поглощения мангиферина

Вид	Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, %
<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	0,62±0,02
<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	0,60±0,02
<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	0,56±0,01

Валидационная оценка методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. проводилась с использованием стандартного образца (I) и удельного показателя поглощения (II) мангиферина и проводили по следующим показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность [31].

Специфичность методики по соответствию максимумов поглощения стандартного образца мангиферина и подтверждается спектральными характеристиками *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (рисунок 27 и 28).

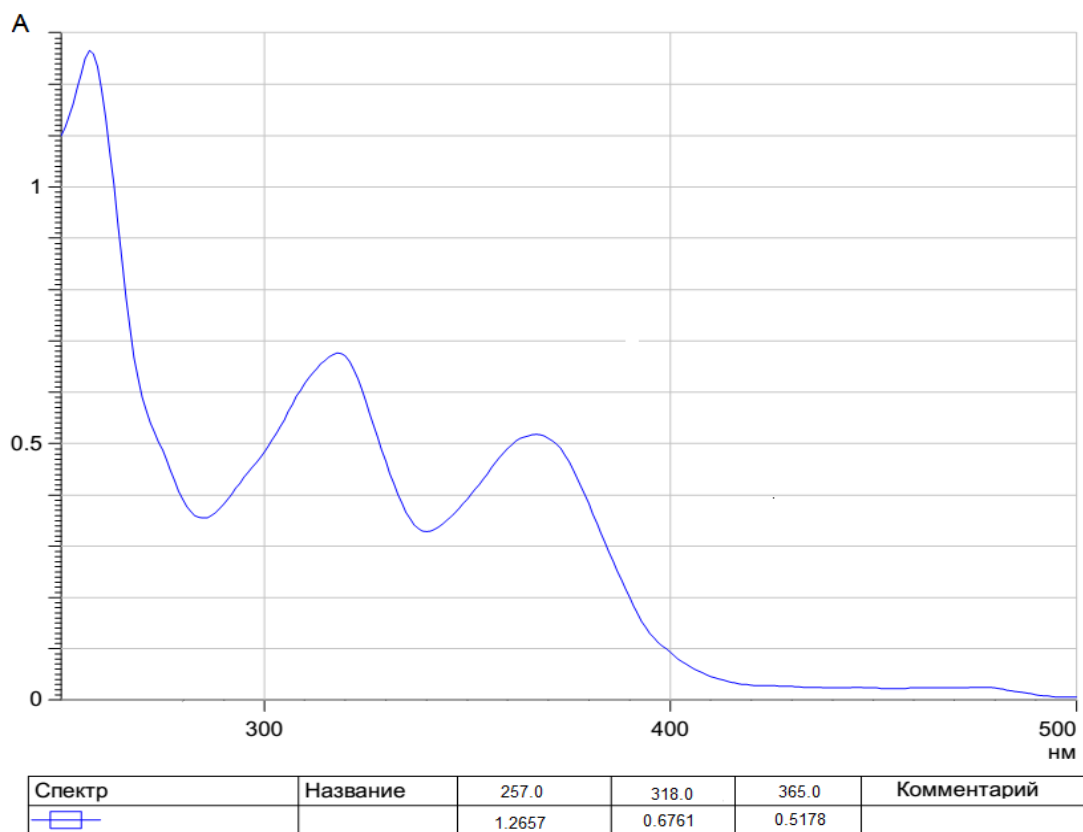


Рисунок 27 – УФ-спектр раствора стандартного образца мангиферина

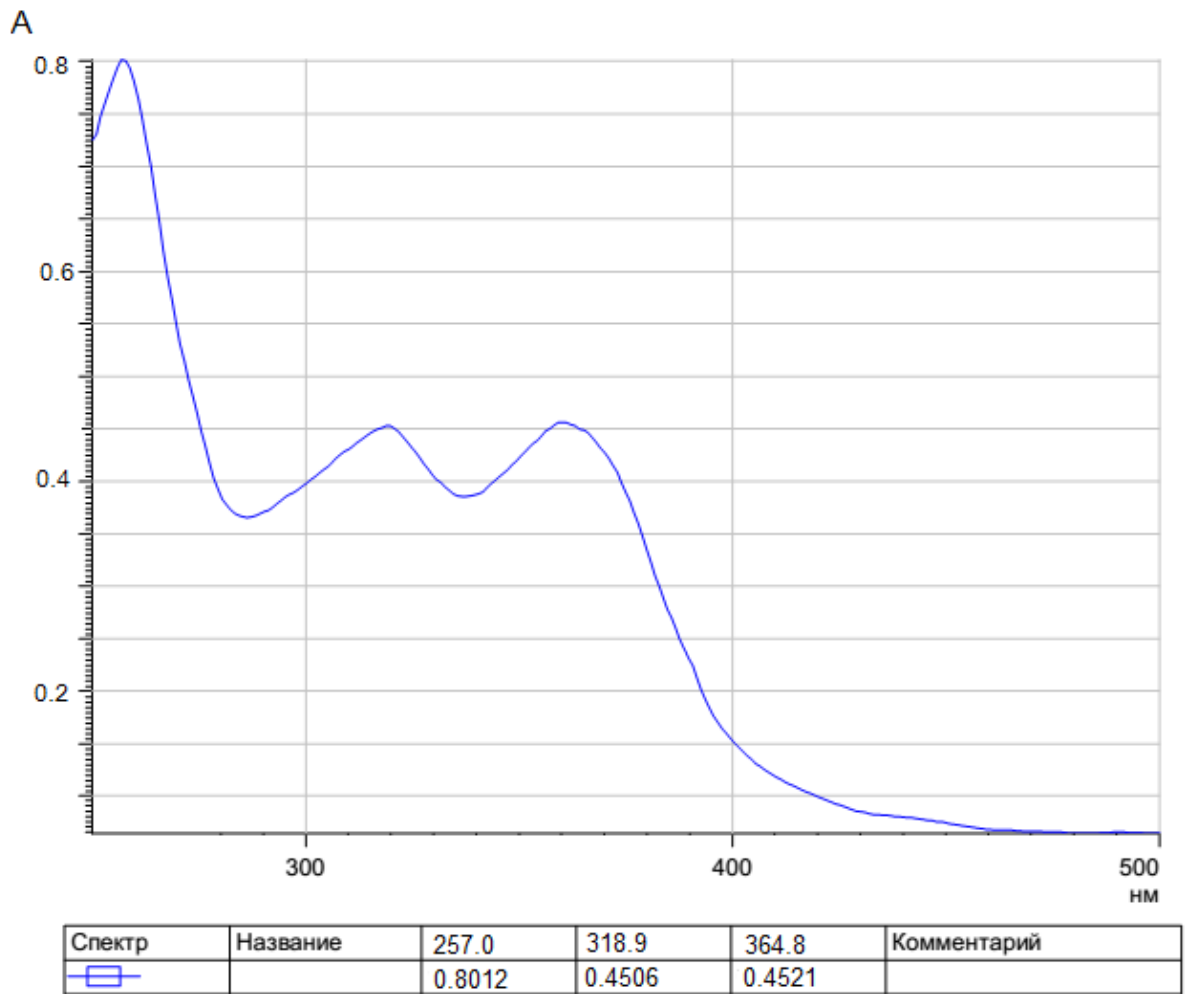


Рисунок 28 – УФ-спектр раствора, полученного в результате обработки, согласно разработанной методике, навески сырья *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

Линейность методики выражается подчинённостью зависимости измеряемой характеристики (величины оптической плотности) и определяемой величины (содержание суммы ксантонов) уравнению $y = bx + a$. Параметр a характеризует отрезок, отсекаемый на оси ординат, а коэффициент b характеризует наклон калибровочной кривой и является отражением чувствительности методики.

С помощью оценки калибровочного графика проводили определение линейности методики, представляющей зависимость величины оптической плотности от количества суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в 1 мл раствора, полученного после обработки сырья по предложенной методике.

Для построения калибровочного графика при приготовлении последнего разведения в методике использовали разные аликвоты раствора А: 2,0; 2,5; 3,0; 3,5;

4,0 мл. В каждом растворе была измерена оптическая плотность при длине волны 366 нм и по результатам эксперимента построен калибровочного график (таблица 19, рисунок 29).

Таблица 19 – Расчетные данные для построения калибровочного графика

Аликвота для получения исследуемого раствора, мл	Значение оптической плотности, A , (λ 366 нм)	Найдено суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, г/мл (рассчитано по A_0)	Найдено суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, г/мл (рассчитано по $A_{1\text{см}}^{1\%}$)
		I	II
4,0	0,7781	0,0002160	0,0002150
3,5	0,6012	0,0001724	0,0001669
3,0	0,4467	0,0001240	0,0001234
2,5	0,3278	0,0000910	0,0000906
2,0	0,2034	0,0000565	0,0000647

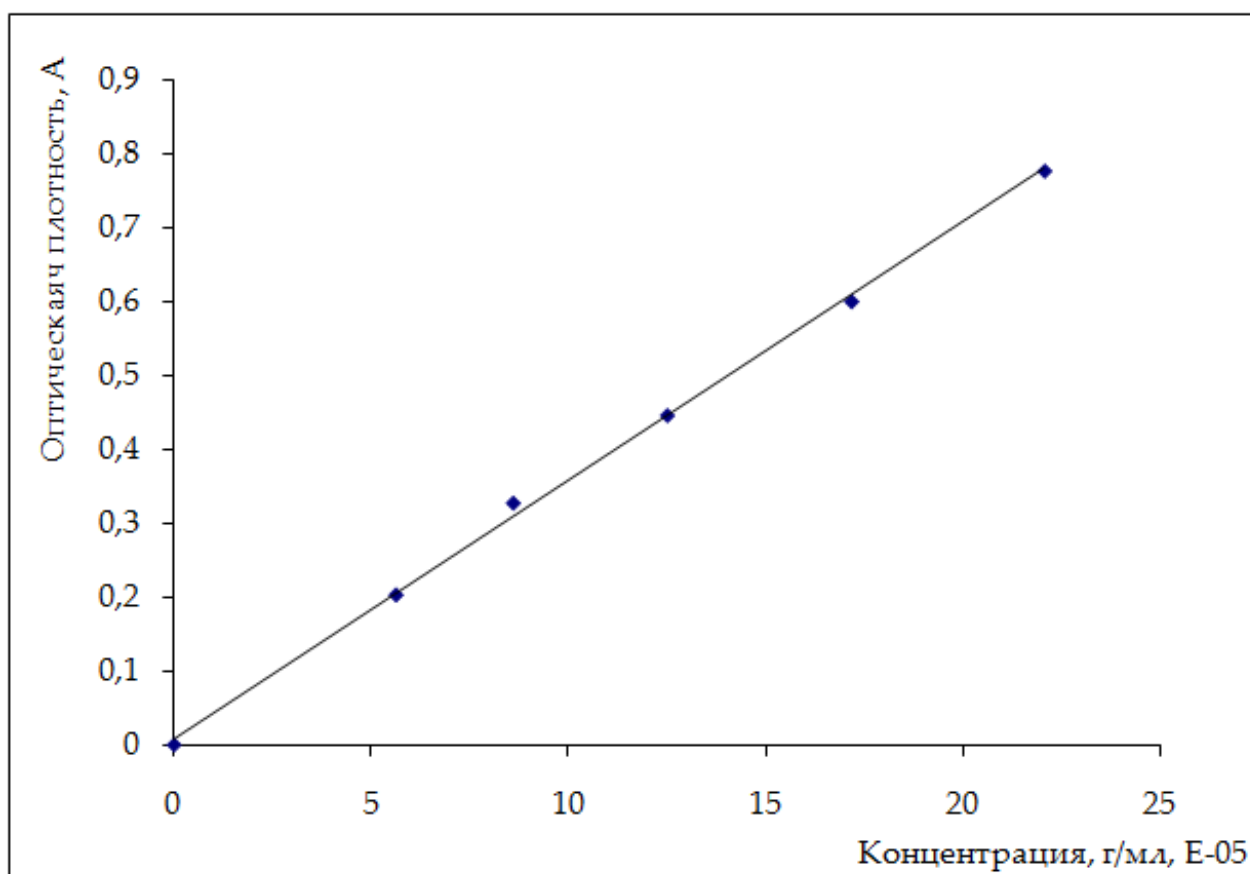


Рисунок 29 – Зависимость оптической плотности от содержания суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, рассчитанной с использованием удельного показателя поглощения мангиферина.

Уравнение линейной зависимости имеет вид:

$$y=0,035 \times x + 0,008$$

Рассчитанное значение коэффициента корреляции – 0,998.

Нами также построен калибровочный график по данным, полученным при расчете с использованием величины оптической плотности стандартного образца (рисунок 30).

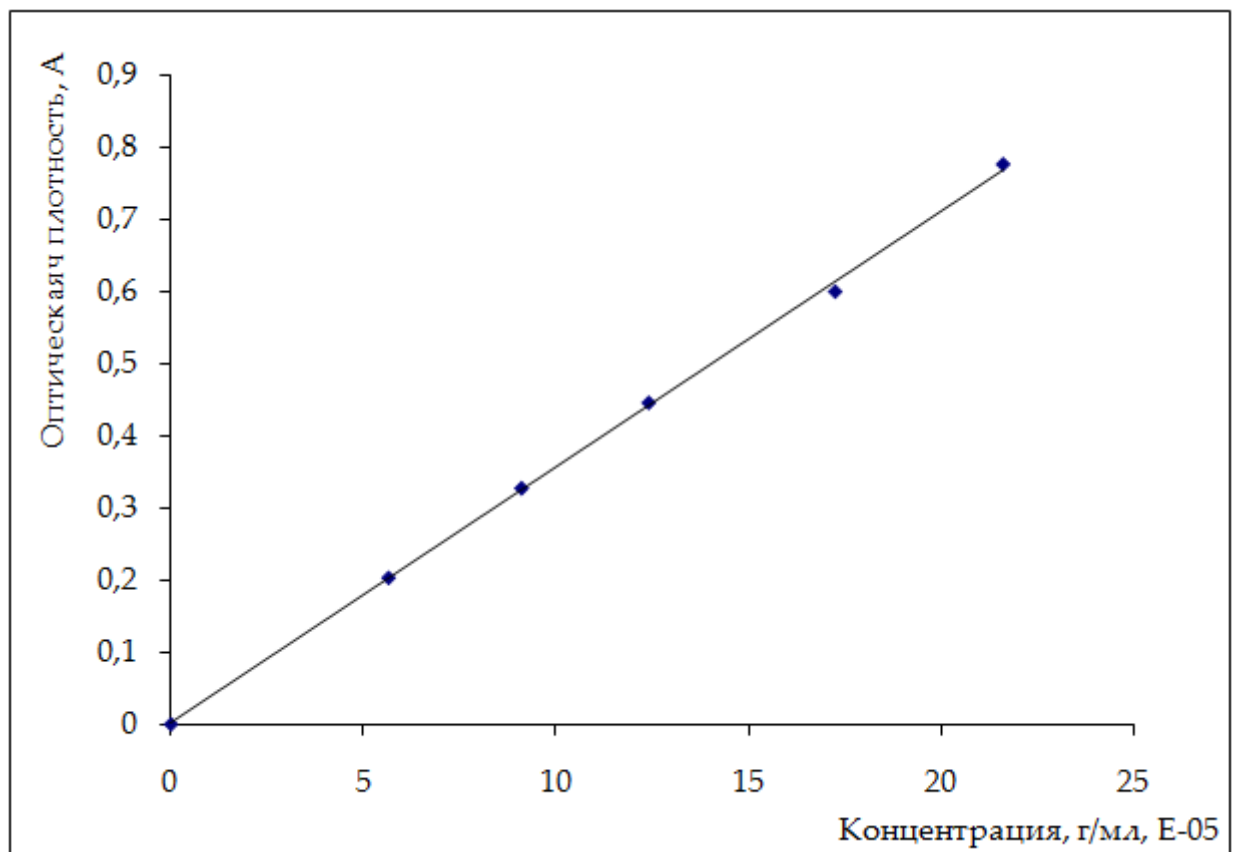


Рисунок 30 – Зависимость оптической плотности от содержания суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, рассчитанной с использованием стандартного образца мангиферина

Уравнение линейной зависимости имеет вид:

$$y=0,035 \times x + 0,001$$

Рассчитанное значение коэффициента корреляции – 0,999.

Изучение линейности методики показало, что оба варианта имеют коэффициент корреляции, который максимально приближен к 1, в связи с этим, можно сделать вывод о наличии линейной зависимости значений оптической

плотности от содержания суммы ксантонов в пересчете на мангиферин, рассчитанное с помощью удельного показателя поглощения мангиферина и по стандартному образцу мангиферина.

Для оценки правильности методики готовили извлечение с содержанием суммы ксантонов на верхнем пределе линейности методики 0,0002150 мг/мл, полученном из навески 1,0 г сырья и аликвоты 3 мл. Результаты представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Оценка правильности методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (исходное содержание 0,0002150 мг/мл (I), 0,0002160 мг/мл (II))

Разведение модельного раствора	Расчетное содержание суммы ксантонов, мг/мл		Найденное содержание суммы ксантонов, мг/мл		Открываемость, R,%		Метрологические характеристики	
	I	II	I	II	I	II	I	II
1: 0,5	0,0001440	0,0001433	0,0001387	0,0001473	96,32	102,79	$\bar{X} = 100,43$ $SD = 3,0592$	$\bar{X} = 100,85$ $SD = 2,3205$
			0,0001467	0,0001498	101,88	104,54		
			0,0001520	0,0001406	105,56	98,12		
1: 1	0,0001080	0,0001075	0,0001120	0,0001051	103,70	97,77	$RSD = 3,05\%$	$RSD = 2,30\%$
			0,0001067	0,0001089	98,80	101,30		
			0,0001093	0,0001075	101,20	100,00		
1: 2	0,0000720	0,0000717	0,0000707	0,0000739	98,19	103,07		
			0,0000727	0,0000712	100,97	99,30		
			0,0000700	0,0000718	97,22	100,14		
					100,43	100,85		

Для определения прецизионности методики определяли сумму ксантонов в пересчете на мангиферин в шести разных навесках сырья. По результатам, представленным в таблице 16, можно сделать вывод, что относительная погрешность для двух методик является приемлемой для лекарственного сырья (таблица 17).

Результаты валидационной оценки методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье *Hedysarum caucasicum* M.Vieb. приведены в таблице 21.

Таблица 21 – Валидационные характеристики методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в сырье копеечника кавказского

Валидационная характеристика		Сумма ксантонов (в пересчете на мангиферин)	
		I	II
Специфичность		Специфична	Специфична
Линейность	Уравнение регрессии	$y=0,035 \times x + 0,001$	$y=0,035 \times x + 0,008$
	Коэффициент корреляции	$r = 0,9983$	$r = 0,998$
Правильность		$RSD=3,05\%$	$RSD=2,30\%$
Прецизионность		$RSD=3,39\%$	$RSD=3,42\%$

Из данных результатов следует, что предложенная методика количественного определения суммы ксантонов на мангиферин в траве *Hedysarum caucasicum* M.Vieb. может быть валидирована и использована для оценки доброкачественности ЛРС «Копеечника кавказского трава», как дополнительного источника мангиферина.

4.3.2. Количественное определение мангиферина методом капиллярного электрофореза

Схема эксперимента данными методами включала анализ стандартного образца мангиферина (Sigma-Aldrich), построение калибровочного графика в

диапазоне концентраций для КЭ 0,05–0,5 мг/мл и анализ растительных извлечений, расчет количественного содержания мангиферина в траве исследуемых видов.

Построение калибровочного графика СО мангиферина. Точную навеску стандартного образца мангиферина (Sigma-Aldrich), около 0,05 г помещали в мерную колбу объемом 100 мл. Добавляли 80 мл спирта этилового 70%, после полного растворения стандарта и доводили до метки (раствор А).

Проводили измерение величины оптической плотности раствора А на спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне длин волн 200-500 нм. Для этого аликвоту объемом 1 мл помещали в две мерные колбы объемом 25 мл. Растворы доводили до метки в одной мерной колбе спиртом этиловым 70% и боратным буферным раствором 0,01 М во второй мерной колбе. Растворами сравнения служили 70% этиловый спирт в первом случае и 1 мл 70% этилового спирта, помещенный в мерную колбу объемом 25 мл и доведенный до метки боратным буферным раствором 0,01 М.

Наблюдали смещение максимума светопоглощения мангиферина с 365 нм на 383 нм в боратном буферном растворе, что может быть связано с образованием комплекса мангиферина с тетраборатом натрия.

Для построения калибровочного графика использовали раствор А с концентрациями:

- 0,5 мг/мл;
- 0,35 мг/мл;
- 0,25 мг/мл;
- 0,15 мг/мл;
- 0,05 мг/мл.

Для этого 1 мл, 0,7 мл, 0,5 мл, 0,3 мл и 0,1 мл, соответственно, раствора А помещали в пробирки Эппендорфа объемом 1 мл. Добавляли 0, 0,3, 0,5, 0,7 и 0,9 мл спирта этилового 70%. Растворы центрифугировали при 8000 об/мин в течение 5 минут.

Анализ на капиллярном электрофорезе проводили при напряжении +20 кВ, температуре в капилляре +20°C, детектирование проводили

спектрофотометрическим методом при длине волны 383 нм, время анализа составляло 10 минут. Предварительно капилляр промывали последовательно растворами кислоты хлористоводородной 1М и натрия гидроксида 1М. Промывку между растворами кислоты и щелочи, а также перед анализом проводили водой очищенной. Промывочные растворы и растворы электролита фильтровали через бумажный фильтр Владипор типа МФАС-Б-4 с диаметром мембраны 25 мм. Буферные растворы, как и испытуемые, центрифугировали при 8000 об/мин в течение 5 минут. Анализ каждого раствора стандартного образца мангиферина повторяли дважды. Результаты получали, обрабатывали и строили калибровочный график в программе «Эльфран» (версия 3.2.5) (рисунок 31).

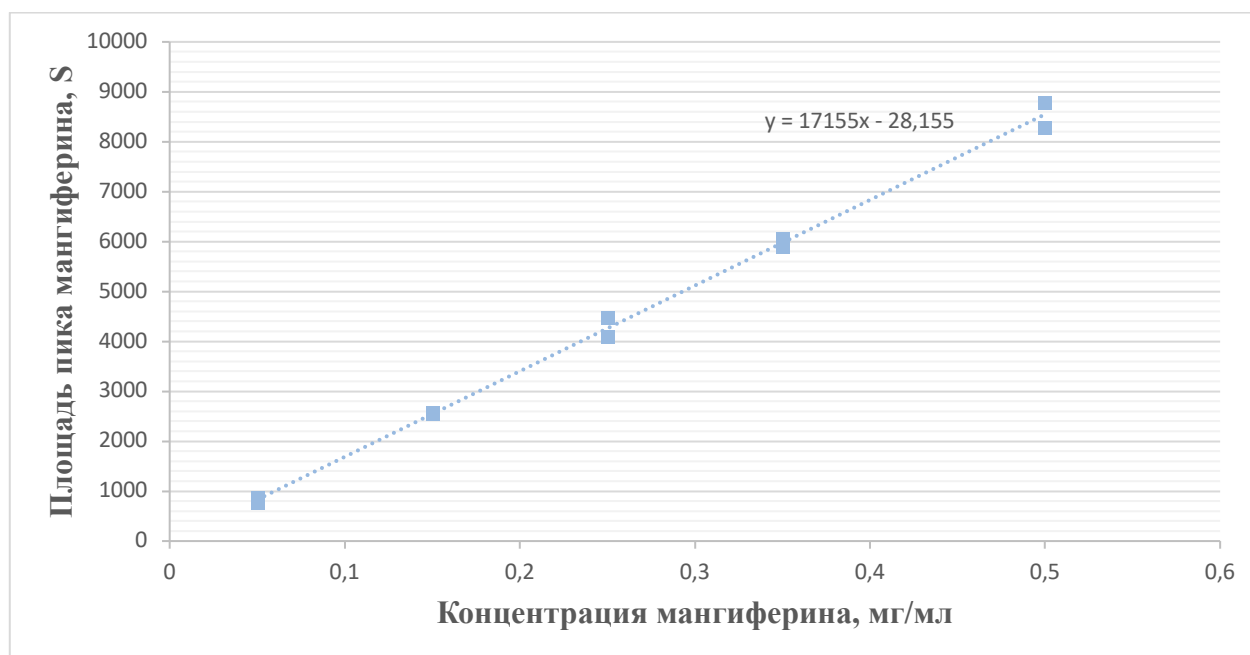


Рисунок 31 – Калибровочный график зависимости площади пика от концентрации мангиферина в растворе

Пробоподготовку испытуемых растворов из сырья проводили в соответствии с методикой УФ-спектрофотометрии, для чего помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл точную навеску сырья (около 1,0 г) измельченного до 2 мм, добавляли 40 мл спирта этилового 70% и нагревали в течение 30 мин и последовательно охлаждали. Водно-спиртовое извлечение декантировали и фильтровали через вату в колбу для отгонки вместимостью 250 мл. Экстракцию

сырья повторяли еще 2 раза тем же спиртом порциями по 40 мл, извлечения собирали в ту же колбу для отгонки. Полученное водно-спиртовое извлечение упаривали при температуре 80-85°C до водного остатка объемом около 50 мл, который, количественно с помощью 50 мл воды переносили в делительную воронку вместимостью 250 мл и обрабатывали хлороформом 3 раза порциями по 30 мл, каждый раз взбалтывали смесь в течение 2 мин (эмульсию и(или) осадок, при наличии, оставляют в делительной воронке). Хлороформные извлечения удаляли. При этом, оставшуюся фракцию, обрабатывали этилацетатом 4 раза по 20 мл, взбалтывая смесь в течение 2 мин (эмульсию, при ее образовании, оставляют в делительной воронке). Этилацетатные извлечения последовательно фильтровали с 2 г натрия сульфата безводного в колбу для отгонки вместимостью 250 мл, фильтр ополаскивали 10 мл этилацетата, извлечение при температуре 80-85°C до полного удаления органического растворителя. Остаток смешивают с 30 мл спирта этилового 70% и количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки. 1 мл раствора центрифугировали 5 мин при 8000 об/мин.

Содержание в сырье мангиферина (X, %) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{C \times 50 \times 100 \times 100}{1000 \times a_x \times V_x \times (100 - w)}$$

где C – концентрация, мг/мл;
 a_x - навеска сырья, г;
 V_x - аликвота, мл;
 w - влажность сырья, %.

На рисунках 32, 33, 34 представлены электрофореграммы извлечений видов рода *Hedysarum* L., а именно *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., произрастающих на территории Северного Кавказа.

