

УДК 615.072

<https://doi.org/10.33380/3034-3925-2024-1-1-10>

Выделение, идентификация и количественное определение антраценпроизводных в подземных органах *Rumex crispus*

Ф. И. Гаджиева¹, А. Ю. Соколова², А. М. Полуянов^{2,3}, Н. А. Беседина¹, Н. В. Бобкова^{3,4}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ). 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

² Общество с ограниченной ответственностью «Сайнтифик Комплайнс». 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8., помещ. 1/2

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (МГУ имени М. В. Ломоносова). Факультет фундаментальной медицины. 119192, Россия, г. Москва, Ломоносовский пр-т., д. 27, корп. 1

 **Контактное лицо:** Гаджиева Фидан Имран гызы. **E-mail:** fidangadziyeva@gmail.com

ORCID: Ф. И. Гаджиева – <https://orcid.org/0009-0008-5019-7602>;

А. Ю. Соколова – <https://orcid.org/0000-0002-7500-5880>;

А. М. Полуянов – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>;

Н. А. Беседина – <https://orcid.org/0009-0006-1762-3740>;

Н. В. Бобкова – <https://orcid.org/0000-0003-1591-4019>.

Статья поступила: 16.08.2024

Статья принята в печать: 25.09.2024

Статья опубликована: 04.10.2024

Резюме

Введение. На данный момент в Государственную фармакопею Российской Федерации включен только один представитель рода щавель – щавель конский (*Rumex confertus* Willd.). Поэтому наше внимание привлекли другие представители этого рода и более подробно был изучен щавель курчавый (*Rumex crispus* L.). Важная задача – определение схожести состава в рамках расширения сырьевой базы.

Цель. Определение качественного и количественного содержания антрахинонов в корнях представителя рода *Rumex* – щавеля курчавого (*R. crispus*).

Материалы и методы. В качестве анализируемых растворов использовались спиртовые извлечения подземных органов *R. crispus*. Хроматографическое разделение и детектирование проводили на высокоскоростном жидкостном хроматографе «Хроматэк-Кристалл ВЭЖХ 2014» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), оборудованном колоночным термостатом, хроматографической колонкой Grace HPLC Column Platinum C18-EPS, 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Grace, США). Количественное определение проводилось на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Результаты и обсуждение. В работе объектом исследования был щавель курчавый, содержащий большое количество биологически активных веществ. В корнях щавеля курчавого методом ВЭЖХ-УФ были идентифицированы и количественно определены антраценпроизводные, такие как эмодин-8-гликозид, эмодин, хризофановая кислота, и методом спектрофотометрии было определено суммарное количество антраценпроизводных.

Заключение. Суммарное содержание антраценпроизводных в подземных органах *R. crispus* L. фазы отмирания равно 4,953 %. Методом ВЭЖХ-УФ были определены эмодин, количественное содержание которого составило 0,198 %, и хризофанол, с содержанием 0,757 %.

Ключевые слова: антраценпроизводные, ВЭЖХ-УФ, спектрофотометрия, корни, щавель курчавый, *Rumex crispus*

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

Вклад авторов. Ф. И. Гаджиева, А. Ю. Соколова, Н. А. Беседина и Н. В. Бобкова придумали и разработали эксперимент. Ф. И. Гаджиева, А. Ю. Соколова провели исследования методами спектрофотометрии и ВЭЖХ-УФ. Ф. И. Гаджиева, А. Ю. Соколова и А. М. Полуянов участвовали в обработке данных и написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

© Гаджиева Ф. И., Соколова А. Ю., Полуянов А. М., Беседина Н. А., Бобкова Н. В., 2024

© Hajiyeva F. I., Sokolova A. Yu., Poluyanov A. M., Besedina N. A., Bobkova N. V., 2024

Для цитирования: Гаджиева Ф. И., Соколова А. Ю., Полуянов А. М., Беседина Н. А., Бобкова Н. В. Выделение, идентификация и количественное определение антраценпроизводных в подземных органах *Rumex crispus*. *Гербарий*. 2024;1(1):33–39. <https://doi.org/10.33380/3034-3925-2024-1-1-10>

Isolation, identification and quantification anthracene derivatives in the underground organs of *Rumex crispus*

Fidan I. Hajiyeva¹✉, Anna Yu. Sokolova², Andrey M. Poluyanov^{2,3},
Nadezhda A. Besedina¹, Natalia V. Bobkova^{3,4}

¹ National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute). 31, Kashirskoe shosse, Moscow, 115409, Russia

² Limited Liability Company "Scientific Compliance". 1/2, 8, Simferopolsky bulvar, Moscow, 117246, Russia

³ I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

⁴ Lomonosov Moscow State University. 27/1, Lomonosovsky prospect, Moscow, 119192, Russia

✉ **Corresponding author:** Fidan I. Hajiyeva. **E-mail:** fidangadziyeva@gmail.com

ORCID: Fidan I. Hajiyeva – <https://orcid.org/0009-0008-5019-7602>;

Anna Yu. Sokolova – <https://orcid.org/0000-0002-7500-5880>;

Andrey M. Poluyanov – <https://orcid.org/0000-0002-9960-6699>;

Nadezhda A. Besedina – <https://orcid.org/0009-0006-1762-3740>;

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

Received: 16.08.2024

Accepted: 25.09.2024

Published: 04.10.2024

Abstract

Introduction. At the moment, only one is included in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation a representative of the *Rumex* genus is *Rumex confertus* Willd. Therefore, other representatives of this genus attracted our attention and *Rumex crispus* L. was studied in more detail. An important task is to determine the similarity of composition within the framework of expanding the raw material base.

Aim. Determination of the qualitative and quantitative content of anthraquinones in the roots of a representative of the genus *Rumex* (*R. crispus*).

Materials and methods. Alcohol extracts of underground organs were used as analyzed solutions *R. crispus*. Chromatographic separation and detection were carried out on a high-performance liquid chromatograph "Chromatek-Kristall HPLC 2014" (JSC SKB "Khromatek", Russia), equipped with a column thermostat, chromatographic column Grace HPLC Column Platinum C18-EPS, 250 × 4.6 mm, 5 μm (Grace, USA). Quantitative determination was carried out on an SF-2000 spectrophotometer (LLC "OKB Spektr", Russia).

Results and discussion. In the work, the object of study was *Rumex crispus* L., which contains a large amount of biologically active substances. In the roots of *Rumex crispus* L., anthracene derivatives, such as emodin-8-glycoside, emodin, chrysophanic acid, were identified and quantified by HPLC-UV, and the total amount of anthracene derivatives was determined by spectrophotometry.

Conclusion. The total content of anthracene derivatives in the underground organs of *R. crispus* L. in the dying phase is 4.953 %. Using HPLC-UV, emodin was determined, the quantitative content of which was 0.198 %, and chrysophanol, with a content of 0.757 %.

Keywords: anthracene derivatives, HPLC-UV, spectrophotometry, roots, *R. crispus*, *Rumex crispus*

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

Contribution of the authors. Fidan I. Hajiyeva, Anna Yu. Sokolova, Nadezhda A. Besedina and Natalia V. Bobkova invented and developed the experiment. Fidan I. Gadzhieva, Anna