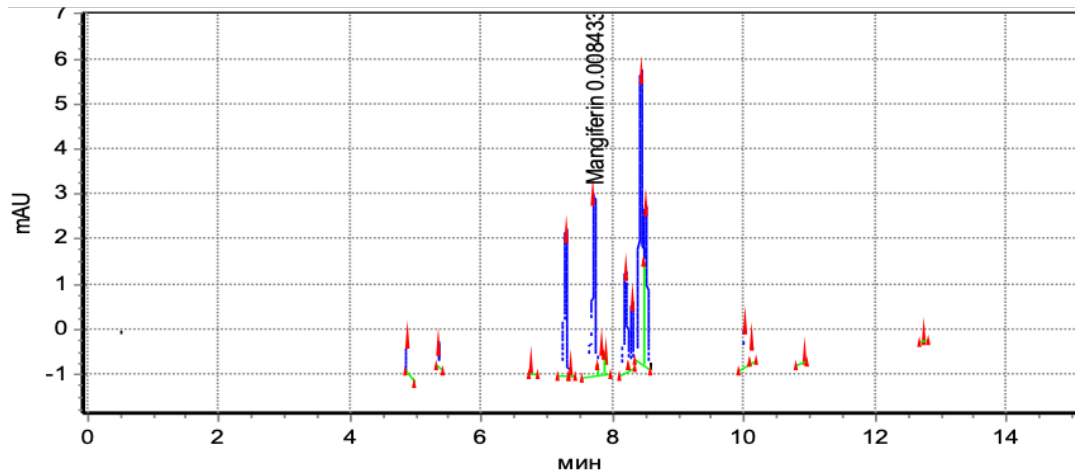


Рисунок 32 – Электрофореграмма извлечения *Hedysarum caucasicum* M. Bieb.

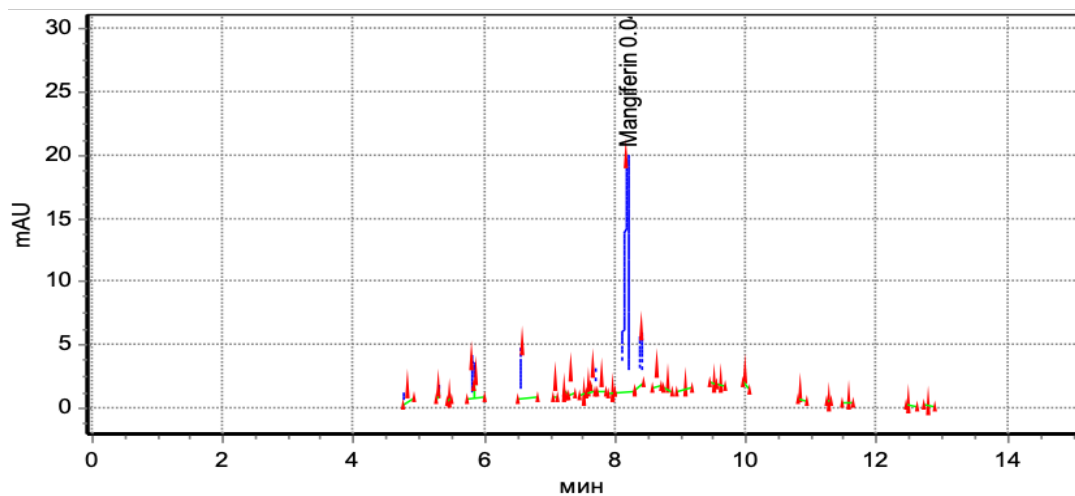


Рисунок 33 – Электрофореграмма извлечения *Hedysarum grandiflorum* Pall.

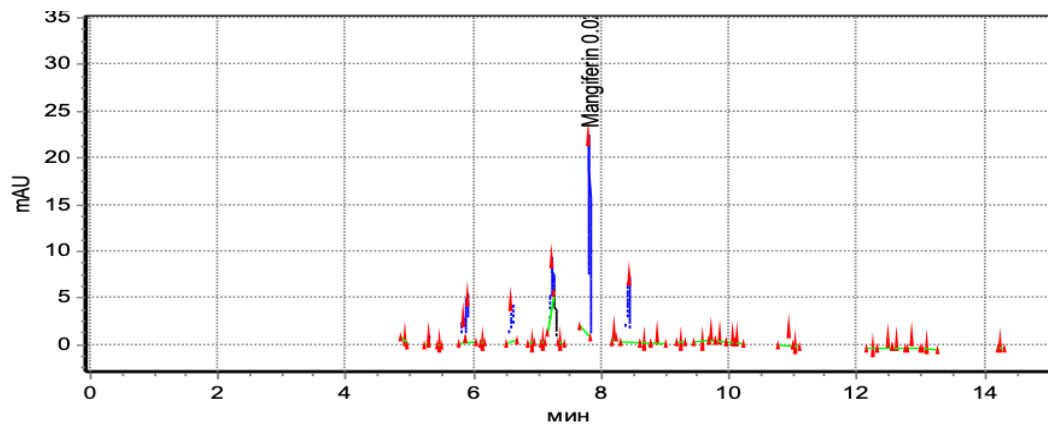


Рисунок 34 – Электрофореграмма извлечения *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.

В таблице 22 представлены результаты количественного определения мангиферина в исследуемых видах.

Таблица 22 – Содержание мангиферина в траве видов рода *Hedysarum* L.

Вид	n	f	\bar{X}	S_x	$S_{\bar{x}}$	$t(P, f)$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\epsilon}, \%$
<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	6	5	0,245	0,0061	0,0025	2,57	0,006	2,59
<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	6	5	0,144	0,0056	0,0023	2,57	0,006	4,13
<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	6	5	0,045	0,0013	0,0005	2,57	0,001	2,93

На основании полученных результатов эксперимента можно сделать вывод, что наибольшим содержанием мангиферина среди изученных видов рода *Hedysarum* L. обладает *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., что подтверждает предположение, основанное на молекулярно-генетических исследованиях, так как именно этот вид относится к секции *Obscura*, как и копеечник альпийский, используемый для получения мангиферина.

4.3.3. Количественное определение мангиферина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

УФ-спектр стандарта мангиферина имеет максимум в области 365 ± 2 нм, то эта область была использована нами для детектирования мангиферина в методе ВЭЖХ.

Стандартный раствор мангиферина. Около 0,0050 г (в пересчете на 100% вещество) мангиферина (USPRS; EPRS; Sigma) (точная навеска), помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяли в спирте этиловом 70% и доводили до метки. 1,0 мл раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в подвижной фазе. Фильтрацию проводили через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Полученные результаты представлены на рисунке 35.

Методика количественного определения мангиферина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии заключается в том, что в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл помещали точную навеску сырья (около 1,0 г.), измельченного до 2 мм, прибавляли 40 мл спирта этилового 70% и нагревали в течение 30 минут. Водно-спиртовое извлечение декантировали и фильтровали через вату в колбу для отгонки вместимостью 250 мл. Экстракцию

сырья повторяли еще 2 раза тем же спиртом порциями по 40 мл, извлечения собирали в ту же колбу для отгонки. Полученное водно-спиртовое извлечение упаривали при температуре 80-85°C до водного остатка объемом около 50 мл, который, количественно с помощью 50 мл воды переносили в делительную воронку вместимостью 250 мл, обрабатывали хлороформом 3 раза порциями по 30 мл, каждый раз взбалтывали смесь в течение 2 мин (эмульсию и (или) осадок, при наличии, оставляют в делительной воронке). Хлороформные извлечения удаляли. Оставшуюся фракцию обрабатывали этилацетатом 4 раза по 20 мл, каждый раз взбалтывая смесь в течение 2 мин (эмульсию, при ее образовании, оставляют в делительной воронке). Этилацетатные извлечения последовательно фильтровали в колбу для отгонки вместимостью 250 мл, фильтр ополаскивали 10 мл этилацетата. Этилацетатное извлечение упаривали при температуре 80-85°C до полного удаления органического растворителя. Остаток смешивали с 30 мл спирта этилового 70% и количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки (раствор А). 2,0 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в подвижной фазе. Фильтрацию проводили через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

По 20 мкл испытуемого раствора, стандартного раствора мангиферина вводили в хроматограф с помощью инжектора с дозирующей петлей и последовательно хроматографировали, получая не менее трех хроматограмм каждого из растворов (рисунок 36, 37).

Содержание в сырье мангиферина (X) в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 1 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot a \cdot 2 \cdot 25 \cdot 10 \cdot 100 \cdot (100 - w)} = \frac{S_x \cdot a_0 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot a \cdot (100 - w)},$$

где S – среднее арифметическое значение площади пика мангиферина на хроматограммах испытуемого раствора Б;

S₀ – среднее арифметическое значение площади пика мангиферина на хроматограммах стандартного раствора;

a₀ – навеска стандартного образца мангиферина, в граммах;

a – навеска препарата в граммах;

P – содержание основного вещества в процентах;

w – потери в массе при высушивании, в процентах.

Разработанная методика количественного определения мангиферина в траве исследуемого вида учитывает основные физико-химические свойства ксантонов, характеризуется воспроизводимостью, высокой точностью, позволяет проводить как скрининговую оценку различных сырьевых объектов, содержащих производные мангиферина.

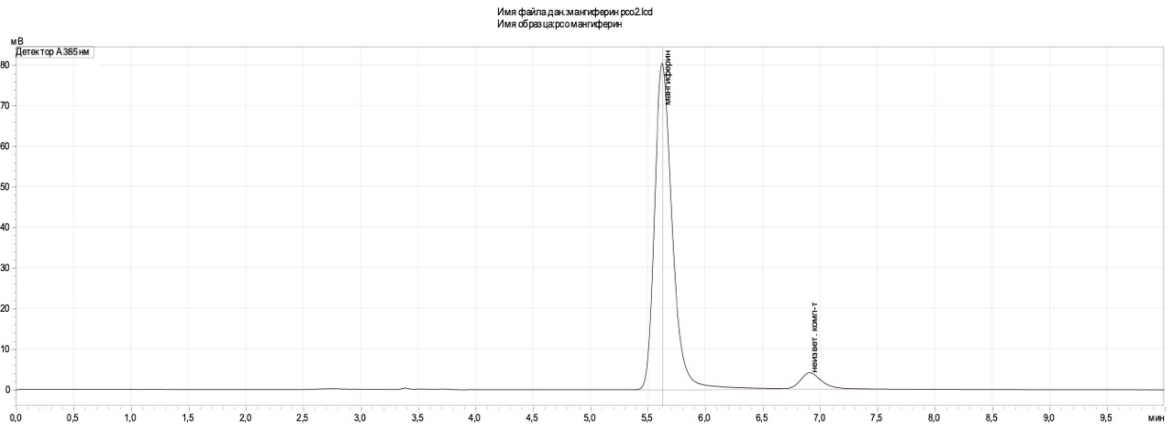


Рисунок 35 – Хроматограмма раствора СО мангиферина

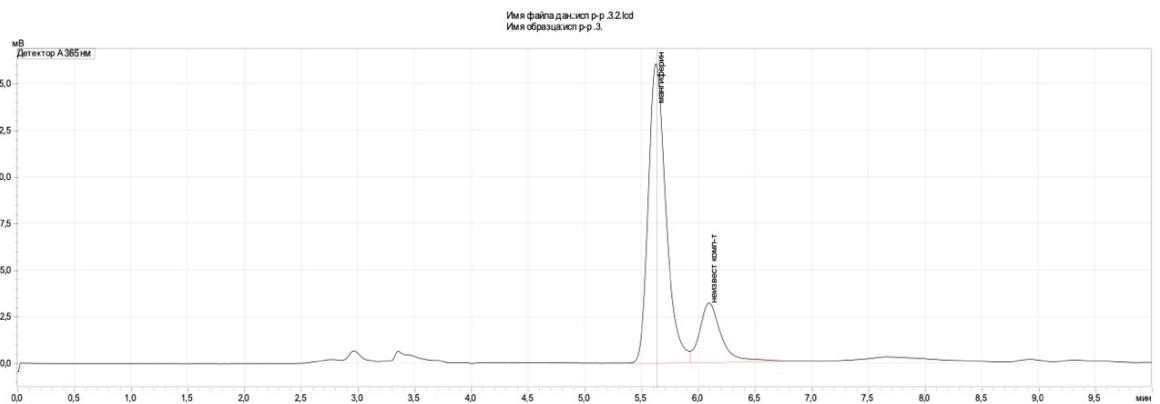


Рисунок 36 – Хроматограмма испытуемого раствора *Hedysarum caucasicum* М.Вieb. (образец 1)

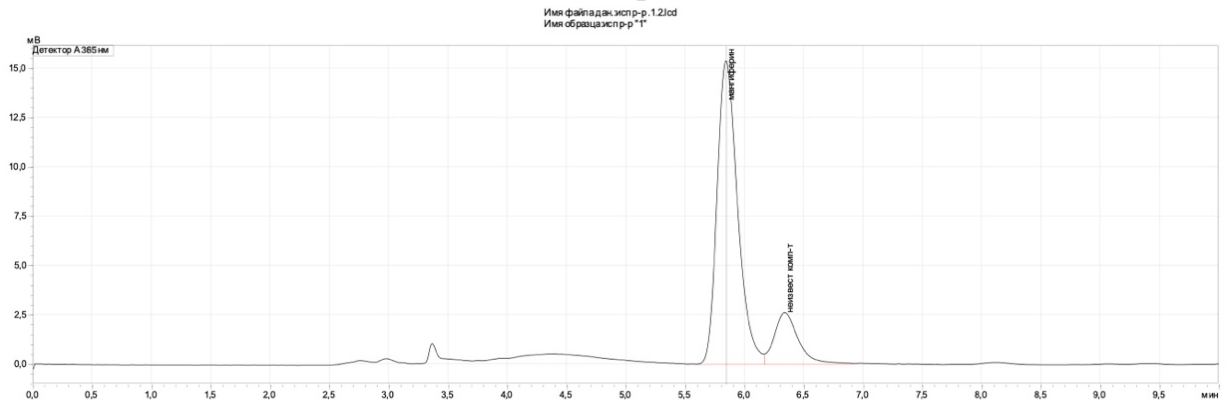


Рисунок 37 – Хроматограмма испытуемого раствора *Hedysarum caucasicum* M.Vieb. (образец 2)

В таблице 23 представлены результаты количественного определения мангиферина в исследуемых объектах.

Таблица 23 – Результаты количественного определения мангиферина (%) в образце 1 (1) и образце 2 (2), (n=6)

№	f	x_i	\bar{x}	s^2	$s_{\bar{x}}$	P, %	t (P, f)	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	5	0,148	0,15	0,000016	0,001621	90	2,015	0,003	2,21
		0,146							
		0,143							
		0,148							
		0,155							
		0,147							
2	5	0,138	0,13	0,000034	0,005888	90	2,015	0,005	3,62
		0,127							
		0,134							
		0,126							
		0,140							
		0,137							

В результате установлено, что наибольшее содержание мангиферина в траве *Hedysarum caucasicum* M.Vieb. и составило $0,148 \pm 0,003\%$. Разработанная методика количественного определения мангиферина методом ВЭЖХ, характеризуется хорошей воспроизводимостью и апробированы на сырьевых объектах. Полученные результаты могут быть использованы при составлении нормативной документации на растительное сырье. Разработанная методика отличается хорошей воспроизводимостью в сочетании с простотой исполнения, относительное стандартное отклонение (ε) в анализе всех объектов не превышает $4,0\%$, что позволяет применять ее в анализе различных видов сырья копеечника.

Проведя сравнительную оценку трех используемых методов количественного определения мангиферина, мы предлагаем использовать спектрофотометрию как основной, более доступный метод для включения в нормативную документацию, а ВЭЖХ и капиллярный электрофорез – для дополнительной высокоточной оценки.

4.4. Качественный анализ сопутствующих биологически активных веществ

Кроме основной группы биологически активных веществ – ксантонов, нами изучены сопутствующие компоненты, которые могут оказать комплексное фармакологическое действие при дальнейшем создании суммарных фитопрепаратов. Проведено сравнительное изучение химического состава *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., произрастающих на территории Северного Кавказа. Методики качественных реакций представлены в главе 2 (п. 2.4.1). Результаты исследования представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Качественный анализ БАВ видов рода *Hedysarum* L.

Группа БАВ	Качественная реакция	Ожидаемый аналитический эффект	Результат реакции	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb.	<i>H. grandiflorum</i> Pall.	<i>H. daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.
Полисахариды	Реакция осаждения этиловым спиртом 95%	Помутнение, хлопьевидные сгустки при стоянии образуются осадок	Появление аморфного, хлопьевидного осадка	+	+	+
Дубильные вещества	Реакция с раствором железоммонийных квасцов	Черно-зеленое окрашивание или осадок	Появление черно-зеленого окрашивания (конденсированные дубильные вещества)	+	+	+
	Реакция с раствором бромной воды 0,5%	Осадок	Выпадение осадка	+	+	+
	реакция Стиасни	Синее или фиолетовое окрашивание	Появление сине-фиолетового окрашивания	+	+	+
Тритерпеновые соединения	1 мл раствора ванилина в серной кислоте	Образование окрашивания красновато-коричневого цвета в виде кольца	Наблюдали окрашивание красновато-коричневого цвета в виде кольца.	+	+	+
Флавоноиды	Цианидиновая проба	Розовое, красное или красно-оранжевое окрашивание	Наблюдали розово-красное окрашивание раствора (флавоны и флавонолы)	+	+	+
	С раствором свинца ацетата	Желтоватый осадок	Появлялся осадок желтого цвета	+	+	+
	С реактивом Вильсона	Ярко-желтое окрашивание	Появлялся ярко-желтый цвет	+	+	+
	С раствором аммиака	Темно-бурое окрашивание	Появлялся темно-бурый цвет	+	+	+
Лейкоантоцианы	Реакция с хлористоводородной кислотой концентрированной	Красное окрашивание	Наблюдали красное окрашивание	+	+	+
Полифенольные соединения	Реакция с 1% спиртовым раствором железа хлорида	Зеленое окрашивание	Наблюдали зеленое окрашивание	+	+	+
Сапонины	Реакция пенообразования	Образование пены	Наблюдали образование пены при встряхивании растворов	+	+	+

В результате проведения качественных и гистохимических реакций были обнаружены следующие группы БАВ: дубильные вещества, флавоноиды, сапонины, полисахариды, лейкоантоцианы, тритерпеновые соединения и полифенольные соединения.

4.5. Количественное определение дубильных веществ

Количественный анализ (глава 2, раздел 2.4.2) показал, что в траве *Hedysarum caucasicum* M.Vieb. содержание дубильных веществ составило $5,43 \pm 0,15\%$.

4.6. Изучение аминокислотного состава

Аминокислотный анализ травы трех видов рода *Hedysarum L.*: копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Vieb), копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.), копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Voiss.) проведен, на базе ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» по межгосударственному стандарту ГОСТ 32195 – 2013 (ISO 13903:2005). Для определения свободных форм аминокислот высушенное и измельченное сырье экстрагировали разбавленной кислотой хлористоводородной. Экстрагированные вместе с аминокислотами азотистые макромолекулы осаждали кислотой сульфосалициловой и отфильтровывали. Фильтрат доводили до значения 2,20 ед. рН с использованием раствора натрия гидроксида. Метод основан на ионообменной хроматографии, когда получают окрашенные производные аминокислот с нингидрином и фиксируют их содержание при длине волны 440 и 570 нм на аминокислотном анализаторе ААА-400. Для определения содержания суммы свободных и связанных аминокислот осуществляли окислением пробы сырья смесью надмуравьиной кислоты с фенолом, избыточный окислитель разлагается дисульфидом натрия. Далее пробы подвергали гидролизу смесью хлористоводородной кислоты для выделения связанных аминокислот [30].

Сравнительный аминокислотный состав трех изученных образцов видов рода *Hedysarum L.*, произрастающих на территории Северного Кавказа, показал, что в

значительных количествах в траве изученных видов обнаружены такие аминокислоты, как аспарагиновая и глутаминовая, а также пролин, лейцин и фенилаланин. Результаты сравнительного анализа аминокислотного состава представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Сравнительный анализ аминокислотного состава в трех образцах вида рода *Hedysarum L.*, произрастающих на территории Северного Кавказа, %

Аминокислоты		Наименование вида		
Название	Строение	№1	№2	№3
Моноаминомонокарбоновые кислоты				
Аланин	α -аминопропионовая	0,67	0,65	0,63
Валин*	α -аминоизовалериановая	0,68	0,74	0,71
Глицин	α -аминоуксусная	0,55	0,58	0,57
Изолейцин*	α -амино- β -этил- β -метилпропионовая	0,48	0,58	0,54
Лейцин*	α -аминоизокапроновая	0,90	0,89	0,86
Метионин*	α -амино- γ -метилтиол-н-масляная	0,04	0,11	0,10
Серин	α -амино- β -оксипропионовая	0,62	0,66	0,60
Тирозин	α -амино- β -оксифенилпропионовая	0,52	0,63	0,54
Треонин*	α -амино- β -оксимасляная	0,54	0,51	0,50
Фенилаланин*	α -амино- β -фенилпропионовая	0,62	0,63	0,58
Моноаминодикарбоновые кислоты				
Аспарагиновая	α -аминоянтарная	1,86	2,68	1,84
Глутаминовая	α -аминоглутаровая	1,33	1,31	1,29
Диаминомонокарбоновые кислоты				
Аргинин	α -амино- σ -гуанидин-н-валериановая	0,55	0,56	0,56
Лизин*	α, ϵ -аминокапроновая	0,74	0,73	0,72
Гетероциклические соединения				
Гистиидин	α -амино- β -имидазол-пропионовая	0,33	0,42	0,35
Пролин	пирролидин- α -карбоновая	0,83	1,39	1,19
Сумма аминокислот		11,26	13,07	11,58
В т.ч. незаменимые		4,00	4,19	4,01

*примечание: №1 – *Hedysarum caucasicum M.Bieb.*; №2 – *Hedysarum grandiflorum Pall.*; №3 – *Hedysarum daghestanicum Rupr. ex Boiss.*

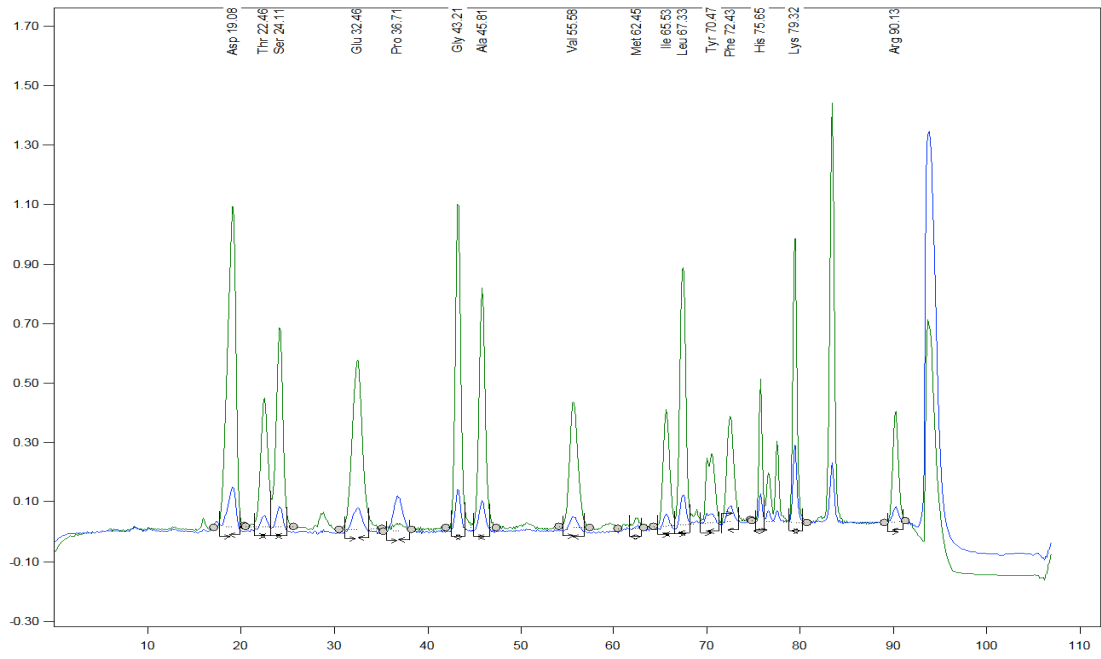


Рисунок 38 – Аминограмма травы копеечника кавказского
(*Hedysarum caucasicum* M. Bieb)

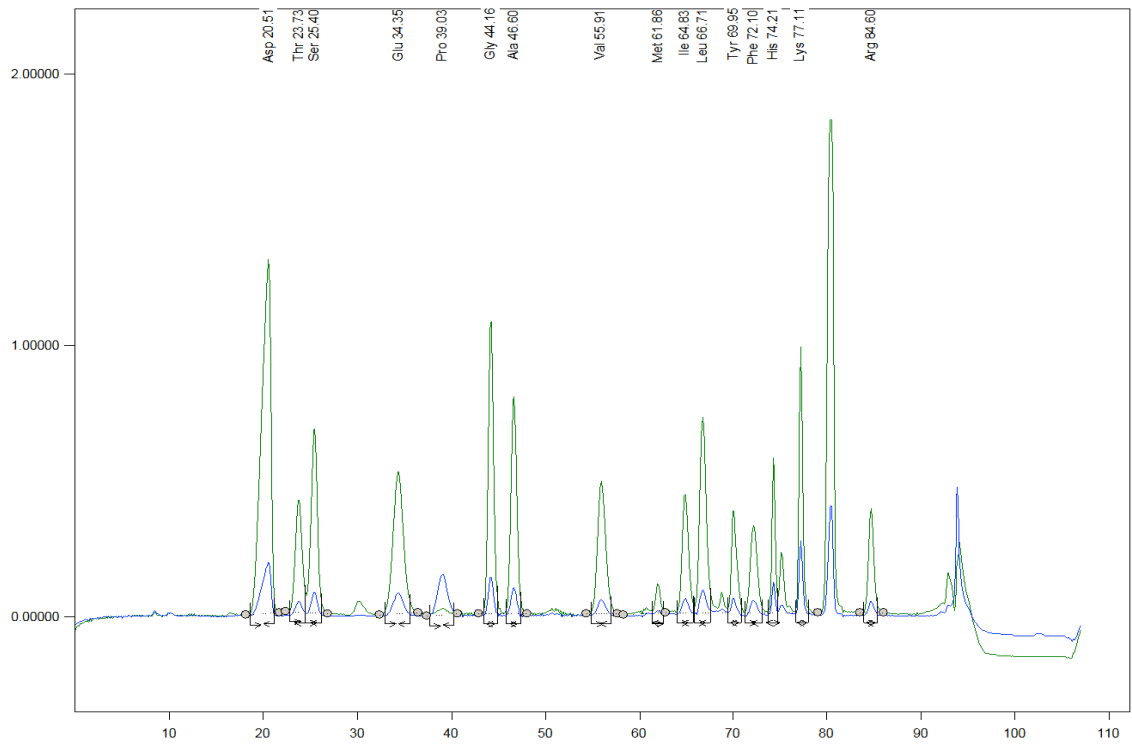


Рисунок 39 – Аминограмма травы копеечника крупноцветкового
(*Hedysarum grandiflorum* Pall.)

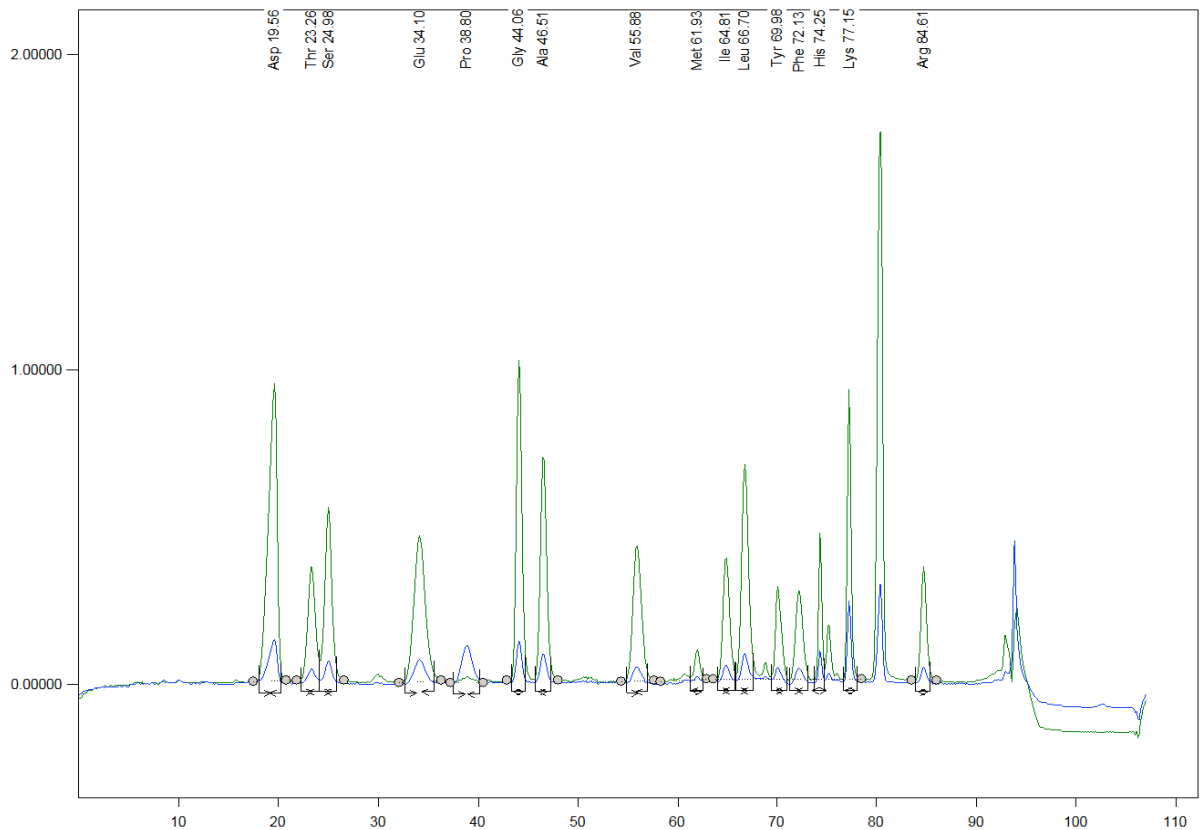


Рисунок 40 – Аминограмма травы копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.)

Изучение аминокислотного состава при проведении комплексного фармакогностического анализа данных видов рода *Hedysarum* L. является одним из обязательных направлений исследований, так как аминокислоты участвуют в биогенезе многих биологически активных соединений, в том числе ксантонов. Известно, что основными компонентами биосинтеза ксантонов являются ацетил-КоА, мевалоновая и шикимовая кислоты, из которых синтезируется в дальнейшем фенилаланин.

Полученные результаты исследования могут в дальнейшем использоваться при составлении комплексной метаболомной оценки ЛРС видов рода *Hedysarum* L.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4

1. Проведено хроматографическое исследование трех видов *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Voiss. Во всех объектах обнаружено присутствие ксантонового гликозида мангиферина методом ТСХ.

2. Методом УФ-спектрофотометрии установлено количественное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в исследуемых видах. Наибольшим содержанием отличается трава *Hedysarum caucasicum* M.Bieb (0,62%).

3. Определено содержание мангиферина методом капиллярного электрофореза трех видов рода *Hedysarum* L., содержание составило *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. – $0,25 \pm 0,006\%$; *Hedysarum grandiflorum* Pall. – $0,14 \pm 0,006\%$; *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Voiss. – $0,045 \pm 0,001\%$.

4. Установлено содержание мангиферина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., которое составило $0,15 \pm 0,003\%$. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования надземной части копеечника кавказского, что позволяет рассматривать данный вид в качестве дополнительного сырьевого источника мангиферина.

5. Разработана методика количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии с использованием величины оптической плотности стандартного образца мангиферина (I) и величины удельного показателя поглощения мангиферина (II), установленной нами экспериментально.

6. Проведена валидация методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в надземной части *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.; на основании полученных данных установлено, что предложенная

методика является высокочувствительной, воспроизводимой и пригодна для использования в аналитической лаборатории.

7. Изучен аминокислотный состав в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. В значительных количествах в надземных органах изученных видов обнаружены такие аминокислоты, как аспарагиновая (1,84-2,68%) и глутаминовая кислоты (1,29-1,33%), а также пролин (0,83-1,39%), лейцин (0,86-0,90%) и фенилаланин (0,58-0,63%). Данные исследования представляют интерес в связи с тем, что фенилаланин и пролин являются компонентами биосинтеза ксантонов, что может быть использовано в дальнейшем при составлении комплексной метаболомной характеристики растительного сырья видов рода *Hedysarum* L.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦИИ И НОРМ КАЧЕСТВА ТРАВЫ КОПЕЕЧНИКА КАВКАЗСКОГО

На основании проведённых морфолого-анатомических и фитохимических исследований определены показатели подлинности и качества травы копеечника кавказского.

5.1. Показатели подлинности травы копеечника кавказского

5.1.1. Внешние признаки

Цельное сырьё. Цельные или измельчённые фрагменты побегов, черешков, листовых пластинок, а также элементов соцветия. Листья непарно-перистосложные, из 7–12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке. Соцветия кистевидные на длинных ножках, в 1,5-2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Край листа цельный, жилкование перисто-сетчатое. Листья с верхней и нижней стороны голые. Цвет с обеих сторон листьев светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, венчик фиолетовый, запах слабый, вкус водного извлечения горьковатый (рисунок 41).

Измельчённое сырьё. Кусочки стеблей, листьев различной формы, соцветий, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Цвет светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, запах слабый, вкус водного извлечения горьковатый (рисунок 41).

Порошок. Порошок светло-зелёного цвета, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, запах слабый, вкус водного извлечения горьковатый (рисунок 41).

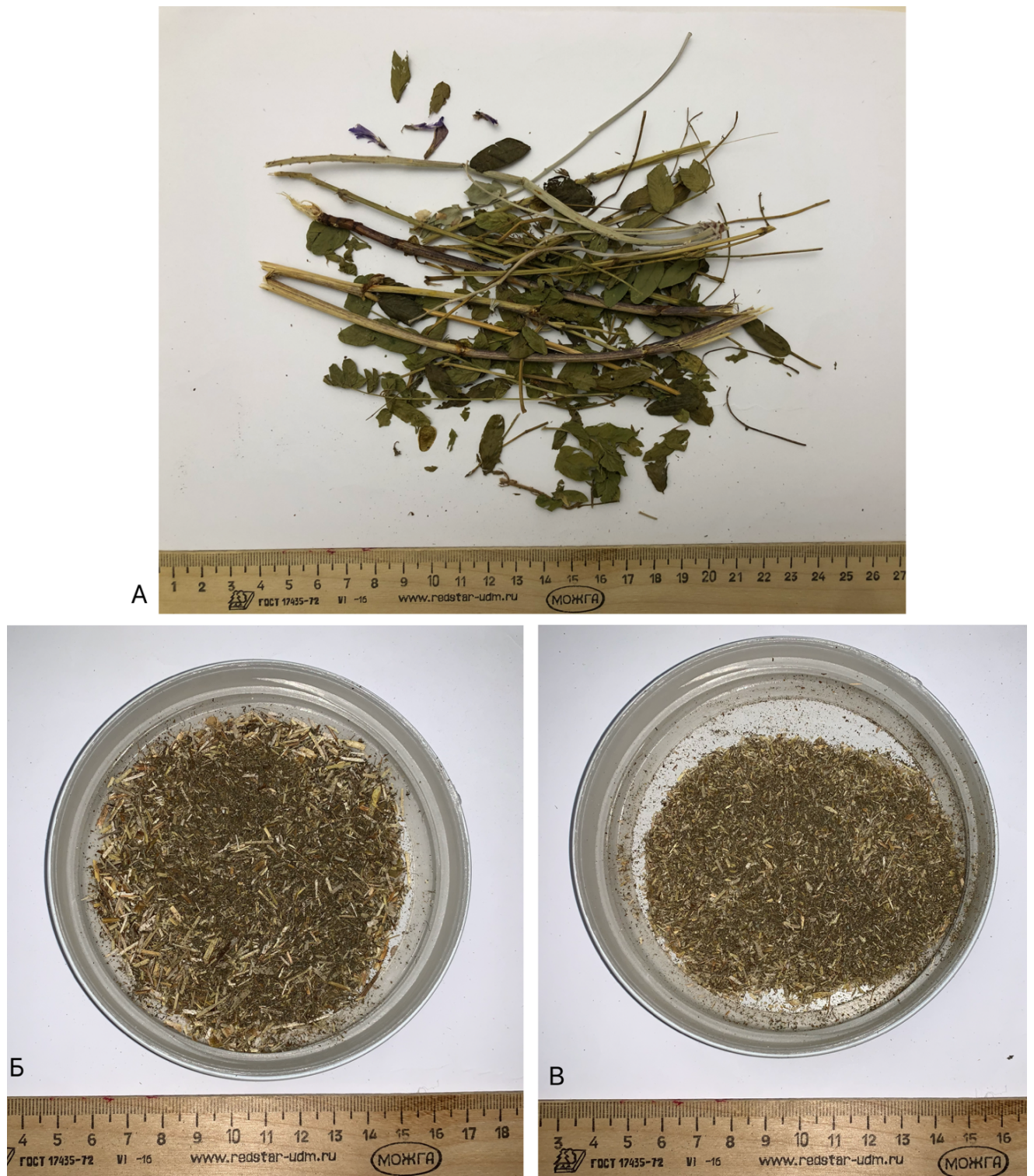


Рисунок 41 – Копеечника кавказского трава:

А - цельное сырье; Б - измельчённое сырье (проходящее сквозь сито размером 5мм); В - порошок (проходящее сквозь сито размером 2 мм)

5.1.2. Микроскопические признаки

Основными диагностическими признаками листа являются извилистостенные клетки эпидермиса, устьичные аппараты аномоцитного и

анизоцитного типа, отсутствие трихом. Характерно наличие вместилищ и клеток-идиобластов с оранжевым содержимым, проводящая система пучкового типа, наличие 3-4 слоев клеток колленхимы, склеренхима развита над проводящими пучками.

5.1.3. Подлинность

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов

Приготовление стандартного образца (СО) мангиферина. Около 0,01 г (точная навеска) СО мангиферина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл спирта этилового 70% и доводят до метки. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки.

На линию старта хроматографической пластинки наносят микропипеткой по 0,02 мл испытуемого раствора и раствора СО мангиферина.

Пластинку с пробой помещают в камеру, насыщенную парами смеси: н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5); хлороформ-метанол-вода (13:7:2); уксусная кислота 15%, в течение 30 мин, и хроматографируют восходящим способом. При прохождении фронта растворителей 10 см, пластинку вынимают из камеры, высушивают на воздухе в течение 5 минут. Пятна мангиферина детектировали реактивами: спиртовой раствор алюминия хлорида 1 %, раствор железа (III) хлорида 2 %, а также парами аммиака и УФ-облучением при длине волны 360 нм. На хроматограмме наблюдается зона адсорбции бледно-жёлтого цвета в дневном свете, в УФ-свете окраска меняется на бледно-зеленую, соответствующую зоне адсорбции СО мангиферина. На хроматограмме допускается наличие других зон адсорбции.

5.2. Испытания

Количественное определение. *Цельное сырьё, измельчённое сырьё, порошок:* суммы ксантонов в пересчёте на мангиферин – не менее 0,5 %.

Приготовление растворов

Приготовление СО мангиферина. Около 0,01 г (точная навеска) СО мангиферина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл спирта этилового 70%, затем объем доводят тем же спиртом до метки и перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки спиртом 70% и перемешивают. *Величины удельного показателя поглощения мангиферина* равна 325.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл спирта этилового 70% и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Водно-спиртовое извлечение декантируют и фильтруют через вату в колбу для отгонки вместимостью 250 мл. Экстракцию повторяют 2 раза. Полученное водно-спиртовое извлечение упаривают при температуре 80-85°C до водного остатка объемом около 50 мл, который, количественно с помощью 50 мл воды очищенной переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл, обрабатывают хлороформом 3 раза порциями по 30 мл. Хлороформные извлечения удаляют.

Оставшуюся фракцию обрабатывают этилацетатом 4 раза по 20 мл. Этилацетатные извлечения последовательно фильтруют в колбу для отгонки вместимостью 250 мл, фильтр ополаскивают 10 мл этилацетата. Извлечение упаривают при температуре 80-85°C до полного удаления органического растворителя. Остаток смешивают с 30 мл спирта этилового 70% и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят до метки (раствор А).

3,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30% и объем доводят до метки спиртом этиловым 70% (раствор Б). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 365 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 70%.

Содержание в сырье суммы ксантонов в пересчете на мангиферин (X, %) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_x \times 50 \times 25 \times 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \times a_x \times 3 \times (100 - w)}$$

где A_x – величина оптической плотности в испытуемом растворе;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель мангиферина, 325,1;

a_x – навеска сырья, г;

w – влажность сырья, %.

5.3. Определение некоторых показателей качества видов рода копеечник

Были установлены такие показатели доброкачественности травы *Hedysarum caucasicum* M.Vieb. как влажность, общая зола, а также зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.

Определение влажности травы копеечника кавказского проведены по общей фармакопейной статье ОФС.1.5.3.0007.15 ГФ РФ. Полученные результаты представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Потеря в массе при высушивании травы копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Vieb.)

Объект, метрологические характеристики	1 партия	2 партия	3 партия	4 партия	5 партия	6 партия
Копеечник кавказский	8,50±0,22	8,37±0,12	9,16±0,22	7,93±0,21	7,51±0,21	7,23±0,15
N	6	6	6	6	6	6
F	5	5	5	5	5	5
\bar{X}	8,50	8,37	9,16	7,93	7,51	7,23
S_x	0,2117	0,1149	0,2137	0,2043	0,1987	0,1443
$S_{\bar{x}}$	0,0864	0,0469	0,0873	0,0834	0,0811	0,0589
$t(P, f)$	2,57	2,57	2,572	2,57	2,57	2,57
$\Delta\bar{x}$	0,222	0,121	0,224	0,214	0,208	0,151
$\bar{\varepsilon}$, %	2,61	1,44	2,45	2,70	2,78	2,09

Определение общей золы травы копеечника кавказского по общей фармакопейной статье ОФС.1.2.2.2.0013.15, ГФ РФ. Результаты представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Содержание общей золы в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.)

Объект, метрологические характеристики	1 партия	2 партия	3 партия	4 партия	5 партия	6 партия
Копеечник кавказский	3,97±0,11	4,58±0,14	4,94±0,22	4,42±0,13	5,80±0,17	3,86±0,13
N	6	6	6	6	6	6
F	5	5	5	5	5	5
\bar{X}	3,97	4,58	4,94	4,42	5,80	3,86
S_x	0,1004	0,1295	0,2068	0,1230	0,1644	0,1253
$S_{\bar{x}}$	0,0410	0,0529	0,0844	0,0502	0,0671	0,0512
$t(P, f)$	2,57	2,57	2,572	2,57	2,57	2,57
$\Delta\bar{x}$	0,105	0,136	0,217	0,129	0,172	0,132
$\bar{\epsilon}, \%$	2,66	2,97	4,40	2,92	2,98	3,40

Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте выполняли по общей фармакопейной статье ГФ РФ. Полученные результаты представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте 10% в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.)

Объект, метрологические характеристики	1 партия	2 партия	3 партия	4 партия	5 партия	6 партия
Копеечник кавказский	3,97±0,11	4,58±0,14	4,94±0,22	4,42±0,13	5,80±0,17	3,86±0,13
n	6	6	6	6	6	6
f	5	5	5	5	5	5
\bar{X}	0,30	0,78	0,99	0,87	0,412	0,20
S_x	0,0105	0,0331	0,0205	0,0167	0,0142	0,0147
$S_{\bar{x}}$	0,0043	0,014	0,0084	0,0068	0,0058	0,0060
$t(P, f)$	2,57	2,57	2,572	2,57	2,57	2,57
$\Delta\bar{x}$	0,011	0,035	0,022	0,018	0,015	0,015
$\bar{\epsilon}, \%$	3,73	4,45	2,17	1,99	3,63	7,66

5.4 Количественный спектральный анализ микро- и макроэлементного состава копеечника кавказского

Проведен спектральный анализ травы копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.) в Центральной испытательной лаборатории АО «Кавказгеолсъемка» в г. Ессентуки. Пробоподготовка сырья травы *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. проводилась по методике ГФ РФ ОФС «Зола общая». Золу

исследовали по методике атомно-эмиссионной спектрометрии на дифракционном спектрографе ДФС-8-1. Посредством электрической дуги выполняли испарение пробы золы в ячейку графитового электрода. При равновесных процессах возбуждения и обратного перехода в основное состояние электронов атомов элементов регистрировали спектры испускания (эмиссии). Результаты приведены в таблице 29.

Таблица 29 – Элементный состав травы *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

Название элемента	Содержание, %	Название элемента	Содержание, %
Макроэлементы			
Калий (K)	1,47	Натрий (Na)	0,10
Фосфор (P)	0,49	Магний (Mg)	0,10
Кальций (Ca)	0,29		
Микроэлементы			
Кремний (Si)	0,29	Марганец (Mn)	0,0025
Алюминий (Al)	0,049	Медь (Cu)	0,00098
Железо (Fe)	0,029	Бор (B)	0,00098
Титан (Ti)	0,0073	Хром (Cr)	0,00049
Цинк (Zn)	0,0049	Барий (Ba)	0,0029

Спектральный анализ показал, что в траве копеечника кавказского присутствуют макроэлементы: калий, натрий, фосфор, магний, железо, кальций, кремний, а также микроэлементы, такие как марганец, титан, молибден, цинк, медь. Полученные результаты элементного состава необходимы при комплексном анализе суммы действующих веществ данного растения.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 5

1. Определены показатели подлинности и качества травы копеечника кавказского, в том числе внешние признаки, микроскопические признаки сырья, необходимые для разработки проектов нормативной документации.

2. Установлены числовые показатели качества травы *Hedysarum caucasicum* M.Vieb., такие как влажность, общая зола, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Определено содержание экстрактивных веществ.

3. Определены показатели подлинности, методики качественного обнаружения присутствия мангиферина в траве копеечника кавказского методом тонкослойной хроматографии, методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин по сравнению со стандартным образцом мангиферина.

4. Проведен анализ элементного состава сырья, который показал, что в траве копеечника кавказского присутствуют макроэлементы: калий, натрий, фосфор, магний, железо, кальций, кремний, а также микроэлементы, такие как цинк, марганец, медь, молибден.

ГЛАВА 6. ИНТРОДУКЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВИДОВ РОДА *HEDYSARUM L.*

Проведены интродукционные исследования видов рода *Hedysarum L.*, включающие определение наиболее эффективных способов размножения видов рода *Hedysarum L.*, изучение биологических особенностей изучаемых видов как в природных популяциях, так и в условиях интродукции на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (участок Цудахар, участок Гуниб). Кроме того, проведено изучение ритма сезонного развития видов рода копеечника, составлены феноспектры данных видов.

6.1 Характеристика места проведения интродукционных исследований

Интродукционные исследования проводились на базе Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (база Цудахар, база Гуниб).

Цудахарская экспериментальная база (ЦЭБ) Ботанического сада находится в Левашинском районе, расположена в известняковой части Внутреннегорного Дагестана, в долине реки Сана – притока Кази-Кумухского Койсу (1100-1250 м.н.у.м.). Особенностью рельефа этой местности является глубокое расположение речных долин между горными отрогами. Климат характеризуется как средне-континентальный. Среднегодовая температура воздуха составляет 10,1°C, с абсолютным максимумом в июле-августе до 40°C, и абсолютным минимумом в январе до -23°C. Среднее число безморозных дней составляет 270. Средняя сумма осадков за зимний период составляет около 40 мм, с максимумом в июне-июле. Почвы сухо-степные, каменисто-щебнистые, маломощные и хрящеватые (рисунок 42) [29].

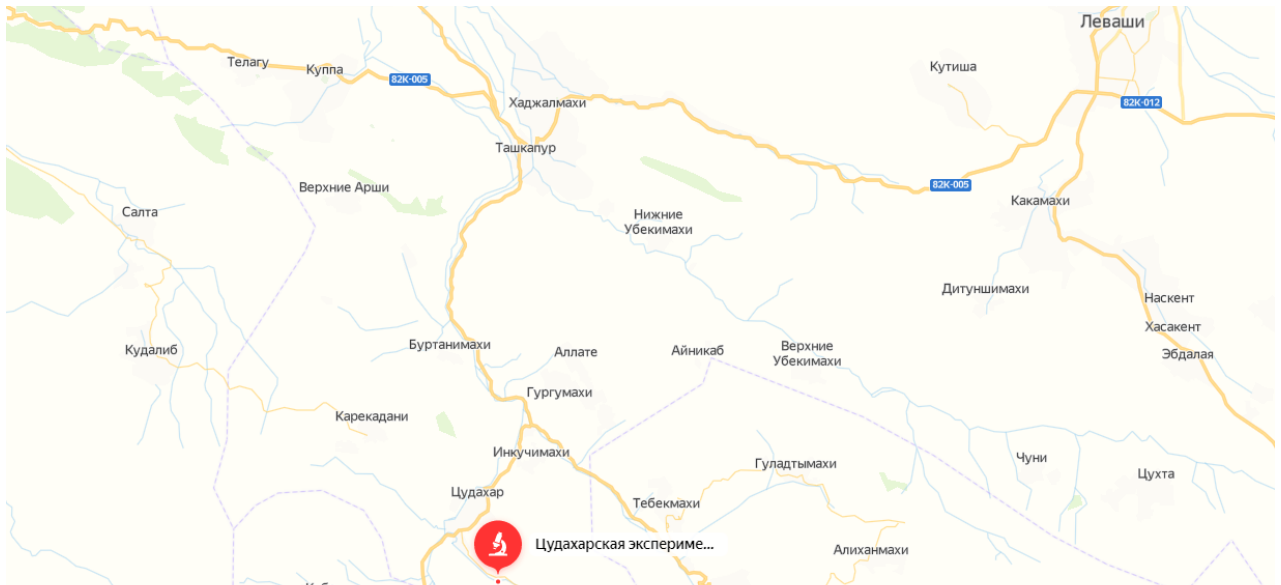


Рисунок 42 – Цудахарская экспериментальная база (ЦЭБ) Ботанического сада

Гунибская экспериментальная база (ГЭБ) расположена в районе Гунибского плато, в северо-западной известняковой части Внутреннегорного Дагестана. Центральная территория Горного ботанического сада на Гунибском плато расположена на высоте 1650-1900 м.н.у.м.

Рельеф с преобладанием структур коробчатого строения в виде плотообразных хребтов – Гуниб, Хунзах, Бетль, Турчи-даг, Тли-Меэр. В сложении этих хребтов основная роль принадлежит верхнеюрским, реже верхнемеловым известнякам с участием доломитов; в глубоко врезанных долинах обнажаются мягкие неметаморфизированные глинистые сланцы. Гора Гуниб – изолированное синклинальное известняковое плато, протянутое с востока на запад, с хорошо выраженными бортами – внешними склонами всех румбов (рисунок 43).

Климатические показатели плато (1583 м.н.у.м.) характеризуют его как континентальное (со степенью 42-47%). При среднегодовой сумме осадков 680 мм, годовой ход осадков имеет четкий одновершинный характер, с июньско-июльским максимумом, причем на долю летних осадков приходится 80-90% годового количества, т. е. выпадение осадков является типично материковым. Среднегодовая температура воздуха 6,7°C, с максимумом в июле-августе. Число солнечных дней в год – 333, при средней продолжительности солнечного сияния 2250 часов, что весьма важно для перспектив гелиоэнергетического обеспечения

сооружений на плато. Почвы на плато коричневые лесные и горно-луговые, черноземовидные каменисто-щебнистые, маломощные. Значительную площадь земель северного, отчасти и южного, склона занимают залежные террасы, ныне частью заросшие лесными сообществами. Совокупность террасных участков с межтеррасными откосами представляют целую мозаичную «сотовую» систему, распределенную по склонам разных экспозиций, преимущественно северной или плакорной. Площадь террас колеблется от 5 кв.м. до 0.8 га. Леса покрывают около 190 га земель северного склона в пределах 1400-2100 м над ур. м., причем основная их доля относится к березнякам [29, 41].



Рисунок 43 – Гунибская экспериментальная база (ГЭБ) Ботанического сада

6.2 Изучение биологических особенностей произрастания в естественных условиях и условиях интродукции видов рода копеечник

При анализе онтогенетического развития видов рода копеечника учитывались такие показатели, как морфологические признаки и морфометрические показатели возрастных состояний видов, а также определение урожайности сырья. Для копеечника кавказского, собранного в 2017-2018 г.г. на территории КБР (селения Безенги), РСО-Алании (селения Дзинага), а также в КЧР (Домбай, ущелье Алибек), характерны следующие отличительные

морфометрические показатели, такие как ветвистость вегетативных и генеративных побегов, показатель олиственности побегов, количество листьев и размеры соцветий. Выявленные показатели характеризуют эколого-ценотические особенности различных мест обитания данных образцов.

Проведен сравнительный морфометрический анализ образцов копеечника дагестанского (*H. daghestanicum* Rupr. ex Boiss.), собранных в течение 2015, 2016, 2017 гг. на территории различных районов республики Дагестан Казбековский район, с. Чиркей, Ботлихский район (окрестности с. Годобери, с. Анди). Выявлены следующие закономерности: в пределах популяции с. Годобери наблюдается увеличение таких показателей, как количество листьев, длина листа, ширина листа, длина черешка, ширина и длина непарного листочка, а также увеличение размеров и густоты соцветий [46].

Проведенный анализ произрастания данных видов в естественных условиях показал, что копеечник кавказский предпочитает открытые увлажненные участки альпийских и субальпийских лугов, при анализе местообитания (юго-восточный склон г. Алибек, в лесной зоне и на открытых увлажненных участках альпийского пояса, р. Черек Безенгийский), установлены режим умеренной инсоляции и максимальный режим увлажнения, что характерно участку Гуниб Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН.

Что касается копеечника дагестанского и копеечника крупноцветкового, то при анализе эколого-ценотических мест обитания данных видов выявлена приспособленность к открытым аридным участкам каменистых мелко щебнистых склонов с низким уровнем увлажненности и высоким уровнем инсоляции. Данные показатели были учтены при посадке образцов данных видов на территории участка Цудахар Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН.

Полученные результаты изучения ритма сезонного развития видов рода копеечника представлены в таблице 30, для каждого вида составлены феноспектры наблюдений за 2017-2020 гг. (рисунок 45).

Таблица 30 – Изменчивость морфологических признаков видов рода *Hedysarum* L. в различных популяциях

№	Морфометрические показатели/номер образца	<i>H. grandiflorum</i> Pall.	<i>H. caucasicum</i> M.Bieb			<i>H. daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.			
		1*	2*	3*	4*	5*	6*	7*	8*
1	Высота растения, см	32,98±1,9	36,5±2,7	36,5±1,7	31,2±1,6	28,9±1,5	28,6±1,5	28,8±1,3	27,5±1,1
2	Число генеративных побегов, шт.	7	7	8	5	4	3	1	3
3	Количество листьев, шт.	18	12	9	10	25	23	7	20
4	Длина листа, см	11,2±0,9	11,2±0,1	10,6±0,5	12,7±0,9	10,2±0,8	12,1±0,7	14,1±1,1	10,9±0,2
5	Ширина листа, см	4,05±0,2	2,6±0,4	2,3±0,5	3,1±0,7	2,58±0,2	3,28±0,2	4,18±0,3	3,26±0,6
6	Длина черешка, см	5,62±1,1	4,5±0,8	5,2±0,4	4,6±0,9	5,98±0,5	6,56±0,5	7,33±0,8	7,1±1,3
7	Число листочков, шт.	11±0,8	13±0,9	14±1,1	15±0,9	6±1,0	7±0,7	8±0,5	4±0,6
8	Длина непарного листочка, см	2,1±0,1	2,10,2	2,3±0,4	2,2±0,7	1,43±0,2	1,85±0,1	2,0±0,2	1,77±0,1
9	Ширина непарного листочка, см	0,42±0,1	0,38±0,2	0,54±0,5	0,29±0,7	0,63±0,2	0,86±0,1	0,8±0,1	0,6±0,04
10	Число вегетативных побегов, шт.	8	8	9	5	4	2	2	4
11	Количество соцветий, шт.	7	9	7	8	4	4	3	10
12	Число цветков на соцветии, шт.	16±2,6	15±2,5	13±0,4	18±3,9	21±1,6	18±2,8	10±0,6	17±2,7
13	Длина соцветия, см	17,2±1,2	16,7±1,1	16,7±1,1	16,7±1,1	16,7±1,1	20,3±2,0	18,5±2,9	13,9±1,3
14	Ширина соцветия, см	2,3±0,3	3,5±0,3	2,7±0,4	2,9±0,6	2,8±0,06	2,26±0,2	2,04±0,2	2,28±0,2

Примечание: * Места сбора копеечника крупноцветкового: 1 – Волгоградская область, с. Кандраши, 2018г. Места сбора копеечника кавказского: 2 – КБР, сел. Безенги, 2018г.; 3 – РСО-Алания, Ирафский район, Дзинага, 2018г.; 4 – КЧР, Домбай, ущелье Алибек, 2017г. Места сбора копеечника дагестанского: 5 – Республика Дагестан, с. Чиркей, 2015г.; 6 – Республика Дагестан, с. Чиркей, 2017г.; 7 – Республика Дагестан, с. Годобери, 2016г.; 8 – Республика Дагестан, с. Анди, 2015г.

6.2.1 Способы размножения и изучение ритма сезонного развития видов рода копеечника

Представители рода *Hedysarum* L. характеризуется полным онтогенезом. Выделены 4 периода и 10 возрастных состояний: латентный период – семя (*se*); прегенеративный период со следующими возрастными состояниями: проростки (*p*), ювенильные (*j*), имматурные (*im*), виргинильные (*v*), растения; период генеративный это молодые генеративные (g_1), средне генеративные (g_2), старые генеративные растения (g_3); постгенеративный период: субсенильные (*ss*) и

сенильные (s) растения [43]. Для проведения интродукционных исследований использовался способ размножения семенами. Семена в количестве 100 высаживали на делянках площадью 5 на 5 м² на различных типах рельефа, в почву на расстоянии 15-20 см, предварительно подвергали скарификации, почву рыхлили и увлажняли (рисунок 44).

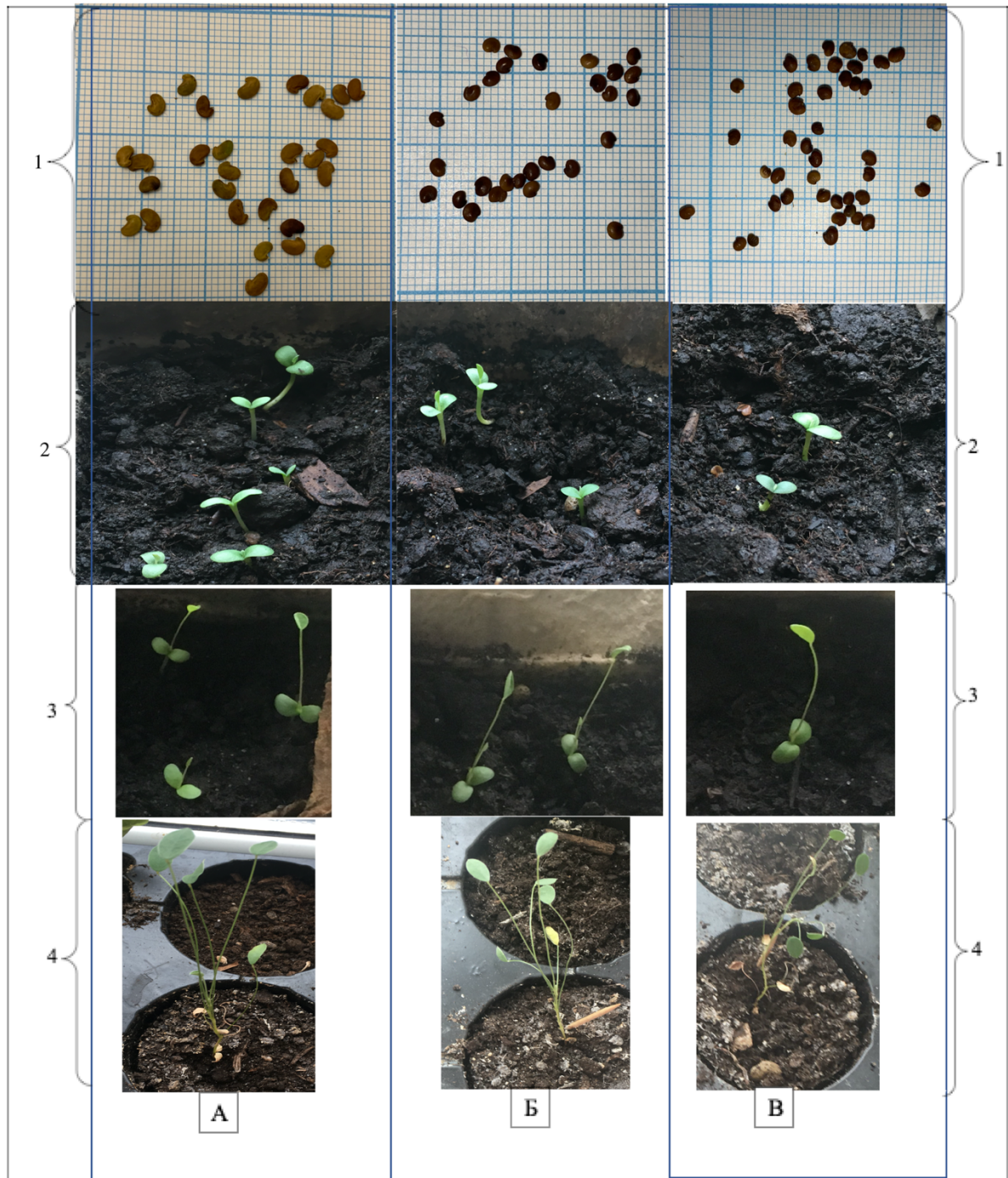


Рисунок 44 – *Hedysarum caucasicum* M.Boiss. (А); *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (Б); *Hedysarum grandiflorum* Pall. (Б)

1. семена (se); 2-4. проростки (p)

лимитирующее влияние внешних факторов. По срокам цветения *Hedysarum caucasicum* M.Boiss. относится к летней группе, а *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. и *Hedysarum grandiflorum* Pall. к поздневесенней и раннелетней группам. Длительность вегетации варьирует в пределах 179-184 дней, составляя в среднем 182 ± 2 дней.

В результате проведенных фенологических исследований отмечено, что хронологически фаза вегетации и фаза цветения в природных популяциях и в условиях интродукции видов рода копеечник схожи, при этом длительность фазы плодоношения и отмирания незначительно различаются. Предположительно, это связано с регулярной системой полива растений в условиях интродукции.

Для определения урожайности сырья в условиях интродукции использовали метод расчета урожайности при использовании метода учетных площадок [76]. С опытных площадок после сбора сырья были получены результаты, представленные в таблице 31.

Таблица 31 – Показатели урожайности видов рода *Hedysarum* L. на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН

Наименование вида	Всхожесть, %	Количественное содержание суммы ксантонов	Рассчитанное значение урожайности, кг/м ²	Метрологические характеристики
<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	53,3	0,61 \pm 0,02	0,203 \pm 0,0043	C=0,066534; δ =0,0172; m=0,0043; m=2%
<i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	36,7	0,59 \pm 0,02	0,174 \pm 0,0104	C=0,119413; δ =0,0345; m=0,0104; m=6%
<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	46,7	0,55 \pm 0,01	0,183 \pm 0,0039	C=0,03506; δ =0,0144; m=0,0039; m=2%

Из результатов, приведенных в таблице, можно сделать вывод, что максимальную всхожесть имеют семена *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., данному виду также характерны наивысшие показатели урожайности сырья и количественное содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин.

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 6

1. Проведены комплексные интродукционные исследования видов рода *Hedysarum* L., включающие определение наиболее эффективных способов размножения видов рода.
2. Изучены биологические особенности видов рода *Hedysarum* L., произрастающих как в природных популяциях, так и в условиях интродукции на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (участок Цудахар, участок Гуниб).
3. Составлены феноспектры и изучены особенности онтогенетического развития видов рода *Hedysarum* L., определены морфологические признаки и морфометрические показатели возрастных состояний видов.
4. Определены показатели всхожести семян и показатели урожайности сырья на территории Горного ботанического сада ФГБУН ДФИЦ РАН (участок Цудахар, участок Гуниб).
5. Разработаны проект ФС «Копеечника кавказского трава» как дополнительного сырьевого источника мангиферина, проект «Инструкции по сбору и сушке копеечника кавказского травы», разработан проект ФС «Копеечника кавказского трава», апробированный на базе ЗАО «ВИФИТЕХ». Методики идентификации суммы ксантонов в пересчете на мангиферин введены в учебные процессы подготовки аспирантов кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России и студентов 3 и 4 курсов кафедры фармации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключении проведенного диссертационного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Впервые проведено морфолого-анатомическое исследование каулифолиарной системы трех видов рода *Hedysarum* L.: *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall., установлены диагностические признаки, к которым относятся трихомы в виде простых одноклеточных и двуклеточных волосков с бородавчатой кутикулой, устьичные аппараты аномоцитного и анизоцитного типа, седловидная форма черешка на поперечном сечении, наличие идиобластов в паренхимной обкладке коллатеральных проводящих пучков;

2. Впервые проведено молекулярно-генетическое исследование *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Секвенирован маркерный участок ITS1-5.8S ITS2 гена рРНК, по Сэнгеру методом СТАВ. Выявлена корреляция накопления вторичных метаболитов ксантонового ряда и эколого-фитоценотической характеристики позволяет предположить перспективность видов секции *Obscura* для поиска дополнительных сырьевых источников мангиферина и его производных, обладающих выраженной противовирусной активностью;

3. Разработаны эффективные методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин из указанных видов рода *Hedysarum* L., методами УФ-спектрофотометрии, капиллярного электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии проводили с использованием величины оптической плотности стандартного образца мангиферина и величины удельного показателя поглощения мангиферина, установленной нами экспериментально. Проведена валидация методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., на основании полученных данных установлено, что предложенная методика является высокочувствительной, воспроизводимой и пригодна для использования в аналитической лаборатории;

4. Проведен первичный фитохимический скрининг биологически активных соединений травы *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Установлено наличие в трех видах следующих БАВ: полифенольных соединений, лейкоантоцианов, флавоноидов, дубильных веществ, полисахаридов, сапонинов. Количественное содержание дубильных веществ в надземных органах копеечника кавказского составило $5,43 \pm 0,15\%$.

Изученный аминокислотный состав в траве *Hedysarum caucasicum* M.Bieb, *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall., показал, что в значительных количествах в траве обнаружены такие аминокислоты, как аспарагиновая (1,84-2,68%) и глутаминовая кислоты (1,29-1,33%), а также пролин (0,83-1,39%), лейцин (0,86-0,90%) и фенилаланин (0,58-0,63%). Данные исследования представляют интерес в связи с тем, что фенилаланин и пролин являются компонентами биосинтеза ксантонов, что может быть использовано в дальнейшем при составлении комплексной метаболомной характеристики растительного сырья видов рода *Hedysarum* L.

Проведен спектральный анализ минерального состава, который показал, что в траве копеечника кавказского присутствуют макроэлементы: калий, натрий, фосфор, магний, железо, кальций, кремний, а также микроэлементы, такие как цинк, марганец, медь, молибден. Полученные результаты элементного состава необходимы при комплексном анализе суммы действующих веществ данного растения;

5. Разработаны: проект ФС «Копеечника кавказского трава» как дополнительного сырьевого источника мангиферина, апробированный на базе ЗАО «ВИФИТЕХ» (Московская область), проект «Инструкции по сбору и сушке копеечника кавказского травы» апробирован в Горном ботаническом саду ФГБУН ДФИЦ РАН (г. Махачкала) и ООО «Витаукт-Пром» (г. Майкоп).

Методики количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферин методом УФ-спектрофотометрии и количественного определения

мангиферина методами капиллярного электрофореза и ВЭЖХ используются в работе ООО «Витаукт-Пром», ЗАО «ВИФИТЕХ».

Методики идентификации суммы ксантонов в пересчете на мангиферин внедрены в учебный процесс для аспирантов на кафедре фармакогнозии, ботаники и производства фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России и студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета на кафедре фармации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет».

Практические рекомендации. Полученные результаты диссертационной работы способствуют в усовершенствовании подходов к стандартизации ЛРС, содержащих ксантоны и могут быть применены в учебном процессе по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия».

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в последующем изучении химического состава ЛРС, содержащих ксантоны, разработки методик анализа и стандартизации ЛРС и лекарственных растительных препаратов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПМФИ – Пятигорский медико-фармацевтический институт

БАВ– биологически активные вещества

БУВ – спирт н-бутиловый – уксусная кислота концентрированная/ледяная – вода очищенная

ВАК – Высшая аттестационная комиссия

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГФ РФ – Государственная фармакопея Российской Федерации

ФГБУН ДФИЦ РАН – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Дагестанский федеральный исследовательский центр Российской академии наук

ЛРС – лекарственное растительное сырье

ЛИТ – литература

ОФС – общая фармакопейная статья

СТАВ – бромистого цетилтриметиламмония

СО – стандартный образец

СФМ – спектрофотометрия

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ-свет – ультрафиолетовый свет

РАН – Российская академия наук

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аббасов, Н.К. 2016. Изображение *Hedysarum atropatanum* Bunge. ex Boiss. // Плантариум: открытый онлайн атлас-определитель растений и лишайников России и сопредельных стран. 2007-2020. <https://www.plantarium.ru/page/image/id/429039.html>.
2. Авдеев, В.И. Полипептидные маркеры видов *Hedysarum* Оренбургского Приуралья / В.И. Авдеев, А.А. Релишский // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2010. – Т. 4. – №28-1. – С. 38-40.
3. Алания, М.Д. Флавоноиды *Hedysarum sericeum* и *H. caucasicum* / М.Д. Алания // Химия природных соединений. – 1983. – №5. – С. 646.
4. Алимбаева, П.К. Сапониноносные и алкалоидоносные растения флоры Киргизии / П.К. Алимбаева, А.В. Гончарова, Е.В. Никитина, Н.В. Плеханова // Лекарственные вещества из растительного сырья Киргизии. Фрунзе, 1972. – С. 54-102.
5. Алпизарин. [Электронный ресурс] URL: http://www.biomedservice.ru/preparat/libr_alpizarin.pdf.
6. Амангельдин, Е.А. К фитохимическому изучению копеечника желтоватого / Е.А. Амангельдин // Тр. Института физиологии. АН КазССР. – 1968. – Т.11. – С. 144-145.
7. Аслануков, А.К. Идентификация и количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* Vieb.) / А.К. Аслануков, А.Ю. Айрапетова, Ф.К. Серебряная // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – П: Пятигорская ГФА, 2009. – Вып. 64. – С. 11-13.
8. Аукенов, Н.Е. Выделение и очистка нуклеиновых кислот. Состояние проблемы на современном этапе / Н.Е. Аукенов, М.Р. Масабаева, У.У. Хасанова // Наука и здравоохранение. – 2014. – №1. – С. 51-53.

9. Байтенов, М.С. Флора Казахстана. Т.5. Род копеечник – *Hedysarum* L. / М.С. Байтенов. – Алма-Ата: изд-во АН КазССР, 1961. – С. 418-442.
10. Бандюкова, В.А. Определение методом бумажной хроматографии флавоноидов в высокогорных растениях Тибердинского района / В.А. Бандюкова, А.Л. Шинкаренко // Фармацевтический журнал. – 1965. – №6. – С. 37-41.
11. Банкетов, С.А. 2011. Изображение *Hedysarum caucasicum* M. Bieb. // Плантариум: открытый онлайн атлас-определитель растений и лишайников России и сопредельных стран. 2007-2020. <https://www.plantarium.ru/page/image/id/115759.html>.
12. Блинова, К.Ф. Качественное фитохимическое исследование некоторых растений тибетской медицины Забайкалья / К.Ф. Блинова, К.Л. Стуккей // Вопросы фармакогнозии. – 1961. – Вып.1. – С. 135-155.
13. Боброва, М.Н. Качественные исследования некоторых забайкальских растений на содержание флавоновых веществ / М.Н. Боброва // Вопросы фармакогнозии. – 1961. – №1. – С. 157-163.
14. Болховских, З.В. Хромосомные числа цветковых растений: [Справочник] / З.В. Болховских, В.Г. Гриф, О.И. Захарьева, Т.С. Матвеева // АН СССР. Ботан. ин-т В. Л. Комарова. – Л.: Наука, 1969. – 927 с.
15. Буданцев, А.Л. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Издательство СПХФА, 2001. – 663 с.
16. Быковченко, И. Красный корень на страже мужского здоровья / И. Быковченко // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2013. – №5. – С. 32.
17. Во, Т.Х.Т. Выделение из листьев мангового дерева *Mangifera indica* мангифрина и оценка его биологической активности по блокированию α -глюкозидазы / Т.Х.Т. Во, Ч.З. Нгуен, К.Х. Нгуен, Н.А. Ушакова // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т.51. – № 9. – С. 44-48.
18. Волхонская, Т.А. Обследование растений горного массива Моигуи-Тайга и нагорья Сангилеи (Южная Тува) на содержание флавоноидов / Т.А.

Волхонская, В.М. Ханминчун, О.И. Фролова // Растительные ресурсы. – 1983. – Т.19. – Вып. 4. – С. 455-464.

19. Высочина, Г.И. Биологически активные вещества некоторых видов рода *Hedysarum* L. / Г.И. Высочина, Т.А. Кукушкина // Химия растительного сырья. – 2011. – №4. – С. 251-258.

20. Галушко, А.И. Флора Северного Кавказа: определитель в 3-х т. Т.2. / А.И. Галушко. – Ростов на Дону: изд-во Ростовского университета, 1980. – 352 с.

21. Геодакян, С.В. Экспериментальная фармакокинетика алпизарина / С.В. Геодакян, И.В. Воскобойникова, Н.А. Тюкавина, В.К. Колхир, Ю.А. Колесник, В.А. Зюзин, В.И. Глызин, С.Я. Соколов // Фармация. – 1992. – Вып. 6. – С. 57-59.

22. Глызин, В.И. Ксантоновые гликозиды *Hedysarum flavescens* / В.И. Глызин, А.И. Баньковский, М.Г. Пименов, К.И. Боряев // Химия природных соединений. – 1973. – №3. – С. 434-435.

23. Глызин, В.И. Фенольные соединения *Hedysarum komarovii* / В.И. Глызин, В.И. Быков, Г.С. Глызина // Химия природных соединений. – 1968. – №4. – С. 382-383.

24. Глызин, В.И. Фенольные соединения *Hedysarum sachalinense* и *H. brandlii* / В.И. Глызин, А.И. Баньковский, Н.С. Павлова // Химия природных соединений. – 1970. – №3. – С. 369.

25. Глызин, В.Н. Природные ксантоны / В.Н. Глызин, Г.Г. Николаева, Т.Д. Даргаева. – Новосибирск: Наука, – 1986. – 174 с.

26. Глызина, Г.С. Фенольные соединения *Hedysarum neglectum* / Г.С. Глызина, В.И. Быков // Химия природных соединений. – 1969. – №4. – С. 322.

27. Глызина, Г.С. Флавоноиды *Hedysarum gmelinii* / Г.С. Глызина, Н.Ф. Комиссаренко // Химия природных соединений. – 1967. – №2. – С. 138-139.

28. Гончаров, М.Ю. Молекулярная филогения трибы *Varhieae* (*Fabaceae*) на основании анализа последовательностей гена МАТК / М.Ю. Гончаров, М.Н. Пovyдыш, Г.П. Яковлев // Ботаника в современном мире. Труды XIV Съезда Русского ботанического общества и конференции «Ботаника в современном мире» (г. Махачкала, 18-23 июня 2018 г.). Т.1: Систематика высших растений.

Флористика и география растений. Охрана растительного мира, Палеоботаника. Ботаническое образование. – Махачкала: АЛЕФ, 2018. – С. 26-28.

29. Горный ботанический сад Дагестанского НЦ РАН. – Махачкала: Алеф, 2018. – 70 с.

30. ГОСТ 32195 – 2013 (ISO 13903:2005). Корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот. Введ. 2015.07.01. – Москва: Изд-во Стандартиформ, 2014. – 19 с.

31. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 т. XIV изд. М., 2018. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.

32. Гроссгейм, А.А. Флора Кавказа Т.V. / А.А. Гроссгейм. – М.–Л.: изд-во АН СССР, 1952. – 454 с.

33. Губанов, И.А. Атлас лекарственных растений России / И.А. Губанов, А.И. Шретер. – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2006. – 376 с.

34. Гудвин, Т. Введение в биохимию растений: в 2-х т. Том 2. Перевод с англ. / Т. Гудвин, Э. Мерсер. – М.: Мир, 1986. – 393 с.

35. Денисова-Дятлова, О.А. Природные ксантоны / О.А. Денисова-Дятлова, В.И. Глызин // Успехи химии. – 1982. – Т.51. – Вып. 10. – С. 1753-1774.

36. Денисова, О.А. Ксантоновые С-гликозиды *Hedysarum denticutatum* / О.А. Денисова, В.И. Глызин, С.В. Русакова, М.Г. Пименов // Химия природных соединений. – 1977. – № 2. – С. 283.

37. Денисова, О.А. Определение содержания ксантонового гликозида мангиферина у некоторых растений родов *Iris*, *Gentiana*, *Hedysarum* / О.А. Денисова, В.И. Глызин, А.В. Патуди, Б.Д. Гавриленко // Химико-фармацевтический журнал. – 1980. – Т.14. – №12. – С. 76-77.

38. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков, В.Е. Арасимович, М.И. Смирнова-Иконникова, Н.П. Ярош, Г.А. Луковникова. – Л.: Агропромиздат, 1952. – 430 с.

39. Ермакова, Е. 2016. Изображение *Hedysarum grandiflorum* Pall. // Плантариум: открытый онлайн атлас-определитель растений и лишайников России

<https://www.plantarium.ru/page/image/id/417727.html>.

40. Жилякова, Т.П. Перспективы применения надземной части копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) и девясила высокого (*Inula helenium* L.) в качестве кормовых добавок-фитогеников в свиноводстве / Т.П. Жилякова, Н.С. Зиннер, С.Н. Удинцев, Т.П. Свиридова // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2013. – №4 (24). – С. 124-132.

41. Залибеков, М.Д. Каталог древесных растений Горного ботанического сада / М.Д. Залибеков, Х. Алиев, Д. Анатов, З.М. Асадулаев, А. Габибова, М. Гаджиатаев, М. Газиев, А. Исмаилов, Б. Магомедова, М. Маллалиев, Омарова П., Р. Османов, Г. Садыкова // Hortus bot. – 2017. – Т.12. – С. 217-268.

42. Захаров, А.М. Химическое изучение растений флоры Тянь-Шаня / А.М. Захаров, К.И. Боряев // Аптечное дело. – 1965. – Т.14. №5. С. 44-48.

43. Зубаирова, Ш.М. Структура популяций и интродукция копеечника дагестанского (*Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Voiss.): диссертация ... кандидата биологических наук : 03.02.08, 03.02.01 / Зубаирова Шумайзат Магомедовна; [Место защиты: Дагестан. гос. ун-т].- Махачкала, 2013.- 144 с.: ил.

44. Иванов, А. 2014. Изображение *Hedysarum formosum* Fisch. & С.А. Mey. ex Basin. // Плантариум: открытый онлайн атлас-определитель растений и лишайников России и сопредельных стран. 2007-2020. <https://www.plantarium.ru/page/image/id/241012.html>.

45. Ильина, В.Н. Современное состояние популяций копеечников в бассейне Средней Волги / В.Н. Ильина // Самарская Лука: Бюл., 2007. – Т.16. – №1-2(19-20). – С. 235-240.

46. Имачуева, Д.Р. Изменчивость морфометрических признаков *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Voiss. в различных популяциях на территории республики Дагестан / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная, Ш.М. Зубаирова // Ботанический вестник Северного Кавказа. – 2017 – №4. – С. 17-24.

47. Имачуева, Д.Р. Изучение аминокислотного состава надземной части копеечника кавказского / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Сборник научных трудов «IV Гаммермановские чтения». – 2018. – С. 127-129.
48. Имачуева, Д.Р. Морфометрические признаки *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. и *Hedysarum caucasicum* M. Vieb, произрастающие на Северном Кавказе / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. –Пятигорск: РИА-КМВ, 2018. – Вып. 73. – С. 87-97.
49. Имачуева, Д.Р. Определение общих числовых показателей копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M. Vieb.) / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Евразийский союз ученых. – 2017. – №43. – Ч.1. – С. 70-73.
50. Имачуева, Д.Р. Перспективы изучения северокавказских видов рода копеечник (*Hedysarum* L.) семейства бобовые (*Fabaceae*) / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная, И.Н. Зилфикаров // Сборник материалов XXIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов. – 2017. – С. 98.
51. Имачуева, Д.Р. Поиск дополнительных сырьевых источников мангиферина / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Неделя науки 2019: материалы Международного молодёжного форума. – 2019. – С. 644-646.
52. Имачуева, Д.Р. Результаты предварительного фитохимического скрининга и определение общих числовых показателей качества копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* M.Vieb.) семейства *Fabaceae* / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Беликовские чтения: материалы VI Всероссийской научно-практической конференции. – Пятигорск: РИА на Кавминводах, 2018. – С. 166-171.
53. Имачуева, Д.Р. Результаты сравнительного аминокислотного анализа видов рода копеечник, произрастающих на территории Северного Кавказа / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2020 – №1. – С. 82-88.
54. Имачуева, Д.Р. Современное состояние изученности растений рода Копеечник (*Hedysarum* L.) флоры Кавказа / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Фармация и фармакология. – 2016. – №6. – С.4-32.

55. Имачуева, Д.Р. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование каулифолиарной системы *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (*Fabaceae*) / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Сборник трудов четвертой научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Молодые ученые и фармация XXI века». – 2016. – С. 51-56.

56. Имачуева, Д.Р. Фармакогностическое исследование видов рода копеечник, произрастающих на территории Северного Кавказа / Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: материалы IX Международной научно-практической конференции. – 2019. – С.98-100.

57. Исаков, В.А. Диагностика и лечение герпетических инфекций / В.А. Исаков, Д.В. Исаков, Е.И. Архипова, Г.С. Архипов // Вестник НовГУ. – 2019. – Т.115. – №3. – С. 31-35.

58. Киселев, В.Е. Азотсодержащие вещества некоторых представителей рода копеечник / В.Е. Киселев, Е.Г. Пеккер // Изв. Сиб. Отделения АН СССР. Сер. Биол. науки. – 1978. – Вып.1. – С 75-82.

59. Коган, Е.Г. Анатомическое изучение листьев копеечника кустарникового / Е.Г. Коган, А.Н. Кисилёва, Е.М. Елагина // Фармация. – 2016. – Т.65. – № 4. – С. 19-22.

60. Коган, Е.Г. Сравнительный анализ анатомо-диагностических признаков листа копеечника кустарникового (*Hedysarum fruticosum* Pall.) и копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) / Е.Г. Коган, Е.М. Елагина, А.Н. Кисилева // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т.15. – № 1. – С. 88-93.

61. Колчанов, Р.А. Семейство бобовые (*Fabaceae*) во флоре Белгородской области / Р.А. Колчанов, А.Ф. Колчанов // Научные ведомости. Серия естественные науки. – 2012. – № 3(18). – С. 36-49.

62. Комиссаренко, А.Н. Флавоноиды и ксантоны *Hedysarum connatum* и *H. alpinum* / А.Н. Комиссаренко, Н.П. Надеждина, Н.Ф. Комиссаренко // Химия природных соединений. – 1994. – № 4. – С. 564-565.

63. Кривенко, Д.А. Числа хромосом некоторых видов цветковых растений Байкальской Сибири / Д.А. Кривенко, С.Г. Казановский, Н.В. Степанцова, А.В. Верхозина, А.Л. Алексеенко // *Turczaninowia*. – 2012. – Том 15. – №1. – С. 98-107.
64. Кривут, Б.А. Спектрофотометрическое определение мангиферина / Б.А. Кривут, Н.А. Федюнина, С.И. Кочерга, С.В. Русакова // *Химия природных соединений*. – 1976. – №1. – С. 44-46.
65. Крылов, Г.В. Травы жизни и их искатели / Г.В. Крылов. Новосибирск: Западно-Сибирское книжное издательство, 1972. – 448 с.
66. Куваев, В.Б. Перспективы поисков мангиферина в отечественной флоре / В.Б. Куваев, В.И. Глызин, Г.С. Глызина, А.И. Баньковский // *Растительные ресурсы*. – 1972. – Т. 8(3). С. 367-371.
67. Кудашкина, Н.В. Фитохимический анализ: учеб. Пособие по фармакогнозии для студентов. / Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова, С.А. Мещерякова. – Уфа.: Издательство ГОУ ВПО БГМУ Росздрава, 2007. – 281 с.
68. Кудряшова, О.И. Алкалоидоносные и сапонинсодержащие растения / О.И. Кудряшова, О.Г. Степаненко // *Флора и растительность ущелья реки Варзоб*. Л.: Наука, 1971. – С. 278-290.
69. Кудряшова, О.И. Биологически активные вещества в растениях флоры западной части южного склона Гиссарского хребта / О.И. Кудряшова // *Изв. АН ТаджССР. Отделение биол. наук*. – 1972. – №. – С. 15-28.
70. Кукенов, М.К. Некоторые перспективные флавоноидоносы гор Южного Казахстана / М.К. Кукенов, Ф.М. Аталыкова, А.Т. Турабаева // *Тр. Института ботаники АН КазССР*. – 1976. Т.35. – С. 13-21.
71. Кукушкина, Т.А. Содержание ксантонов в надземной части растений *Hedysarum theinum* Krasnov. и *H. alpinum* L. (*Fabaceae*) при выращивании в Сибирском ботаническом саду (Томск) / Т.А. Кукушкина, Н.С. Зиннер, Г.И. Высочина, Т.П. Свиридова // *Химия растительного сырья*. – 2011. – №3. – С. 113-116.
72. Кукушкина, Т.А. Содержание мангиферина и суммы ксантонов в растениях некоторых дикорастущих и интродуцированных видов *Hedysarum*

(*Fabaceae*) / Т.А. Кукушкина, Г.И. Высочина, Н.А. Карнаухова, И.Ю. Селютина // Растительные ресурсы. – 2011. – Т. 47(1). – С. 99-106.

73. Курбатский, В.И. Новый вид копеечника (*Hedysarum* L.) из Тувы / В.И. Курбатский // Систематические заметки по материалам гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. – 1990. – №88. – С. 6-7.

74. Курбатский, В.И. Числа хромосом для некоторых видов *Hedysarum* L. на юге Красноярского края (Минусинская степь) / В.И. Курбатский, Л.А. Малахова // Систематические заметки по материалам гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. – 2003. – №93. – С. 51-56.

75. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов / В.А. Куркин. – Самара: Офорт, СамГМУ, 2004. – 1180 с.

76. Лаврентьев М.В. Антибактериальная активность водных экстрактов *Hedysarum grandiflorum* Pall. / М.В. Лаврентьев // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2013. – Т.3. – №2. – С. 379.

77. Литвинская, С.А. Флора Северного Кавказа: Атлас-определитель. / С.А. Литвинская, Р.А. Муртазалиев. // Москва: Фитон XXI, 2013. – 688 с.

78. Мадоян О.О. Содержание фитоэстрогенов в кормовых растениях Армянской ССР. / О.О. Мадоян, К.А. Празян // Изв. с.-х. наук. – 1972. – № 12. – С. 53-61.

79. Марина, Т.Ф. Химико-фармакологическое исследование копеечника южносибирского / Т.Ф. Марина, Е.А. Краснов, Ю.В. Никифоров // Проблемы освоения лекарственных ресурсов Сибири и Дальнего Востока. Новосибирск, – 1983. – С. 127-129.

80. Маркова, Л.П. Обследование растений флоры Монгольской Народной Республики на содержание биологически активных веществ / Л.П. Маркова, Л.М. Беленовская, Т.П. Надежина, В.С. Синицкий, Х. Тумбаа, У. Лига, Ж. Галл, Г.А. Фокина, А.А. Щелокова // Структура и динамика основных экосистем Монгольской Народной республика. Л.: Наука, 1976. – С. 157-189.

81. Минаева, В. Г. Лекарственные растения Сибири / В. Г. Минаева. – Новосибирск: изд-во: «Наука» Сибирское отделение, 1991. – 430 с.

82. Михайлова, Т.М. Биологическое действие природных ксантоновых соединений / Т.М. Михайлова, Д.Н. Оленников, Л.М. Танхаева // Сибирский медицинский журнал. – 2005. – Т.56. – №7. – С. 72–78.

83. Мулдашев, А.А. Оценка жизнеспособности популяций *Hedysarum grandiflorum* Pall. (*Fabaceae*) в республике Башкортостан / А.А. Мулдашев, О.А. Елизарьева, Н.В. Маслова, А.Х. Галеева // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2014. – №6(167). – С.36-40.

84. Мулдашев, А.А. Создание искусственных популяций редких видов рода *Hedysarum* L. (*Fabaceae*) в Республике Башкортостан / А.А. Мулдашев, О.А. Елизарьева, Н.В. Маслова, А.Х. Галеева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т.14. – №1. – С.1791-1795.

85. Муравьева, Д.А. Фармакогнозия: учебник / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев, Москва: Медицина, 2002. – 656 с.

86. Неретина, О.В. Исследование химического состава копеечника щетинистого (*Hedysarum setigerum*) / О.В. Неретина, А.С. Громова, В.И. Луцкий // Химия и технология растительных веществ: Материалы II Всероссийская конференция, Казань, 2002. – С. 62.

87. Неретина, О.В. Компонентный состав видов рода *Hedysarum* (*Fabaceae*) / О.В. Неретина, А.С. Громова, В.И. Луцкий, А.А. Семенов // Растительные ресурсы. – 2004. – Т. 40(4). – С. 111-138.

88. Неретина, О.В. Флавоноиды *Hedysarum setigerum* / О.В. Неретина, С.В. Федоров, А.С. Громова, В.И. Луцкий, Ю.Н. Елькин // Химия природных соединений. – 2002. – № 2. – С. 161.

89. Нечепуренко, И.В. Низкомолекулярные фенольные соединения корней *Hedysarum theinum* Krasnob. / И.В. Нечепуренко, М.П. Половинка, Н.И. Комарова, Н.Ф. Салахутдинов, С.Б. Нечепуренко // Химия природных соединений. – 2008. – № 1. – С. 3-9.

90. Николаев, С.М. Изучение антимикробной активности ксантоновых соединений, выделенных из горечавки жёлтой / С.М. Николаев, С.А. Вичканова,

Г.Г. Николаева, А.В. Цыренжапов, З.Г. Самбуева, В.И. Глызин, Т.Д. Даргаева, Т.Д. Бреднёва // Сиб. мед. журн. (Иркутск). – 2001. – Т. 25. – №2. – С. 44-46.

91. Николаева, Г.Г. Гликозиды – производные γ -пирона из *Gentiana schistocalyx* / Г.Г. Николаева, В.И. Глызин, Б.А. Кривут, А. Силла, А.В. Патудин // Химия природных соединений. – 1980. – №6. – С. 833-834.

92. Новикова, Л.А. Растения семейства бобовые (*Fabaceae* Lindl.) в Красной книге Пензенской области / Л.А. Новикова, В.М. Васюков, Т.В. Горбушина, С.В. Саксонов // Самарская лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2013. – Т. 22(3). – С. 116-128.

93. Павлова, Н.С. Полисахариды дальневосточных видов *Hedysarum* L. и их хематоксономическое значение / Н.С. Павлова // Растительные ресурсы. – 1971. – Т. 7(4). – С. 561-564.

94. Павлова, Н.С. Таксономический обзор семейства *Fabaceae*, числа хромосом и распространение на советском Дальнем Востоке / Н.С. Павлова, Н.С. Пробатова, А.П. Соколовская // Комаровские чтения. – 1989. – Вып. 36. – С. 20-47.

95. Павлова, Н.С. Характеристика флавоноидов и полисахаридов дальневосточных видов рода *Hedysarum* L. / Н.С. Павлова, С.А. Волкова // Биологически активные вещества флоры и фауны Дальнего Востока и Тихого океана. Владивосток, – 1971. – С. 17-18.

96. Патент №2092177 РФ. Средство, обладающее действием против инфекционных агентов / Л.Д. Шипулина, В.И. Глызин, В.А. Быков, С.А. Вичканова, Т.В. Фатеева / 10.10.1997.

97. Пеккер Е. Г. Аминокислотный состав видов *Hedysarum* L. при различных способах фиксации // Актуальные вопросы ботанического ресурсоведения в Сибири., Новосибирск, – 1975.– С. 193-197.

98. Пеккер, Е.Г. К биохимической характеристике растений рода *Hedysarum* L. Юго-Восточного Алтая / Е.Г. Пеккер // Актуальные вопросы ботанического ресурсоведения в Сибири. Новосибирск, – 1976. – С. 146-149.

99. Перельсон, М.Е. Спектры и строение кумаринов, хромонов и ксантонов / М.Е. Перельсон, Ю.Л. Шейнкер, А.А. Савина. – М.: Медицина, 1975. – 230 с.

100. Пovyдыш, М.Н. Молекулярно-генетические методы в фармакогнозии / М.Н. Пovyдыш, М.Ю. Гончаров, Г.П. Яковлев, А.В. Родионов // Фармация. – 2007. – №6. – С. 47-48.
101. Положий, А.В. Систематика цветковых растений: учебник для биологических факультетов вузов / А.В.Положий. – Томск: изд-во ТГУ, 2001. – 320с.
102. Попова И.А. Анатомо-гистологический анализ корней *Hedysarum grandiflorum* L. // Фундаментальные исследования. - 2014. - №9. – с. 776-780.
103. Попова, И.А. Рациональное использование видов рода *Hedysarum* L., произрастающих в Самарской области / И.А. Попова, Т.И. Плаксина, В.А. Куркин, В.М. Рыжов, Л.В. Тарасенко // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т.14. – №1. – С. 2279-2281.
104. Попова, И.А. Сравнительное тонкослойно-хроматографическое исследование надземных и подземных органов видов рода *Hedysarum* L. с территории Самарской области / И.А. Попова, В.М. Рыжов, Т.И. Плаксина // сборник материалов VI международного симпозиума «Степи Северной Евразии». – Оренбург, 2012. – С. 588-589.
105. Прокопов, Г. 2009. Изображение *Hedysarum candidum* M. Vieb. // Плантариум: открытый онлайн атлас-определитель растений и лишайников России и сопредельных стран. 2007-2020. <https://www.plantarium.ru/page/image/id/27344.html>.
106. Пяк, А.И. Новый вид рода *Hedysarum* из Горного Алтая / А.И. Пяк, А.Л. Эбель // Систематические заметки по материалам гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. – 2000. – №92. – С. 17.
107. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Hydrangeaceae* - *Haloragaceae*. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.
108. Родионов, А.В. Молекулярно-филогенетическое исследование видов рода *Colpodium sensulato* (Poeae, Poaceae) / А.В. Родионов, Е.С. Ким, Н.Н. Носов,

М.П. Райко, Э.М. Мачс, Е.О. Пунина // Экологическая генетика. – 2008. – Т.6. – № 4. – С. 34-46.

109. Русакова, С.В. Некоторые биологические особенности *Hedysarum neglectum* Ledeb. и содержание в нем мангиферина / С.В. Русакова, Е.Л. Нухимовский // Растительные ресурсы. – 1977. – Т.13. – Вып. 3. – С. 478-480.

110. Рыбаченко, А.И. Флуороденситометрическое определение мангиферина и изомангиферина в *Hedysarum flavescens* и *H. alpinum* / А.И. Рыбаченко, Б.А. Кривут, В.П. Георгиевский // Химия природных соединений. – 1976. – №4. – С. 448-450.

111. Семенов, А.А. Очерк химии природных соединений / А.А. Семенов, Новосибирск: Наука, 2000. – 664 с.

112. Серебряная, Ф.К. Эколого-ботанические исследования перспективных ресурсных видов флоры Северного Кавказа / Ф.К. Серебряная // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – П: Пятигорская ГФА, 2014. – Вып. 69. – С. 77-83.

113. Смирнова, Л.П. Изучение химического состава алпизарина из листьев манго / Л.П. Смирнова, В.И. Шейченко, Г.М. Тохтабаева // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Т.34, № 2. – С. 22-25.

114. Соколов, П.Д. Танидоносные растения Центральных Саян / П.Д. Соколов // Тр. БИН АН СССР. – 1961. – Сер. 5, Растительное сырье. – Вып.9. – С. 259-291.

115. Соловьева, Е.В. Содержание мангиферина у видов *Hedysarum* L., выращиваемых в Московской области / Е.В. Соловьева, Л.И. Хоциалова, Б.А. Кривут, В.И. Глызин, Н.И. Майсурадзе // Растительные ресурсы. – 1983. – Т. 19(3). – С. 356-360.

116. Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян. – Красноярск: СФУ, 2016. – С. 490.

117. Супрун, Н.А. Генетическая изменчивость видов родства *Hedysarum grandiflorum* Pall. (*Fabaceae*) по данным ISSR маркирования / Н.А. Супрун, И.А. Шанцер // Бюл. Гл. бот. сада. – 2012. – №4. – С. 41-48.

118. Тахтаджян, А.Л. Система и филогения цветковых растений / А.Л.Тахтаджян. – М.-Л.: Наука, 1966. – 611 с.

119. Теймуров, А.А. 2011. Изображение *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. // Плантариум: открытый онлайн атлас-определитель растений и лишайников России и сопредельных стран. 2007-2020. <https://www.plantarium.ru/page/image/id/77486.html>.

120. Тихонова, Л.А. Сравнительное исследование сибирских представителей рода *Calathiana Adanson* / В.Ю. Андреева, Т.П. Березовская, Г.И. Калинин // Химия растительного сырья. – 2003. – №4. – С. 51-56.

121. Ткабладзе, Ц.П. Биологическая оценка дубильных веществ и их содержание в некоторых танидоносных растениях Грузии / Ц.П. Ткабладзе Тбилиси: ИЗД, 1961. – 90 с.

122. Тожибоев, М.М. Фитохимическое исследование ксантонов и флавоноидов *Gentiana karelinii* / М.М. Тожибоев, Э.Х. Ботиров, Г.А. Усманова // Химия растительного сырья. – 2010. – №1. – С. 127–130.

123. Уткин, Л.А. Народные растения Сибири / Л.А. Уткин // Тр. НИИ хим.-фармац. – 1931. – №4. – вып.2. – С. 100–103.

124. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения: учебное пособие / под ред. Г.П. Яковлева. – СПб: СпецЛит., 2013. – 848 с.

125. Федорова, Ю.С. Сравнительный анализ биологически активных веществ *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum theinum* Krasnob. методом тонкослойной хроматографии / Ю.С. Федорова, Н.И. Суслов, П.В. Кульпин, Ю.В. Мелентьева, К.К. Косенко//Вестник науки и образования. – 2018. – Т. 52. – № 16-1. – С. 79-84.

126. Федорова, Ю.С. Современные перспективы в фитохимическом и фармакологическом исследованиях биологически активных веществ растений рода *Hedysarum* (сем. *Fabaceae*, копеечник) / Ю.С. Федорова, П.В. Кузнецов, Н.И. Суслов, Л.С.Теслов // The scientific heritage. – 2018. – N21. – P. 40-54.

127. Федорова, Ю.С. Сравнительная оценка антиоксидантной активности фитопрепаратов из некоторых видов растений рода *Hedysarum* (сем. *Fabaceae*) / Ю.С. Федорова, А.С. Кузнецова, А.С. Сухих, О.А. Карелина, Р.Н. Герасимова // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 3. – С. 210-214.
128. Федченко, Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*. Т.13. / Б.А. Федченко. – М.-Л.: изд-во АН СССР, 1948. – С. 259-319.
129. Филюшин, М.А. Анализ вариабельности гена 5.8S рРНК у представителей третьей эволюционной группы рода *Allium* / М.А. Филюшин, Е.З. Кочиева // *Генетика*. – 2014. – Том 50. – №10. – С. 1263-1268.
130. Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*) / Под ред. А.В. Положия, Л.И. Малышевой. – Новосибирск: Наука, 1994. – Т.9. – 280 с.
131. Фомина, Л.И. Оптимизация хроматографического разделения мангиферина и гиперозида, выделенных из надземной части *Hedysarum alpinum* L. / Л.И. Фомина, И.Ф. Сацыперова, В.А. Бандюкова // *Растительные ресурсы*. – 1990. – Т. 25 (3). – С. 431-437.
132. Хамидуллина, Е.А. Качественный состав сапониновой фракции из надземной части *Hedysarum alpinum* L. / Е.А. Хамидуллина, С.В. Зинченко, А.А. Семенов // *Растительные ресурсы*. – 2002. – Т.38 (1). – С. 78-82.
133. Шашлова, В.И. Накопление мангиферина и продуктивность надземных органов у копеечника желтого при выращивании в Подмоосковье / В.И. Шашлова, С.В. Русакова // *Растительные ресурсы*. – 1981. – Т.17. – №4. – С. 525-527.
134. Шухободский, Б.А. К вопросу об алкалоидоносности флоры центральных Саян / Б.А. Шухободский // *Тр. БИН АН СССР*. – 1961. – Сер. 5, *Растительное сырье*. – Вып. 9. – С. 320-346.
135. Acosta, J. Determination of mangiferin solubility in solvents used in the biopharmaceutical industry / J. Acosta, I. Sevilla, S. Salomón, L. Nuevas, A. Romero, D. Amaro // *Journal Pharmacy Pharmacognosy Res*. – 2016. – Vol.4. – N2. – P. 49–53.
136. Ahangarian, S. Molecular phylogeny of the tribe *Hedysareae* with special reference to *Onobrychis* (*Fabaceae*) as inferred from nrDNA ITS sequences / S.

Ahangarian, S. Kazempour-Osaloo, A.A. Maassoumi // Iran J Bot. – 2007. – Vol.13. – P.64-74.

137. Alamgir, A.N.M. Therapeutic use of medicinal plants and their extracts: Volume 2: Molecular Pharmacognosy – a new borderline discipline between molecular biology and pharmacognosy / Alamgir, A.N.M. – Springer International Publishing AG, part of Springer Nature. – 2018. – P. 665-720.

138. Beji, A. Effects of artificially introduced autotetraploidy on the free phenolic acid proline in leaves of five species of the genus *Hedysarum*. / A. Beji, K. Boukef, J.F. Biard // Al Biruniya. –1988. – Vol. 4(2). – P. 133-144.

139. Bhuvanewari, K. Isolation of mangiferin from leaves of *Mangifera indica* L. var alphonso / K. Bhuvanewari // Asian J. Pharm. Clin. Res. – 2013. – Vol. 6(2). – P. 173-174.

140. Birdsong, B.A. Distribution of canavanine in the family *Leguminosae* as related to phyletic groupings / B.A. Birdsong, R. Alston, B.L. Turner // Canadian Journal of Botany. – 1960. – Vol. 38(4). – P. 499-505.

141. Bojnanský, V. Atlas of Seeds and Fruits of Central and East-European Flora: The Carpathian Mountains Region / V. Bojnanský, A. Fargašová – Springer Science, – 2007. – P. 1046.

142. Chennaoui, H. Phylogenetic relationships in the North African genus *Hedysarum* as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA / H. Chennaoui, S. Marghali, M. Marrakchi, N. Trifi-Farah // Genetic Resources and Crop Evolution. 2007. – Vol.54. – N2. – P.389-397.

143. Chriki, A. Genetic control of the conversion of dihydroflavonols into anthocyanins in flowers of *Hedysarum carnosum* Desf. / A. Chriki, D. Combes, M. Marrakchi // C. R. Acad. Sci. Ser. III. – 1986. – Vol. 302(16). – P. 585-588.

144. De Souza, J.R.R. Chitosan-coated pectin beads: Characterization and in vitro release of mangiferin / J.R.R. De Souza, J.I.X. de Carvalho, M.T.S. Trevisan, R.C.M. de Paula, N.M.P.S. Ricardo, J.P.A. Feitosa // Food Hydrocolloids. – 2009. – Vol.23. N8. – P. 2278–2286.

145. Delgado-Hernández, R. Anti-angiogenic effects of mangiferin and mechanism of action in metastatic melanoma / R. Delgado-Hernández, I. Hernández-Balmaseda, I. Rodeiro-Guerra, et al. // *Melanoma Res.* – 2020 – Vol. 30(1). – P.39-51.
146. Dong, Y. Phytochemicals and biological studies of plants in genus *Hedysarum* / Y. Dong, D. Tang, N. Zhang, Y. Li, C. Zhang, L. Li, M. Li // *Chemistry Central Journal.* – 2013. – Vol.7(1). – P. 124.
147. Doyle, J.J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue / J.J. Doyle, J.L. Doyle // *Phytochem. Bull.* – 1987. – Vol.19. – P. 11-15.
148. Du, Z. Mechanism of anti-dementia Effects of Mangiferin in a Senescence Accelerated Mouse (SAMP8) Model / Z. Du, F. Fanshi, Y.-H. Lai, J.-R. Chen, E. Hao, J. Deng, C-D. Hsiao // *Bioscience Reports.* – 2019. – Vol.39. – N9:BSR20190488.
149. Duan, Z. Determination of inorganic elements and amino acids in the roots of *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz / Z. Duan, L. Sun, H. Zheng, W. Yin // *Lanzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban.* – 1990. – Vol.26. – N2. – P. 79-82.
150. Estuningtyas, A. Are Mangiferin and Mangiferin-Containing Plant Extracts Helpful for Iron-Loaded Transfusion-Dependent and Non-Transfusion-Dependent Thalassaemia Patients? / A. Estuningtyas, K. Zwicker, T. Wahyuni, P. Fajri, P.A. Wahidiyat, S.K.U. Freisleben, H-J. Freisleben // *Biomedical and Pharmacology Journal.* – 2018. – Vol.11. – N1. P.29-43.
151. Flora iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares / S. Castroviejo [et al.]. – Madrid: Real Jardín Botánico, – 2000. – VII (II) *Leguminosae* (partim). – P.1121.
152. Flora of China / Z.Y. Wu, P.H. Roven, D.Y. Hong – 2010. – Vol.10. – P.577.
153. Genbank /EMBL/DDBJ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>).
154. Gómez-Zaleta, B. UV/vis, ¹H, and ¹³C NMR spectroscopic studies to determine mangiferin pKa values / B. Gómez-Zaleta, M.T. Ramírez-Silva, A. Gutiérrez, E. González-Vergara, M. Güizado-Rodríguez, A. Rojas-Hernández // *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 2006. – Vol. 64(4). – P.1002-1009.

155. Hai, L.Q. Chemical constituents of *Hedysarum austrosibiricum* B.Fedtsch / L.Q. Hai, J.J. Xu, A. Kaisaier, X. Zhang, L.Y. Ma // *Huaxi Yaoxue Zazhi*. – 2006. – Vol.21. – P. 47-48.
156. Hai, L.Q. Study on chemical constituents of *Hedysarum polybotrys* / L.Q. Hai, Q.Y. Zhang, H. Liang, Y.Y. Zhao, N.S. Du // *Acta Pharm Sinica*. – 2003. – Vol.38. – P. 592–595.
157. Hostettmann, K. Identification of xanthenes and new arabinosides of flavone C-glucosides from *Swertia perennis* L. / K. Hostettmann, A. Jacot-Quillarmod // *Helv. Chim. Acta*. –1976. – V.59. – P. 1584-1591.
158. Huang, Z. Antiaging effect of *Hedysarum polybotrys* polysaccharide / Z. Huang, Z. Cui, Y. Ren, J. Zhang, M. Cran // *Zhongcaoyao*. – 1992. – Vol. 23, № 9. – P. 469-473.
159. Jiang, W. Comparative studies on quality between the wild and cultivated *Hedysarum polybotrys* roots from Sichuan province / W. Jiang // *Zhongcaoyao*. – 1989. – Vol.20. – N8. – P. 373-374.
160. Johnston, A. Chemical composition of range forage plants of the *Festuca scabrella* association. / A. Johnston, L.M. Bezeau // *Can. J. Plant Sci*. – 1962. – Vol. 42(1). – P. 105-115.
161. Jones, Q. Chemical analyses of seeds / Q. Jones, F. R. Earle // *Econ. Bot*. – 1966. – Vol.20. – N2. – P. 127-155.
162. Jutiviboonsuk, A. Mangiferin in Leaves of Three Thai Mango (*Mangifera indica* L.) varieties / A. Jutiviboonsuk, C. Sardsaengjun // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2010. – Vol.6. – N3. – P. 122-128.
163. Jutiviboonsuk, A. Stability of Mangiferin in Lotion and its Antioxidant Activity / A. Jutiviboonsuk, W. Leeprechanon // *Key Engineering Materials*. – 2019. – Vol 819. – P. 79-84.
164. Khurana, R.K. Mangiferin: a promising anticancer bioactive / R.K. Khurana, R. Kaur, S. Lohan, K.K. Singh, B. Singh // *Pharmaceutical Patent Analyst*. – 2016. – Vol.5. – N.3. – P. 169–181.

165. Kumar, S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // *Molecular Biology and Evolution*. – 2016. – Vol.33. – Iss.7. – P. 1870-1874.

166. Lan, Z. Effects of radix *Hedysari* polysaccharides on immunological function and transplanted tumors in mice / Z. Lan [et al.] // *Zhongguo Yaoli Xuebao*. – 1987. – Vol. 8, № 3. – P. 275-277.

167. Leeprechanon, W. Quantitative Determination of Mangiferin Isolated from Leaves of *Mangifera indica* L. Variety Nam Doc Mai using HPTLC and Its DPPH Scavenging Activity / W. Leeprechanon, D.A. Jutiviboonsuk // *Proceedings of the 7th international conference of Suan Sunandha Rajabhat University*. – Bangkok, Thailand, – 2015 Apr 28-29. – Vol.1. – N6. – P. 163-173.

168. Li, Y. Studies on flavonoid constituents of *Hedysarum sikkimense* / Y. Li, J. Chen, X. Liao, H. Wang, S. Luo // *Zhongcaoyao*. – 2001. – Vol.32. – N 6. – P. 489-490.

169. Liu, P-L. *Hedysarum* L. (*Fabaceae: Hedysareae*) is not monophyletic - evidence from phylogenetic analyses based on five nuclear and five plastid sequences / P-L. Liu, J. Wen, L. Duan, E. Arsalan, K. Ertuğrul, Z-Y. Chang // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol.12. – N.1. – e0170596.

170. Liu, Y. Chemical analysis of the principal flavonoids of Radix *Hedysari* by HPLC / Y. Liu, Y.Y. Zhao, H.B. Chen, B. Wang, Q.Y. Zhang // *Nat Prod Commun*. – 2010. – Vol.5. – N4. – P. 541–544.

171. Liu, Y. Flavonoids of the roots of *Hedysarum kirghisorum* / Y. Liu, Y.Y. Zhao, G.Z. Tu, H.B. Chen // *Biochem Syst Ecol*. – 2005. – Vol.33. – P. 809–812.

172. Liu, Y. Isoflavonoids from *Hedysarum semenovii* / Y. Liu, L.Q. Hai, Y.Y. Zhao // *Chin Pharm J*. – 2009. – Vol.44. – P. 1533–1535.

173. Liu, Y. Quantification and stability studies on the flavonoids of Radix *Hedysari* / Y. Liu, H.B. Chen, Y.Y. Zhao, B. Wang, Q.Y. Zhang, L. Zhang, P.F. Tu // *J. Agric. Food Chem*. – 2006. – Vol.54. – P. 6634–6639.

174. Liu, Y. Studies on the constituents from the *Hedysarum kirghisorum* / Y. Liu, H.B. Chen, G.Z. Tu, Y.Y. Zhao // *Medicinal Plant Research and Traditional Chinese*

Medicine Modernization-Fourth National Symposium on Medicinal Botany and Herbal Medicine. – 2004. – P. 167-169.

175. Liu, Y. Study on chemical constituents and antioxidative activity of *Radix Hedysari* / Y. Liu, Z. Zhang, Q.Y. Zhang, X.P. Pu, Y.Y. Zhao // *China Pharm.* – 2010. – Vol.24. – P. 543–549.

176. Lotti, G. Analytical characteristics of *Leguminosae* seed oils / G. Lotti // *Ric. Sci., Rend. Sez. B.* – 1964. – Vol.42. – N.4. – P. 503-510.

177. Luo, F. Quantification and Purification of Mangiferin from Chinese Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars and Its Protective Effect on Human Umbilical Vein Endothelial Cells under H₂O₂-induced Stress / F. Luo, Q. Lv, Y. Zhao, G. Hu, G. Huang, J. Zhang, Ch. Sun, X. Li, K. Chen // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2012. – Vol.13. – N9. – P. 11260-11274.

178. Ma, X.Q. Chemical comparison of *Astragali radix* (*Huangqi*) from different regions of China / X.Q. Ma, J.A. Duan, D.Y. Zhu, T.X. Dong, K.W.K. Tsim // *Nat. Med.* – 2000. – Vol.54. – N5. – P. 213-218.

179. Masters, K-S. Xanthonones from fungi, lichens, and bacteria: the natural products and their synthesis / K-S. Masters, S. Bräse // *Chem Rev.* – 2012. – Vol. 112(7). –P.3717-3776.

180. Mendoza-Sarmiento, G. A combined experimental–theoretical study of the acid-base behavior of mangiferin: implications for its antioxidant activity / G. Mendoza-Sarmiento, A. Rojas-Hernández, A. Galano, A. Gutiérrez // *RSC Advances.* – 2016. – Vol.6. – N56. – P. 51171–51182.

181. Mengwasser, J.H. Lead compounds from nature: Synthesis of natural xanthonones and chroman aldehydes that inhibit HIV-1 / J.H. Mengwasser. Iowa: Iowa State University. – 2011. – P. 1-103.

182. Mizuno, T. Phenolic compounds from *Iris rossii*, and their chemotaxonomic and systematic significance / T. Mizuno, Y. Okuyama, T. Iwashina // *Biochemical Systematics and Ecology.* – 2012. – Vol. 44. – P. 157-160.

183. Morton, D.A. The xanthone effect - centuries of science simplified / D.A. Morton. – Sound Concepts, Inc. – 2005. – P. 54.

184. Nafisi, H. *Hedysarum alamutense* (Fabaceae-Hedysareae), a new species from Iran, and its phylogenetic position based on molecular data / H. Nafisi, S. Kazempour-Osaloo, V. Mozaffarian, M. Amini-Rad // Turk. J. Bot. – 2019. – Vol.43. – P.386-394.
185. Nafisi, H. Molecular phylogeny and divergence times of the genus *Hedysarum* (Fabaceae) with special reference to section *Multicaulia* in Southwest Asia / H. Nafisi, S. Kazempour-Osaloo, V. Mozaffarian, G.M. Schneeweiss // Plant Systematics and Evolution. – 2019. – Vol.305. – P.1001-1017.
186. Othman, S.N.N. In-Vitro Antioxidant and Cytotoxic Activities of Silver Nanoparticles of Mangiferin Isolated from *Mangifera indica* / S.N.N. Othman, M. Seka // Journal of Global Pharma Technology. – 2019. – Vol.11. – N6. – P. 10-15.
187. Padmapriya, K. Microwave assisted extraction of mangiferin from *Curcuma amada* / K. Padmapriya, A. Dutta, S. Chaudhuri, D. Dutta // 3 Biotech. – 2012. – N2. – P. 27-30.
188. Pardo-Andreu, G.L. Vimang (*Mangifera indica* L. extract) induces permeability transition in isolated mitochondria, closely reproducing the effect of mangiferin, Vimang's main component / G.L. Pardo-Andreu, D.J. Dorta, R. Delgado, Cavalheiro R.A., A.C. Santos, A. E. Vercesi, C. Curti // Chemico-Biological Interactions. – 2006. – Vol.159. – N2. – P. 141-148.
189. Peres, V. Naturally occurring penta-oxygenated, hexa-oxygenated and dimeric xanthenes: a literature survey / V. Peres, T.J. Nagem // Química Nova. – 1997. – Vol.20. – N4. – P. 388-397.
190. Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. – 2005. – Volume I. – 975 p.
191. Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. – 2010. – 2853p.
192. Ranjbar, M. Notes on the taxonomy of *Hedysarum* (Fabaceae) in Iran / M. Ranjbar, R. Karamian, M.R. Johartchi // Ann. Bot. Fenn. – 2006. – Vol.43. – P.152-155.
193. Rechenchoski, D.Z. Antiviral potential of mangiferin against poliovirus / D.Z. Rechenchoski, L.C. Faccin-Galhardi, A.P. Cunha, N.M.R. Pontes Silva, C. Nozawa,

R.E.L. Carvalho // International Journal of Pharmacological Research. – 2018. – Vol. 8. – N.4. – P.34-39.

194. Sánchez, G.M. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice / G.M. Sánchez, L. Re, A. Giuliani, A.J. Núñez-Sellés, G.P. Davison, O.S. León-Fernández // Pharmacological Research. – 2000. – Vol.42. – N6. – P. 565-573.

195. Saura-Calixto, F. Carbohydrates and other major constituents in Spanish sainfoin (*Hedysarum coronarium* L.) / F. Saura-Calixto // Agrochimica. – 1989. – Vol.23. – N2. – P. 95-103.

196. Serebryanaya F.K. Pharmacognostical Investigations of *Hedysarum caucasicum* Bieb. (*Fabaceae*) - An Ethnomedicinal Plant of Northern Caucasus, Russia, Determination of Mangiferin and Antibacterial Potentials / F.K. Serebryanaya, D.R. Imachueva, Z.A. Guseynova // Pharmacognosy Journal. – 2020. – Vol 12. – Issue 3. – P. 510-518.

197. Shamsuddin, A.M. Formulation and evaluation of antiaging cream containing mangiferin / A.M. Shamsuddin, M. Sekar, A.Z. Musa // Int. Res. J. Pharm. – 2018. – Vol.9 – N6. – P. 55-59.

198. Shashi, K.S. Antimicrobial evaluation of mangiferin and its synthesized analogues / K.S. Shashi, M.T. Rupali, K.S. Saurabh, C.D. Chhanda, K.P. Satyendra // Asian Pacific J. Tropical Biomedicine. – 2012. – Vol 2(2) Supplement. – P. S884-S 887.

199. Singh, R.M. Effect of mangiferin on Pharmacokinetic Antidiabetic and Hepatotoxicity of Pioglitazone in Albino Rats / R.M. Singh, A.R. Kulkarni, S.T. Shukla, K. Ganguly, K. Chaturvedi, V.N. Kulkarnil, R.K. Mishra, A. Gupta // Animal Biodiversity and Fisheries. – 2019. – P. 84-105.

200. Soltani, A. Carbohydrate metabolism of *Hedysarum coronarium* L. cultivated in the presence of sodium chloride / A. Soltani, M. Briens, M. Goas // C.R. Seances Acad. Sci. Ser. 3. – 1981. – Vol. 293. – N5. – P. 297-300.

201. Soltani, A. Nitrogen metabolism of *Hedysarum carnosum* desfontaines, growing in the presence of sodium chloride / A. Soltani, T. Bernard // C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. Ser. D. – 1977. – Vol. 284(3). – P. 175-178.

202. Souza, J.R.R. Transformation of angiferin to Norathyriol by Human Fecal Matrix in Anaerobic Conditions: Comprehensive NMR of the Xanthone Metabolites, Antioxidant Capacity, and Comparative Cytotoxicity Against Cancer Cell Lines / J.R.R. Souza, M.T.S. Trevisan, J.P.A. Feitosa, N.M.P.S. Ricardo, W.E. Hull, G. Erben, A. Breuer, E. Frei, C.M. Ulrich, R.W. Owen // Natural Product Communications. – 2020. – Vol.15. – N1. – P.1-13.

203. Tibe, O. Phenolics and condensed tannins from sulla (*Hedysarum coronarium*) leaves and their biological significance: diss. ... Master of Science degree in Chemistry. New Zealand: Massey University, 2003.

204. Toker, G. High performance liquid chromatographic analysis of rutin in plants. Part 1 / G. Toker, S. Turkoz, N. Erdemoglu // Pharmazie. – 1998. – Vol. 53(7). – P. 494-495.

205. Toker, G. The determination of rutin in some plants by ultra violet spectroscopy / G. Toker, S. Turkoz, B. Sener. // J. Fac. Pharm. Gazi Univ. – 1997. – Vol. 14(1). – P. 51-54.

206. Wang, R. Analysis of the constituents of *Hedysarum polybotrys* / R. Wang, Y. Chen // Lanzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban. – 1988. – Vol.24. – N 3. – P. 46-50.

207. Wang, W. A new natural product from the roots of *Hedysarum multijugum* / W. Wang, H. Liang, B. Wang, G.Z. Tu, H.B. Chen, Y.Y. Zhao // J Peking University (Health Sciences). – 2005. – Vol.37. – N5. – P.532-535.

208. Wang, W. Studies on flavonoid constituents of *Hedysarum multijugum* / W. Wang, H.B. Chen, W.M. Wang, Y.Y. Zhao // Acta Pharm Sinica. – 2002. – Vol.37. – P. 196–198.

209. Wang, W. Study on chemical constituents of *Hedysarum multijugum* / W. Wang, W. Chen, H.B. Chen, J.Q. Liu, Y.Y. Zhao // J Peking University (Health Sciences). – 2001. – Vol.33. – P. 205–208.

210. Wei, Y. Qualitative and Quantitative Evaluation of Phenolic Compounds in *Iris dichotoma* Pall. / Y. Wei, P. Shu, J. Hong, M. Qin // *Phytochemical Analysis*. – 2011. – Vol.23. – N3. – P.197-207.
211. Wilkinson, A.S. Estrogen modulation properties of mangiferin and quercetin and the mangiferin metabolite norathyriol / A.S. Wilkinson, M.-W. Taing, J.T. Pierson, C.-N. Lin, R.G. Dietzgen, P.N. Shaw, M.J. Gidley, G.R. Monteith, S.J. Roberts-Thomson, // *Food & Function*. – 2015. – Vol.6. N6. – P.1847–1854.
212. Wojciechowski, M.F. *Astragalus (Fabaceae)*: a molecular phylogenetic perspective / M.F. Wojciechowski // *Brittonia*. – 2005. – Vol.57. – P. 382-396.
213. Xing, G. Relation of free amino acids and astragalin-I in callus of *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz / G. Xing, J. Hao, L. Wang // *Lanzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*. – 1999. – Vol.35. – N4. – P. 90-93.
214. Xu, J.J. Chemical constituents of *Hedysarum austrosibiricum* B. Fedtsch / J.J. Xu, L.Q. Hai, X.Q. Wang, J.M. Chang, X. Zhang // *Huaxi Yaoxue Zazhi*. – 2005. – Vol.20. – P. 214–215.
215. Yang, M. Characterization of phenolic compounds in the crude extract of *Hedysarum multijugum* by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry / M. Yang, W. Wang, J.H. Sun, Y.Y. Zhao, H. Liang, D.A. Guo // *Rapid Commun Mass Spectrom*. – 2007. – Vol.21. – P. 3833–3841.
216. Zhang, Y.Y. Characterization and determination of the major constituents in *Belamcandae Rhizoma* by HPLC-DAD- ESI-MS / Y.Y. Zhang, Q. Wang, L.W. Qi, X.Y. Qin, M.J. Qin // *J. Pharm. Biomed. Anal*. – 2011. – Vol. 56. – N 2. – P. 304-314.
217. Zheng, H. Studies on radix hedysari (RH) in the Micang mountains of Wudu, Gansu Province. II. Effects of water extracts of RH roots on the immune function of organisms / H. Zheng. [et al.] // *Lanzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*. – 1991. Vol. 27, №1. – P. 82-85.
218. Zheng, S. Chemical constituents from the roots of *Hedysarum polybotrys* / S. Zheng, T. Wu, Z. Wang // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 2011. – №17. – P. 2350-2352.

ПРИЛОЖЕНИЯ**Приложение №1. Проект ФС «Копеечника кавказского трава»**

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия
142279, Московская область, Серпуховский район, рабочий пос. Оболенск, ГНЦ ПМ
наименование юридического лица, на имя которого выдано регистрационное удостоверение, адрес

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Копеечника кавказского трава
Hedysari caucasicum herba

ФС _____
Вводится впервые

Срок введения установлен
с «___» _____ 20__ г.

Срок действия
до «___» _____ 20__ г.

Собранная в фазу цветения и до начала плодоношения и высушенная трава многолетнего растения копеечника кавказского – *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., семейства бобовые – *Fabaceae*.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ**ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА**

СПЕЦИФИКАЦИЯ

Копеечника кавказского трава,
цельная, измельчённая и порошок «ангро»

Показатели	Методы	Нормы
Внешние признаки	Визуальный, органолептический	В соответствии с ФС
Микроскопические признаки	Микроскопический	В соответствии с ФС
Определение основных групп биологически активных веществ	ТСХ в соответствии с ФС	Зона адсорбции бледно-жёлтого цвета, меняющая окраску на желтую при обработке парами аммиака. Допускается обнаружение других зон
Влажность	ГФ РФ (ОФС.1.5.3.0007.15)	Не более 10 %
Зола общая	ГФ РФ (ОФС.1.2.2.2.0013.15)	Не более 6 %
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	ГФ РФ (ОФС.1.5.3.0005.15)	Не более 1,0 %
Измельчённость сырья		
<i>Цельное сырьё</i> частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 3 мм	ГФ РФ (ОФС.1.5.3.0004.15)	Не более 5 %
<i>Измельчённое сырьё</i> частицы, не проходящие сквозь сито с отверстиями размером 5 мм		Не более 5 %
частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм		Не более 5 %
<i>Порошок</i> частицы, не проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм		Не более 5 %
частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм		Не более 5 %
Посторонние примеси		
Потемневшие и почерневшие части травы – <i>цельное сырьё, измельчённое сырьё</i>		Не более 3 %
другие части растения, не соответствующие установленному описанию сырья – <i>цельное сырьё, измельчённое сырьё</i>	ГФ РФ (ОФС.1.5.3.0004.15)	Не более 2 %.
органическая примесь – <i>цельное сырьё, измельчённое сырьё</i>		Не более 1,5 %
минеральная примесь – <i>цельное сырьё, измельчённое сырьё, порошок</i>		Не более 1 %
Тяжёлые металлы и мышьяк	ГФ РФ (ОФС.1.5.3.0009.15)	В соответствии с ОФС.1.5.3.0009.15
Радионуклиды	ГФ РФ (ОФС.1.5.3.0001.15)	В соответствии с ОФС.1.5.3.0001.15

Показатели	Методы	Нормы
Остаточные количества пестицидов	ГФ РФ (ОФС.1.5.3.0011.15)	В соответствии с ОФС.1.5.3.0011.15
Микробиологическая чистота	ГФ РФ (ОФС.1.2.4.0002.15)	Категория 4Б
Количественное определение: содержание суммы ксантонов в пересчёте на мангиферина сухое сырье	Спектрофотметрический	Не менее 0,5 %
Упаковка, маркировка и транспортирование	ГФ РФ (ОФС.1.1.0019.15)	В соответствии с ОФС.1.1.0019.15
Хранение	ГФ РФ (ОФС.1.1.0011.15)	В соответствии с ОФС.1.1.0011.15

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырьё.* Цельные или частично измельчённые фрагменты побегов, черешков, листовых пластинок, а также элементов соцветия. Листья непарно-перистосложные, из 7–12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке. Соцветия кистевидные на длинных ножках, в 1,5-2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Край листа цельный, жилкование перисто-сетчатое. Листья с верхней и нижней стороны голые. Цвет с обеих сторон листьев светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, венчик фиолетовый, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Измельчённое сырьё. Кусочки стеблей, листьев различной формы, соцветий, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Цвет светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Порошок. Порошок светло-зелёного цвета, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Микроскопия. *Цельное, измельчённое сырьё.* Основными диагностическими признаками листа являются извилистостенные клетки эпидермиса, устьичные аппараты аномоцитного и анизоцитного типа, отсутствие трихом. Характерно наличие вместилищ и клеток-идиобластов с оранжевым содержимым, проводящая система пучкового типа, наличие 3-4 слоев клеток колленхимы, склеренхима развита над проводящими пучками(рис. 1).

Порошок. При рассмотрении микропрепаратов порошка видны фрагменты эпидермальных клеток с извилистыми антиклинальными стенками, устьичных аппаратов анизоцитного типа, фрагменты проводящих пучков, склеренхимных волокон, элементов сосудов ксилемы и ситовидных трубок флоэмы, а также друзов оксалата кальция.

склеренхимных волокон, элементов сосудов ксилемы и ситовидных трубок флоэмы, а также друз оксалата кальция.

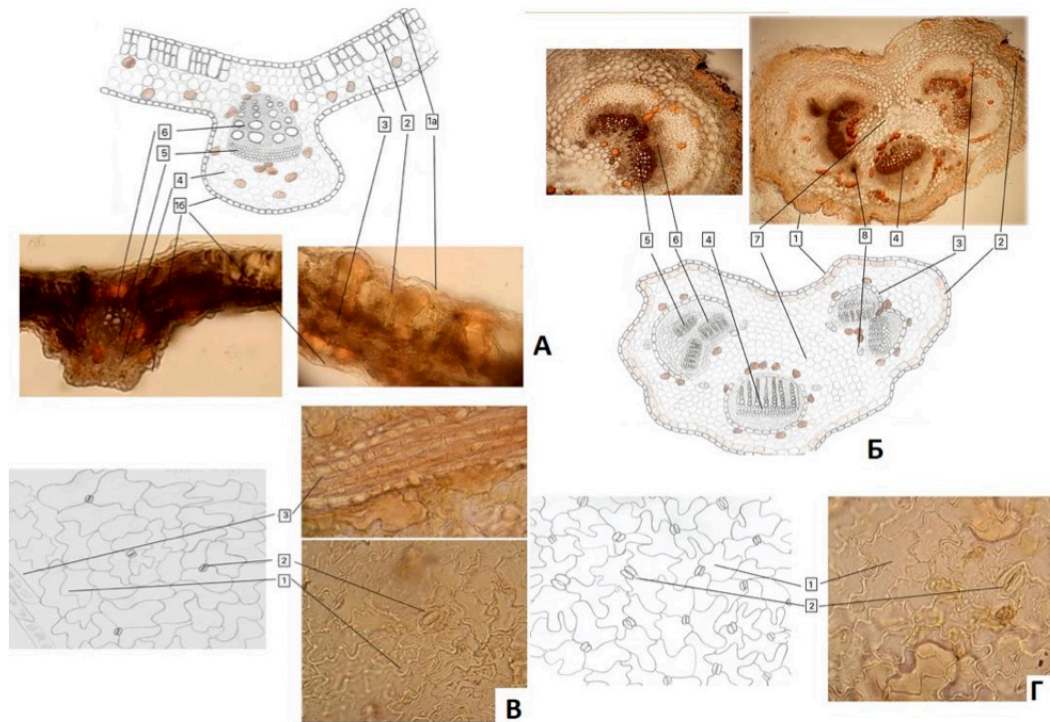


Рис. 1 – Анатомо-диагностические признаки травы копеечника кавказского

Условные обозначения:

А - поперечный срез листовой пластинки: 1а - верхняя эпидерма; 1б - нижняя эпидерма; 2 - палисадный мезофилл; 3 - губчатый мезофилл; 4 - колленхима; 5 - флоэма; 6 - ксилема;

Б - поперечный срез черешка листа: 1 - эпидерма; 2 - колленхима; 3 - перицикл; 4 - камбий; 5 - ксилема; 6 - флоэма; 7 - паренхима; 8 - друзы;

В - эпидерма верхняя листочка: 1 - основные клетки эпидермы; 2 - устьичные аппараты; 3 - жилки;

Г - эпидерма нижняя листочка: 1 - основные клетки эпидермы; 2 - устьичные аппараты.

Тонкослойная хроматография.

Раствор СО мангиферина.

Около 0,01 г (точная навеска) стандартного образца (СО) мангиферина («SigmaAldrich», кат. №M3547-100MG) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл спирта 70%, затем объем доводят тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А).

Раствор А хранят при температуре (2-10) °С.

1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, объем доводят спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор Б).

Раствор Б используют свежеприготовленным.

На линию старта хроматографической пластинки марки Кизельгель 60 (Силикагель 60) производства фирмы Мерк или аналогичной наносят микропипеткой последовательно 0,01 мл испытуемого раствора А (см. раздел «Количественное определение») и 0,01 мл раствора Б СО мангиферина.

Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе течение 15 мин, затем помещают в камеру, предварительно насыщенную парами смеси н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) в течение 30 мин, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет расстояние 10 см, пластинку вынимают из камеры, высушивают на воздухе в течение 5 минут. Пластинки проявляли опрыскиванием реактивами спиртовой раствор алюминия хлорида 1 %, парами аммиака и УФ-облучением.

На хроматограмме должна наблюдаться зона адсорбции бледно-жёлтого цвета при просматривании в дневном свете, меняющая окраску на бледно-зеленую окраску в УФ-свете, соответствующая зоне адсорбции СО мангиферина. Допускается наличие других зон адсорбции.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырьё, измельчённое сырьё, порошок* – не более 10 %.

Зола общая. *Цельное сырьё, измельчённое сырьё, порошок* – не более 6 %.

Зола, нерастворимая в растворе хлористоводородной кислоте. *Цельное сырьё, измельчённое сырьё, порошок* – не более 1,5 %.

Растений со стеблями, имеющими листья. *Цельное сырьё:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, не более 5 %.

Измельченность сырья (степень измельчения).

Измельчённое сырьё: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм, – не более 5 %, частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 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 5 %.

Посторонние примеси.

Другие части растения, не соответствующие установленному описанию сырья. Цельное сырьё, измельчённое сырьё – не более 5 %.

Потемневшие и почерневшие части травы. Цельное сырьё, измельчённое сырьё – не более 5 %.

Органическая примесь. Цельное сырьё, измельчённое сырьё – не более 1 %.

Минеральная примесь. Цельное сырьё, измельчённое сырьё, порошок – не более 1 %.

Тяжёлые металлы и мышьяк. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжёлых 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, измельчённое сырьё, порошок:* суммы ксантонов в пересчёте на мангиферин – не менее 0,5 %.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл спирта этилового 70% и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Охлаждают до комнатной температуры и выдерживают в течение 30 мин. Водно-спиртовое извлечение декантируют и фильтруют через вату в колбу для отгонки вместимостью 250 мл. Экстракцию повторяют 2 раза. Полученное водно-спиртовое извлечение упаривают на роторном испарителе под вакуумом при температуре (80-85) °С до водного остатка объемом около 50 мл, который, не охлаждая, количественно с помощью 50 мл воды очищенной переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл и охлаждают до комнатной температуры. Содержимое делительной воронки обрабатывают хлороформом 3 раза порциями по 30 мл. Хлороформные извлечения отбрасывают.

Водную фазу обрабатывают этилацетатом 4 раза порциями по 20 мл. Этилацетатные извлечения последовательно фильтруют через фильтр «красная лента» с 2 г натрия сульфата безводного в колбу для отгонки вместимостью 250 мл, фильтр ополаскивают 10 мл этилацетата. Извлечение упаривают на роторном испарителе под вакуумом при температуре (80-85) °С до полного удаления органического растворителя. Остаток смешивают с 30 мл спирта этилового 70 % и количественно с помощью того же спирта переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл. Объем раствора доводят до метки спиртом 70 % и перемешивают (раствор А).

3,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30 %, объем раствора доводят спиртом этиловым 70 % до метки и перемешивают (раствор Б).

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора Б на спектрофотометре при длине волны 365 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют спирт 70 %.

Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин и сухое сырье (X) в процентах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{325 \cdot a \cdot 3 \cdot (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора;

325 – удельный показатель поглощения ($A_{1\%}^{1\text{см}}$) мангиферина в условиях анализа;

а – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Примечания. Реактивы, приведенные в настоящей нормативной документации, описаны в ГФ РФ, ОФС.1.3.0001.15 «Реактивы. Индикаторы».

Генеральный директор
ЗАО «ВИФИТЕХ»



С.А. Постельников

ФИО

«06» июля 2020 г.

Приложение №2. Инструкция по сбору и сушке копеечника кавказского травы

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ГорБС ДФИЦ РАН, проф.

Асадулаев З.М.

«23» июнь 2020 г.



**ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ И СУШКЕ
КОПЕЕЧНИКА КАВКАЗСКОГО ТРАВЫ**

Пятигорск, 2020

Копеечник кавказский (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.) - многолетнее травянистое растение, 30—60 см высотой (рисунок 1). Стебли прямые или восходящие, не укороченные, олиственные. Листья непарно-перистосложные, из 7—12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке. Соцветия кистевидные на длинных ножках, в 1,5-2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Край листа цельный, жилкование перисто-сетчатое. Листья с верхней и нижней стороны голые. Цвет с обеих сторон листьев светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный. Цветоносы (без кисти) длиннее листьев, кисти не очень густые, около 23—35 цветка, нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Венчик темно-пурпуровый, 16—18 мм длиной, завязь пушистая или голая, боб содержит 3—6 члеников, голый или опушенный, членики боба продолговато-эллиптические, окраина их не широкая. Запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый. Цветет в июле.

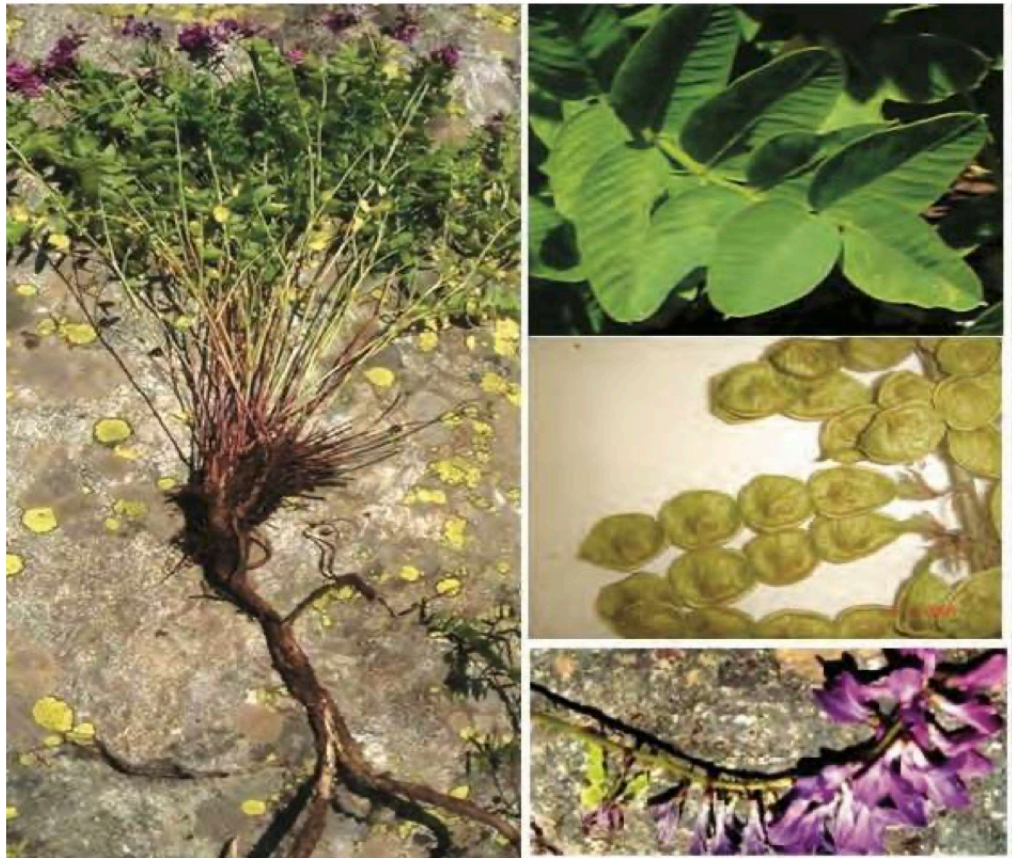


Рисунок 1 - Внешний вид *Hedysarum caucasicum* M. Bieb.

Во флоре Кавказа встречается 17 видов рода *Hedysarum* L., такие как *Hedysarum sericeum* M. Bieb., *Hedysarum elegans* Boiss. et Huet., *Hedysarum argenteum* M. Bieb., *Hedysarum Bordzilowskyi* Grossh., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum candidum* M. Bieb., *Hedysarum formosum* Fisch. et Mey. ex Basin., *Hedysarum varium* Willd., *Hedysarum ibericum* M. Bieb., *Hedysarum Turkewiczii* B. Fedtsch., *Hedysarum nitidum* Willd., *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum armenum* Boiss. et Tchih., *Hedysarum tauricum* Pall. ex Willd., *Hedysarum atropatanum* Bunge ex Boiss., *Hedysarum vegetius* B. Fedtsch., *Hedysarum grandiflorum* Pall.

Отличительные признаки некоторых видов рода *Hedysarum* L., произрастающих в Северо-Кавказском Федеральном округе, представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Сравнительная морфологическая характеристика видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Северного Кавказа.

№	Наименование вида	Жизненная форма	Листья	Элементы соцветия, строение цветка	Плод
1	2	3	4	5	6
1	Копеечник шелковистый— <i>Hedysarum sericeum</i> M. Bieb.	Бесстебельное, 10–20 см высотой.	Листочки продолговато яйцевидные, сверху голые, темно-зеленые, мелко бугорчатые, снизу густо серопушистые.	Кистеножки почти голые или прижато пушистые. Зубцы чашечки шиловидные, короче венчика. Венчик желтый или фиолетовый. Лодочка вдвое длиннее крыльев, короче флага.	Членики боба серопушистые, сетчато морщинистые, иногда с колочками.
2	Копеечник изящный— <i>Hedysarum elegans</i> Boiss. et Huét.	Бесстебельное, 10–20 см высотой.	Опушение черешков и кистеножек слегка оттопыренное, листочков и сверху и снизу прижато шелковисто серебристое. Листочки в числе 4–5 пар яйцевидно округлые, тупые.	Зубцы чашечки шиловидные, значительно длиннее трубочки. Венчик пурпуровый, на одну треть длиннее чашечки; лодочка немного короче флага и немного длиннее крыльев.	Членики боба бугорчато колочие, морщинистые.
3	Копеечник серебристый— <i>Hedysarum argentum</i> M. Bieb.	Бесстебельное, 20–40 см высотой.	Листья 3–6-парные. Листочки сверху прижато волосистые, снизу серебристо-густо-опушенные, продолговато яйцевидные, тупые.	Кистеножки обычно длиннее листьев, прижато серебристо-пушистые. Чашечка равна венчику или немного короче его. Венчик пурпуровый. Лодочка почти вдвое длиннее крыльев, немного короче флага или почти равна ему.	Членики боба бело-пушистые, сетчато морщинистые, иногда зубчатые
4	Копеечник Бордзильковский— <i>Hedysarum Bordzilowskyi</i> Grossh.	Бесстебельное, 3–11 см высотой.	Листья 2–3-парные, нижние иногда из одного листочка. Листочки сверху прижато волосистые, зеленые, снизу серебристо-шелковистые.	Кистеножки едва или почти вдвое длиннее листьев. Кисти 7–16-цветковые. Чашечка в 1 1/2–2 раза короче венчика. Венчик розовато-фиолетовый. Лодочка почти вдвое длиннее крыльев, почти равна флагу.	Членики боба пушистые, попеременно морщинистые
5	Копеечник дагестанский— <i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	Бесстебельный стержнекорневой многолетник.	Цветоносы с кистями длиной 10–25 см. Все части растения серого цвета от прижато опушения. Листья с обеих сторон покрыты шелковистым опушением, с 2–3-парными боковых листочков, продолговатые, заостренные, длиной до 18 мм и шириной до 8 мм. Верхушечный листочек более крупный. Прилистники сростливые.	Кисти многоцветковые, густые. Цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые. Чашечка в 4 раза короче венчика. Лодочка короче флага и в 2 раза длиннее крыльев.	Бобы из 2–4 члеников. Членики чечевицеобразные, бугорчатые
6	Копеечник белый— <i>Hedysarum candidum</i> M. Bieb.	Бесстебельное, 15–20 см высотой.	Листья из 2–5 пар яйцевидно овальных или округло овальных, туповатых, сверху прижато пушистых, зеленых, снизу серебристо-пушистых листочков. Прилистники сростливые.	Кистеножки равны листьям или длиннее их, пушистые. Кисти немного-цветковые, густые, впоследствии удлиняющиеся. Зубцы чашечки длинно шиловидные, равные венчику или часто превышающие его. Венчик бледно-желтый, иногда бледно пурпуровый; лодочка длиннее флага.	Членики боба сетчатые, бело-волосистые, зубчатые или бугорчатые.

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
7	Копеечник красивый— <i>Hedysarum</i> <i>formosum</i> Fisch. et Mey. ex Basin.	Стебли очень толстые, крепкие, до 5 мм в диаметре, прямые, слегка извилистые, ветвистые.	Прилистники крупные, ланцетные, нижние сросшиеся, верхние обычно свободные. Листья из 6–10 пар эллиптических, сверху голых, снизу пушистых листочков.	Кисти длиннее листьев. Венчик желтый. Лодочка равна крыльям, образует острый угол.	Членки эллиптические, сетчато морщинистые, пушистые, густо щетиноисто-иглолятые
8	Копеечник пестрый— <i>Hedysarum varium</i> Willd.	Стебли восходящие, многочисленные, ветвистые.	Листья из 3–5 пар продолговатых или эллиптических, тупых, реже островатых, сверху голых, снизу более или менее пушистых листочков.	Кисти густые, равные листьям или длиннее их. Чашечка значительно короче венчика; зубцы ее в 1/2 раза длиннее трубочки. Венчик желтый; лодочка на верхушке фиолетовая, равная крыльям, короче флага, на стиге закругленная.	Членки боба покрыты членистыми щетиноистыми волосками, равными почти половеине диаметра членника.
9	Копеечник грузинский— <i>Hedysarum ibericum</i> M. Bieb.	Почти голое зеленое растение. Стебли ветвистые, восходящие.	Листья из 4–8 пар эллиптических, сверху голых, снизу рассеянно прижато пушистых листочков.	Кисти не густые, 10–20-цветковые, длиннее листьев. Зубцы чашечки равны трубочке. Венчик пурпуровый. Лодочка почти равна флагу и немного длиннее крыльев.	Членки боба округлые или эллиптические, по краям с выдающейся сетью жилок, прижато пушистые, редко с колочками.
10	Копеечник Турквичи— <i>Hedysarum</i> <i>Turkewiczii</i> B. Fedtsch.	Высота до 50 см. Стебли многочисленные, прижато волосистые.	Прилистники ланцетные. Листочки 3–5- парные, яйцевидно-эллиптические, снизу серовато-пушистые.	Кисти длиннее листьев. Чашечка бело- волосистая. Венчик ярко пурпурово- фиолетовый. Флаг широкий, внезапно суженный в узкий ноготок.	Бобы густо коротко волосистые.
11	Копеечник яркий— <i>Hedysarum nitidum</i> Willd.	Все растение густо серебристо-пушистое. Стебли прямые или восходящие	Листья из 5–7 пар эллиптических или эллиптически-линейных, туповатых, с обеих сторон пушистых листочков.	Кисти длиннее листьев, густые. Чашечка короче венчика; зубцы ее длиннее трубочки. Венчик желтый; лодочка и крылья на верхушке иногда пурпуровые.	Членки боба густо прижато пушистые, круглые, сетчатые, иногда с рассеянными щетинками.
12	Копеечник кавказский— <i>Hedysarum</i> <i>caucasicum</i> M. Bieb.	Растение высокое, 30–50 см высотой. Нижние междоузлия не укороченные.	Листья рассеяны по всему стеблю, из 7–12 пар эллиптических или продолговатых листочков с остроконечием на верхушке.	Кисти на длинных ножках, в 1/2–2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Венчик темно-пурпуровый.	Членки боба не крупные, гладкие или слегка зубчатые.

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
13	Копеечник армянский— <i>Hedysarum armenum</i> Boiss. et Tchih.	Растение невысокое, 10–20 см высотой. Нижние междоузлия стеблей укороченные.	Листья из 10–13 пар эллиптических или продолговато эллиптических, темно-зеленых листочков.	Кисти на крепких ножках, длиннее листьев, густые. Зубцы чашечки обычно очень короткие, нижние вдвое короче трубочки, верхние еще короче. Венчик темно-пурпуровый.	Членки боба рассеянно прижато пушистые, довольно крупные.
14	Копеечник крымский— <i>Hedysarum taigrum</i> Pall. ex Willd.	Стебли ветвистые, восходящие, 20–35 см высотой.	Листочки очень узкие, линейно-ланцетные, в числе 6–10 пар, пушистые или голые.	Кисти длиннее листьев, сначала сжатые, позже удлиненные. Чашечка в 3–4 раза короче венчика. Зубцы ее вдвое длиннее трубочки. Венчик пурпуровый.	Членки боба округло эллиптические, беловолосистые, невооруженные, сегчато морщинистые.
15	Копеечник азербайджанский— <i>Hedysarum atrorotatum</i> Bunge ex Boiss.	Стебли 30–60 см высотой, белые, прямые, рассеянно прижато волосистые.	Листья 6–10-парные; листочки продолговато линейные, с обеих сторон, но снизу гуще прижато серо-волосистые.	Кистеножки длиннее листьев; кисти густые, многоцветковые, при плодах удлиняющиеся. Зубцы чашечки из треугольного основания шиловидные, немного длиннее трубочки. Венчик ярко пурпуровый, 15–18 мм длиной, втрое длиннее чашечки.	Членки боба округлые, по поверхности густо, но не длинно пушисто волосистые.
16	Копеечник рослый— <i>Hedysarum vegetus</i> B. Fedtsch.	Все растение мелко густо прижато почти серебристо-пушистое. Стебли 20–40 см высотой.	Листья 5–7-парные; листочки несколько расставленные, узко линейные или эллиптически-линейные, на середине листа 18–25 мм длиной, 1,5–3 мм шириной. Кистеножки немного длиннее листьев.	Кисти не густые, 20–30-цветковые, при плодах мало удлиняющиеся. Зубцы чашечки шиловидные, в 3–4 раза длиннее трубочки. Венчик около 10 мм длиной, серовато-розоватый.	Членки боба яйцевидные, по поверхности оттопырено густо и длинно мягко щетинисто волосистые
17	Копеечник крупноцветковый— <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	Многолетник 20–40 см высотой. Бесстебельное или почти бесстебельное.	Прилистники крупные, перепончатые, сросшиеся, бурые, рассеянно-волосистые. Листья на длинных черешках, которые, как и оси, коротко прижато-волосистые и длинно отстоящее опушенные. Листочки 1–4-парные, яйцевидные или широко-эллиптические, крупные, 20–30 мм длиной, 10–18 мм шириной, сверху слабо волосистые, реже голые, снизу густо серебристо-шелковистые.	Цветоносы слегка длиннее листьев, толстые, отстоящие волосистые. Кисти многоцветковые, с отклоненными цветками. Прицветники ланцетные, светло-бурые, волосистые, чашечка колокольчатая, короче венчика, зубцы ее линейно-шиловидные, густо оттопыренно-волосистые, в несколько раз длиннее трубки. Венчик 20–25 мм длиной, желтый или пурпурово-фиолетовый, флаг округло-обратно-яйцевидный, 18–25 мм длиной, наверху выемчатый, в основании суженный в короткий ноготок, длиннее лодочки, крылья 15–17 мм длиной, лодочка 17–20 мм длиной, по нижнему краю округло-угловая.	Бобы 2–5-членистые, членки округлые, густо беловолосистые, сегчато-ребристые, по краям с шипиками, загнутыми внутрь

Ареал произрастания копеечника кавказского в России занимает Кавказ: Предкавказье, Западное и Восточное Закавказье, Дагестан. Заготовку сырья рекомендуется проводить в условиях интродукции. Большой вклад по работам интродукции видов рода копеечник, выполнен в ботанических садах: Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений, Северо-Западном регионе (Санкт-Петербург), Западной Сибири. Интродукционные исследования копеечника кавказского проводились на базе Горного Ботанического сада Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук г. Махачкала (база Цудахар, база Гуниб).

В качестве сырья у копеечника кавказского используют траву с соцветиями. Заготовку сырья рекомендуем проводить после цветения в июле – августе месяцах, срезая ножами или секаторами на высоте 10-20 см от поверхности почвы – в зоне ветвления цветоносных стеблей. Собранные сырье укладывают рыхлым слоем в открытую тару (ящики, плетенные корзины) или тканевые мешки. При сборе бригадным методом и при перевозке на дальние расстояния кузов машины должен быть оборудован стеллажами или решетками, на которые раскладывают траву копеечника кавказского. Сушат траву копеечника кавказского следующим образом: сырье раскладывают тонким слоем на ткани (брезенте) или бумаге на чердаках с хорошей вентиляцией или под навесами, периодически перемешивают при температуре 35-40°C. В первые дни сырье ежедневно переворачивают для обеспечения его равномерной сушки. Сушат в течение 6-7 дней в защищенном от солнечного света, хорошо продуваемом ветром, месте. Возможна сушка в сушилках при температуре не выше 40°C.

Сырье представляет собой цельное или частично измельченное фрагменты побегов, черешков, листовых пластинок, а также элементов соцветия. Листья непарно-перистосложные, из 7-12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке.

Соцветия кистевидные на длинных ножках, в 1,5-2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Край листа цельный, жилкование перисто-сетчатое. Листья с верхней и нижней стороны голые. Цвет с обеих сторон листьев светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, венчик фиолетовый, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Измельчённое сырьё. Кусочки стеблей, листьев различной формы, соцветий, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Цвет светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Порошок. Порошок светло-зелёного цвета, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Согласно требованиям фармакопейной статьи показатели качества, следующие:

Цельное сырьё. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин – не менее 0,5%; влажность – не более 10%; зола общая – не более 5%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; измельченность сырья – частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм - не более 5%; другие части растения – не более 0,5%; сырьё, изменившее окраску (пожелтевшее и почерневшее) – не более 2%; органическая примесь – не более 1,5%; минеральная примесь – не более 0,5%, микробиологическая чистота – категория 4Б.

Измельченное сырьё. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин – не менее 0,5%; влажность – не более 10%; зола общая – не более 5%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; измельченность сырья – частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм, – не более 6%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 6%; другие части растения – не более 0,5%; сырьё, изменившее окраску (пожелтевшее и почерневшее) – не

более 2%; органическая примесь – не более 1,5%; минеральная примесь – не более 0,5%, микробиологическая чистота – категория 4Б.

Порошок. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин – не менее 0,5%; влажность – не более 10%; зола общая – не более 5%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; измельченность сырья – 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 5%; минеральная примесь – не более 1%, микробиологическая чистота – категория 4Б.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Траву копеечника кавказского упаковывают в мешки тканевые продуктовые по ГОСТ 30090-93 не более 15 кг. Тара должна быть чистой, сухой и однородной для всей партии сырья.

В каждую транспортную упаковку должен быть вложен упаковочный лист с указанием места, времени сбора и наименования сырья. Маркировка транспортной упаковки должна соответствовать ГОСТ 14192-96.

Транспортируют траву копеечника кавказского в соответствии с ГОСТ 6077-80 в сухих, чистых, не имеющих постороннего запаха, крытых транспортных средствах.

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранить сырье необходимо на стеллажах в защищенных от прямых солнечных лучей, сухих, чистых, хорошо вентилируемых складских помещениях, не зараженных амбарными вредителями по ГОСТ 6077-80.

Срок годности – 2 года.

Разработчики:

Доцент кафедры фармакогнозии,
ботаники и технологии фитопрепаратов
Пятигорского медико-фармацевтического
института – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России, к. фарм. н., доцент



Ф.К. Серебряная

Аспирант кафедры фармакогнозии,
ботаники и технологии фитопрепаратов
Пятигорского медико-фармацевтического
института – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России



Д.Р. Имачуева

Приложение №3. Инструкция по сбору и сушке копеечника кавказского травы



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор по производству

ООО «Витаукт-пром»

Корочинский А.В.

«10» июня 2020 г.

**ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ И СУШКЕ
КОПЕЕЧНИКА КАВКАЗСКОГО ТРАВЫ**

Копеечник кавказский (*Hedysarum caucasicum* M.Bieb.) - многолетнее травянистое растение, 30—60 см высотой (рисунок 1). Стебли прямые или восходящие, не укороченные, олиственные. Листья непарно-перистосложные, из 7—12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке. Соцветия кистевидные на длинных ножках, в 1,5-2 раза длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Край листа цельный, жилкование перисто-сетчатое. Листья с верхней и нижней стороны голые. Цвет с обеих сторон листьев светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный. Цветоносы (без кисти) длиннее листьев, кисти не очень густые, около 23—35 цветка, нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Венчик темно-пурпуровый, 16—18 мм длиной, завязь пушистая или голая, боб содержит 3—6 члеников, голый или опушенный, членики боба продолговато-эллиптические, окрайина их не широкая. Запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый. Цветет в июле.

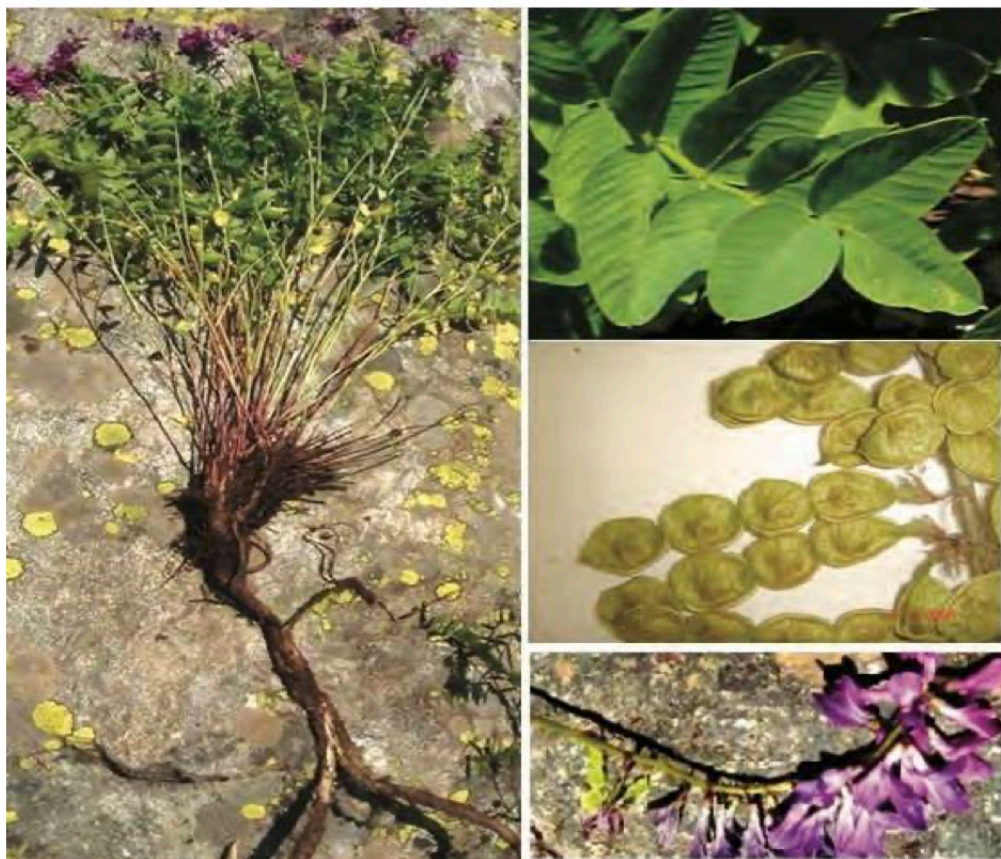


Рисунок 1 - Внешний вид *Hedysarum caucasicum* M.Bieb.

Во флоре Кавказа встречается 17 видов рода *Hedysarum* L., такие как *Hedysarum sericeum* M.Bieb., *Hedysarum elegans* Boiss. et Huet., *Hedysarum argenteum* M.Bieb., *Hedysarum Bordzilowskyi* Grossh., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum candidum* M.Bieb., *Hedysarum formosum* Fisch. et Mey. ex Basin., *Hedysarum varium* Willd., *Hedysarum ibericum* M.Bieb., *Hedysarum Turkewiczii* B.Fedtsch., *Hedysarum nitidum* Willd., *Hedysarum caucasicum* M.Bieb., *Hedysarum armenum* Boiss. et Tchih., *Hedysarum tauricum* Pall. ex Willd., *Hedysarum atropatanum* Bunge ex Boiss., *Hedysarum vegetius* B.Fedtsch., *Hedysarum grandiflorum* Pall.

Отличительные признаки некоторых видов рода *Hedysarum* L., произрастающих в Северо-Кавказском Федеральном округе, представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Сравнительная морфологическая характеристика видов рода *Hedysarum* L., произрастающих на территории Северного Кавказа.

№	Наименование вида	Жизненная форма	Листья	Элементы соцветия, строение цветка	Плод
1	2 Копеечник шелковистый- <i>Hedysarum sericeum</i> M. Vieb.	3 Бесстебельное, 10-20 см высотой.	4 Листочки продолговато яйцевидные, сверху голые, темно-зеленые, мелко бугорчатые, снизу густо серо-пушистые.	5 Кистеножки почти голые или прижато пушистые. Зубцы чашечки шиловидные, короче венчика. Венчик желтый или фиолетовый. Лодочка вдвое длиннее крыльев, короче флага.	6 Членики боба серопушистые, сетчато морщинистые, иногда с колочками.
2	Копеечник изящный- <i>Hedysarum elegans</i> Boiss. et Huet.	Бесстебельное, 10-20 см высотой.	Опушение черешков и кистеножек слегка оттопыренное, листочков и сверху и снизу в числе 4-5 пар яйцевидно округлые, тупые.	Зубцы чашечки шиловидные, значительно длиннее трубочки. Венчик пурпуровый, на одну треть длиннее чашечки; лодочка немного короче флага и немного длиннее крыльев.	Членики боба бугорчато колочие, морщинистые.
3	Копеечник серебристый- <i>Hedysarum argenteum</i> M. Vieb.	Бесстебельное, 20-40 см высотой.	Листья 3-6-парные. Листочки сверху прижато волосистые, снизу серебристо-густо-опушенные, яйцевидные, тупые.	Кистеножки обычно длиннее листьев, прижато серебристо-пушистые. Чашечка равна венчику или немного короче его. Венчик пурпуровый. Лодочка почти вдвое длиннее крыльев, немного короче флага и почти равна ему.	Членики боба бело-пушистые, сетчато морщинистые, иногда зубчатые
4	Копеечник Бордзильовский- <i>Hedysarum bordzilowskyi</i> Grossh.	Бесстебельное, 3-11 см высотой.	Листья 2-3-парные, нижние иногда из одного листочка. Листочки сверху прижато волосистые, зеленые, снизу серебристо-шелковистые.	Кистеножки едва или почти вдвое длиннее листьев. Кисти 7-16-цветковые. Чашечка в 1/2-2 раза короче венчика. Венчик розовато-фиолетовый. Лодочка почти вдвое длиннее крыльев, почти равна флагу.	Членики боба пушистые, поперечно морщинистые
5	Копеечник дагестанский- <i>Hedysarum daghestanicum</i> Rupr. ex Boiss.	Бесстебельный стержнекорневой многолетник.	Цветоносы с кистями длиной 10-25 см. Все части растения серого цвета от прижатого опушения. Листья с обеих сторон покрыты шелковистым опушением, с 2-3-парами боковых листочков, продолговатые, заостренные, длиной до 18 мм и шириной до 8 мм. Верхушечный листочек более крупный. Прилистники сросшиеся.	Кисти немногочетковые, густые. Цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые. Чашечка в 4 раза короче венчика. Лодочка короче флага и в 2 раза длиннее крыльев.	Бобы из 2-4 члеников. Членики чечевицеобразные, бороздавчатые
6	Копеечник белый- <i>Hedysarum candidum</i> M. Vieb.	Бесстебельное, 15-20 см высотой.	Листья из 2-5 пар яйцевидно овальных или округло овальных, туповатых, сверху прижато пушистых, зеленых, снизу серебристо-пушистых листочков. Прилистники сросшиеся.	Кистеножки равны листьям или длиннее их, пушистые. Кисти немного-цветковые, густые, впоследствии удлиняющиеся. Зубцы чашечки длинно шиловидные, равные венчику или часто превышающие его. Венчик бледно-желтый, иногда бледно пурпуровый; лодочка длиннее флага.	Членики боба сетчатые, бело-волосистые, зубчатые или бугорчатые.

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
7	Копеечник красивый— <i>Hedysarum</i> <i>fortosum</i> Fisch. et Mey. ex Basin.	Стебли толстые, крепкие, до 5 мм в диаметре, прямые, слегка извилистые, ветвистые.	Прилистники крупные, ланцетные, нижние сросшиеся, верхние обычно продолговато листья из 6–10 пар продолговато эллиптических, сверху голых, снизу пушистых листочков.	Кисти длинное листьев. Венчик желтый. Лодочка равна крыльям, образует острый угол.	Членики эллиптические, сегчато морщинистые, пушистые, густо щетиноисто-иглочатые
8	Копеечник пестрый— <i>Hedysarum</i> <i>variarum</i> Willd.	Стебли восходящие, многочисленные, ветвистые.	Листья из 3–5 пар продолговатых или эллиптических, тупых, реже островатых, сверху голых, снизу более или менее пушистых листочков.	Кисти густые, равные листьям или длиннее их. Чашечка значительно короче венчика; зубцы ее в 1/2 раза длиннее трубочки. Венчик желтый; лодочка на верхушке фиолетовая, равная крыльям, короче флага, на стиге закругленная.	Членики боба покрыты членистыми щетиноистыми волосками, равными почти половине диаметра членика.
9	Копеечник грузинский— <i>Hedysarum</i> <i>ibericum</i> M. Bieb.	Почти голое зеленое растение. Стебли ветвистые, восходящие.	Листья из 4–8 пар эллиптических, сверху голых, снизу рассеянно прижато пушистых листочков.	Кисти не густые, 10–20-цветковые, длиннее листьев. Зубцы чашечки равны трубочке. Венчик пурпуровый. Лодочка почти равна флагу и немного длиннее крыльев.	Членики боба округлые или эллиптические, по краям с выдающейся сетью жилок, прижато пушистые, редко с колочками.
10	Копеечник Турквенча— <i>Hedysarum</i> <i>Turkewiczii</i> V. Fedtsch.	Высота до 50 см. Стебли многочисленные, прижато волосистые.	Прилистники ланцетные. Листочки 3–5- парные, яйцевидно-эллиптические, снизу серовато-пушистые.	Кисти длинное листьев. Чашечка бело- волосистая. Венчик ярко пурпурово- фиолетовый. Флаг широкий, внезапно суженный в узкий ноготок.	Бобы густо коротко волосистые.
11	Копеечник яркий— <i>Hedysarum</i> <i>nitidum</i> Willd.	Все растение густо серебристо-пушистое. Стебли прямые или восходящие	Листья из 5–7 пар эллиптических или эллиптически-линейных, туповатых, с обеих сторон пушистых листочков.	Кисти длинное листьев, густые. Чашечка короче венчика; зубцы ее длиннее трубочки. Венчик желтый; лодочка и крылья на верхушке иногда пурпуровые.	Членики боба густо прижато пушистые, круглые, сетчатые, иногда с рассеянными щетинками.
12	Копеечник кавказский— <i>Hedysarum</i> <i>caucasicum</i> M. Bieb.	Растение высокое, 30–50 см высотой. Нижние междоузлия не укороченные.	Листья рассеяны по всему стеблю, из 7–12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке.	Кисти на длинных ножках, в 1/2–2 длиннее листьев, не очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Венчик темно-пурпуровый.	Членики боба не крупные, гладкие или слегка зубчатые.

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
13	Копеечник армянский— <i>Hedysarum armenum</i> Boiss. et Tchih.	Растение невысокое, 10–20 см высотой. Нижние междоузлия стеблей укороченные.	Листья из 10–13 пар эллиптических или продолговато эллиптических, темно-зеленых листочков.	Кисти на крепких ножках, длиннее листьев, густые. Зубцы чашечки обычно очень короткие, нижние вдвое короче трубочки, верхние еще короче. Венчик темно-пурпуровый.	Членики боба рассеянно прижато пушистые, довольно крупные.
14	Копеечник крымский— <i>Hedysarum tauricum</i> Pall. ex Willd.	Стебли ветвистые, восходящие, 20–35 см высотой.	Листочки очень узкие, линейно-ланцетные, в числе 6–10 пар, пушистые или голые.	Кисти длиннее листьев, сначала сжатые, позже удлиненные. Чашечка в 3–4 раза короче венчика. Зубцы ее вдвое длиннее трубочки. Венчик пурпуровый.	Членики боба округло эллиптические, бело-пушистые, невооруженные, сетчато морщинистые.
15	Копеечник азербайджанский— <i>Hedysarum</i> <i>atropatanum</i> Bunge ex Boiss.	Стебли 30–60 см высотой, белые, прямые, рассеянно прижато волосистые.	Листья 6–10-парные; листочки продолговато линейные, с обеих сторон, но снизу гуще прижато серо-волосистые.	Кистеножки длиннее листьев; кисти густые, многоцветковые, при плодах удлиняющиеся. Зубцы чашечки из треугольного основания шиловидные, немного длиннее трубочки. Венчик ярко пурпуровый, 15–18 мм длиной, втрое длиннее чашечки.	Членики боба округлые, по поверхности густо, но не длинно пушисто волосистые.
16	Копеечник рослый— <i>Hedysarum vegetius</i> B. Fedtsch.	Все растение мелко густо прижато почти серебристо-пушистое. Стебли 20–40 см высотой.	Листья 5–7-парные; листочки несколько расставленные, узко линейные или эллиптически-линейные, на середине листа 18–25 мм длиной, 1,5–3 мм шириной. Кистеножки немного длиннее листьев.	Кисти не густые, 20–30-цветковые, при плодах мало удлиняющиеся. Зубцы чашечки шиловидные, в 3–4 раза длиннее трубочки. Венчик около 10 мм длиной, серовато-розоватый.	Членики боба яйцевидные, по поверхности оттопырено густо и длинно мягко шетинисто волосистые.
17	Копеечник крупноцветковый— <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	Многолетник 20–40 см высотой. Бесстебельное или почти бесстебельное.	Прилистники крупные, перепончатые, сросшиеся, бурые, рассеянно-волосистые. Листья на длинных черешках, которые, как и оси, коротко прижато-волосистые и длинно отстоящие опушенные. Листочки 1–4-парные, яйцевидные или широко-эллиптические, крупные, 20–30 мм длиной, 10–18 мм шириной, сверху слабо волосистые, реже голые, снизу густо серебристо-шелковистые.	Цветonoсы слегка длиннее листьев, толстые, отстоящие волосистые. Кисти многоцветковые, с отклоненными цветками. Прицветники ланцетные, светло-бурые, волосистые, чашечка колокольчатая, короче венчика, зубцы ее линейно-шиловидные, густо оттопырено-волосистые, в несколько раз длиннее трубки. Венчик 20–25 мм длиной, желтый или пурпурово-фиолетовый, флаг округло-обратно-яйцевидный, 18–25 мм длиной, наверху выемчатый, в основании суженный в короткий ноготок, длиннее лодочки, крылья 15–17 мм длиной, лодочка 17–20 мм длиной, по нижнему краю округло-угловая.	Бобы 2–5-членные, членики округлые, густо беловолосистые, сетчато-ребристые, по краям с шипиками, загнутыми внутрь

Ареал произрастания копеечника кавказского в России занимает Кавказ: Предкавказье, Западное и Восточное Закавказье, Дагестан. Заготовку сырья рекомендуется проводить в условиях интродукции. Большой вклад по работам интродукции видов рода копеечник, выполнен в ботанических садах: Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений, Северо-Западном регионе (Санкт-Петербург), Западной Сибири. Интродукционные исследования копеечника кавказского проводились на базе Горного Ботанического сада ДНЦ РАН г. Махачкала (база Цудахар, база Гуниб).

В качестве сырья у копеечника кавказского используют траву с соцветиями. Заготовку сырья рекомендуем проводить после цветения в июле – августе месяцах, срезая ножами или секаторами на высоте 10-20 см от поверхности почвы – в зоне ветвления цветоносных стеблей. Собранный сырьё укладывают рыхлым слоем в открытую тару (ящики, плетенные корзины) или тканевые мешки. При сборе бригадным методом и при перевозке на дальние расстояния кузов машины должен быть оборудован стеллажами или решетками, на которые раскладывают траву копеечника кавказского. Сушат траву копеечника кавказского следующим образом: сырьё раскладывают тонким слоем на ткани (брезенте) или бумаге на чердаках с хорошей вентиляцией или под навесами, периодически перемешивают при температуре 35-40°C. В первые дни сырьё ежедневно переворачивают для обеспечения его равномерной сушки. Сушат в течение 6-7 дней в защищенном от солнечного света, хорошо продуваемом ветром, месте. Возможна сушка в сушилках при температуре не выше 40°C.

Сырьё представляет собой цельное или частично измельчённое фрагменты побегов, черешков, листовых пластинок, а также элементов соцветия. Листья непарно-перистосложные, из 7–12 пар эллиптических или яйцевидно продолговатых листочков с остроконечием на верхушке. Соцветия кистевидные на длинных ножках, в 1,5-2 раза длиннее листьев, не

очень густые. Нижний зубец чашечки равен трубочке, остальные короче. Край листа цельный, жилкование перисто-сетчатое. Листья с верхней и нижней стороны голые. Цвет с обеих сторон листьев светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, венчик фиолетовый, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Измельчённое сырьё. Кусочки стеблей, листьев различной формы, соцветий, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 5 мм. Цвет светло-зелёный, зелёный или желтовато-зелёный, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Порошок. Порошок светло-зелёного цвета, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, запах слабо-ароматный, вкус водного извлечения горьковатый.

Согласно требованиям фармакопейной статьи показателя качества, следующие:

Цельное сырьё. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин – не менее 0,5%; влажность – не более 10%; зола общая – не более 5%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; измельченность сырья – частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм - не более 5%; другие части растения – не более 0,5%; сырьё, изменившее окраску (пожелтевшее и почерневшее) – не более 2%; органическая примесь – не более 1,5%; минеральная примесь – не более 0,5%, микробиологическая чистота – категория 4Б.

Измельченное сырьё. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин – не менее 0,5%; влажность – не более 10%; зола общая – не более 5%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; измельченность сырья – частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм, – не более 6%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 6%; другие части растения – не более 0,5%; сырьё, изменившее окраску (пожелтевшее и почерневшее) – не

более 2%; органическая примесь – не более 1,5%; минеральная примесь – не более 0,5%, микробиологическая чистота – категория 4Б.

Порошок. Содержание суммы ксантонов в пересчете на мангиферин – не менее 0,5%; влажность – не более 10%; зола общая – не более 5%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 1%; измельченность сырья – 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 5%; минеральная примесь – не более 1%, микробиологическая чистота – категория 4Б.

Упаковка, маркировка и транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Траву копеечника кавказского упаковывают в мешки тканевые продуктовые по ГОСТ 30090-93 не более 15 кг. Тара должна быть чистой, сухой и однородной для всей партии сырья.

В каждую транспортную упаковку должен быть вложен упаковочный лист с указанием места, времени сбора и наименования сырья. Маркировка транспортной упаковки должна соответствовать ГОСТ 14192-96.

Транспортируют траву копеечника кавказского в соответствии с ГОСТ 6077-80 в сухих, чистых, не имеющих постороннего запаха, крытых транспортных средствах.

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранить сырье необходимо на стеллажах в защищенных от прямых солнечных лучей, сухих, чистых, хорошо вентилируемых складских помещениях, не зараженных амбарными вредителями по ГОСТ 6077-80.

Срок годности – 2 года.

Разработчики:

Доцент кафедры фармакогнозии,
ботаники и технологии фитопрепаратов
Пятигорского медико-фармацевтического
института – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России, к. фарм. н., доцент



Ф.К. Серебряная

Аспирант кафедры фармакогнозии,
ботаники и технологии фитопрепаратов
Пятигорского медико-фармацевтического
института – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России



Д.Р. Имачуева

Приложение №4. Акты внедрения и апробации

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ЗАО «ВИФИТЕХ»

142279 Московская область, Серпуховский район,
рабочий посёлок Оболенск, ГНЦ ПМБ, корп. 84)

С.А. Постельников

2020 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: Фармакопейная статья (ФС) «Копеечника кавказского трава».

Авторы (разработчики): ИМАЧУЕВА Д.Р. – аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института (ПМФИ) – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ России, СЕРЕБРЯНАЯ Ф.К. – доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ России, кандидат фармацевтических наук.

Источник информации: Материалы диссертации Д.Р. ИМАЧУЕВОЙ «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода копеечник (*Hedysarum* L.), произрастающих на территории Северного Кавказа» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия.

Где внедрено: Фармацевтическое предприятие ЗАО «ВИФИТЕХ».

Цель внедрения: Расширение ассортимента выпускаемой ЗАО «ВИФИТЕХ» продукции растительными препаратами противовирусного действия.

Ответственный за внедрение: Начальник лаборатории ОКК ЗАО «ВИФИТЕХ», доктор фармацевтических наук, профессор РАН И.Н. Зилфикаров.

Эффективность и значимость внедрения: ФС «Копеечника кавказского трава» является нормативной документацией, регламентирующей качество лекарственного растительного сырья, источника мангиферина и его фитопрепаратов, которые планируется ввести в производственную практику ЗАО «ВИФИТЕХ».

Результаты внедрения: Методики контроля качества лекарственного растительного сырья, предложенные в проекте ФС «Копеечника кавказского трава», успешно апробированы в условиях контрольно-аналитической лаборатории ОКК ЗАО «ВИФИТЕХ».

Начальник лаборатории ОКК ЗАО «ВИФИТЕХ»,
доктор фармацевтических наук, профессор РАН

И.Н. Зилфикаров

VITAUCT
ПРОДЛЕВАЯ ЖИЗНЬ



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор по производству

ООО «Витаукт-пром»

Корочинский А.В.

«10» июня 2020 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: методика количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом УФ-спектрофотометрии.

Кем предложен: доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Ф.К. Серебряной и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.Р. Ивачуевой.

Источник информации: методика составлена по материалам кандидатской диссертации Ивачуевой Д.Р. на тему «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода копеечник (*Hedysarum*L.), произрастающих на территории Северного Кавказа»

Внедрено: ООО «Витаукт-пром» (385774, Республика Адыгея, Майкопский р-н, ст. Абадзехская, ул. Клубная, 59 а).

Цель апробации: апробация показателей качества копеечника кавказского травы в условиях контрольно-аналитической лаборатории предприятия.

Ответственный за апробацию: аналитик-контролер *Diff*

Результаты апробации: В условиях контрольно-аналитической лаборатории ООО «Витаукт-пром» изучена методика количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом УФ-спектрофотометрии.

Ответственный за внедрения



УТВЕРЖДАЮ»

Директор по производству

ООО «Витаукт-пром»

Корочинский А.В.

«10» июня 2020 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: методика количественного определения мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом капиллярного электрофореза.

Кем предложен: доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Ф.К. Серебряной и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.Р. Имачуевой.

Источник информации: методика составлена по материалам кандидатской диссертации Имачуевой Д.Р. на тему «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода копеечник (*Hedysarum*L.), произрастающих на территории Северного Кавказа»

Внедрено: ООО «Витаукт-пром» (385774, Республика Адыгея, Майкопский р-н, ст. Абадзехская, ул. Клубная, 59 а).

Цель апробации: апробация показателей качества копеечника кавказского травы в условиях контрольно-аналитической лаборатории предприятия.

Ответственный за апробацию: аналитик-контролер Д.И.И.

Результаты апробации: В условиях контрольно-аналитической лаборатории ООО «Витаукт-пром» изучена методика количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом капиллярного электрофореза.

Ответственный за внедрения



УТВЕРЖДАЮ»

Директор по производству

ООО «Витаукт-пром»

Корочинский А.В.

«10» июня 2020г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: методика количественного определения мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Кем предложен: доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Ф.К. Серебряной и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.Р. Имачуевой.

Источник информации: методика составлена по материалам кандидатской диссертации Имачуевой Д.Р. на тему «Сравнительное фармакогностическое исследование некоторых видов рода копеечник (*Hedysarum*L.), произрастающих на территории Северного Кавказа»

Внедрено: ООО «Витаукт-пром» (385774, Республика Адыгея, Майкопский р-н, ст. Абадзехская, ул. Клубная, 59 а).

Цель апробации: апробация показателей качества копеечника кавказского травы в условиях контрольно-аналитической лаборатории предприятия.

Ответственный за апробацию: аналитик-контролер: 

Результаты апробации: В условиях контрольно-аналитической лаборатории ООО «Витаукт-пром» изучена методика количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Ответственный за внедрения



Приложение №4.1. Интродукционная справка ГБС ФГБУН ДФИЦ РД

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ГорБС ДФИЦ РАН, профессор

Асадулаев З.М.

«23» июнь 2020 г.



АКТ АПРОБАЦИИ

Предмет апробации: инструкция по сбору и сушке «Копеечника кавказского трава».

Кем предложен: доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Серебряной Ф.К. и аспирантом доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Имачуевой Д.Р.

Источник информации: материалы диссертации заочного аспиранта кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Имачуевой Д.Р.

Место апробации: Горный ботанический сад - обособленное подразделение Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук (367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 45)

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых условий сбора и сушки травы копеечника кавказского и оценка качества сырья по морфолого-анатомическим признакам и показателям качества на территории Горного ботанического сада - обособленное подразделение Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук (367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 45).

Ответственный за апробацию: заведующий лабораторией флоры и растительных ресурсов, к.б.н., доцент Муртазалиев Р.А.

Результаты апробации: инструкция по сбору и сушке травы копеечника кавказского, произрастающих на территории Горного ботанического сада - обособленное подразделение Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Ответственный за апробацию
заведующий лабораторией
флоры и растительных ресурсов,
к.б.н., доцент

Р.А. Муртазалиев

Приложение №4.2. Интродукционная справка ООО «Витаукт-пром»



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор по производству

ООО «Витаукт-пром»

Корочинский А.В.

«10» июня 2020 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет апробации: инструкция по сбору и сушке «Копеечника кавказского трава».

Кем предложен: доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Ф.К. Серебряной и аспирантом доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.Р. Имачуевой.

Источник информации: материалы диссертации заочного аспиранта кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.Р. Имачуевой.

Место апробации: ООО «Витаукт-пром» (385774, Республика Адыгея, Майкопский р-н, ст. Абадзехская, ул. Клубная, 59 а).

Цель апробации: воспроизведение предлагаемых условий сбора и сушки травы копеечника кавказского и оценка качества сырья по морфолого-анатомическим признакам и показателям качества ООО «Витаукт-пром» (385774, Республика Адыгея, Майкопский р-н, ст. Абадзехская, ул. Клубная, 59 а).

Ответственный за апробацию: аналитик-контролер: Д.Р. Имачуева

Результаты апробации: инструкция по сбору и сушке травы копеечника кавказского, произрастающих в условиях интродукции на территории Горного ботанического сада - обособленное подразделение Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ГорБС ДФИЦ РАН)

Приложение №5. Акт апробации внедрения в учебный процесс методики

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. директора Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор М.В. Черников
2020 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: Методика анализа суммы ксантонов в пересчете на мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом УФ-спектрофотометрии.

Кем предложен: доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Ф.К. Серебряной и аспирантом доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.Р. Имачуевой.

Источник информации: Фармакопейная статья «Копеечника кавказского трава».

Место внедрения: кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина 11)

Цель внедрения: использование предлагаемой методики в учебный процесс аспирантов кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ.

Ответственный за внедрения: Заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.А. Коновалов.

Результаты внедрения: предложенные в Фармакопейной статье методики идентификации и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферина методом УФ-спектрофотометрии включены в практические занятия учебного плана аспирантов второго года обучения кафедры фармакогнозии.

Ответственный за апробацию:
Заместитель директора по науке,
заведующий кафедрой фармакогнозии,
ботаники и технологии фитопрепаратов,
ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ»
МЗ РФ, доктор фармацевтических наук

Д.А. Коновалов

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава

России, профессор

С.Н. Маммаев

2020 г.

**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

Предмет внедрения: Методика анализа суммы ксантонов в пересчете на мангиферина в растительном сырье «Копеечника кавказского трава» методом УФ-спектрофотометрии.

Кем предложен: доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Ф.К. Серебряной и аспирантом доцентом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ Д.Р. Имачуевой.

Источник информации: Фармакопейная статья «Копеечника кавказского трава».

Место внедрения: кафедра фармации ФГБОУ ВО «Дагестанского государственного медицинского университета» Министерства Здравоохранения РФ (367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина, 1).

Цель внедрения: использование предлагаемой методики в учебный процесс студентов 3 и 4 курса кафедры фармации ФГБОУ ВО «Дагестанского государственного медицинского университета» Министерства Здравоохранения РФ.

Ответственный за внедрения: Заведующий кафедрой фармации ФГБОУ ВО «Дагестанского государственного медицинского университета» Министерства Здравоохранения РФ, кандидат фармацевтических наук Баркаев Г.С.

Результаты внедрения: предложенные в Фармакопейной статье методики идентификации и количественного определения суммы ксантонов в пересчете на мангиферина методом УФ-спектрофотометрии включены в практические занятия учебного плана студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета кафедры фармации.

Ответственный за апробацию:
Заведующий кафедрой фармации
ФГБОУ ВО «ДГМУ» МЗ РФ,
канд. фармацевт. наук

Баркаев Г.С.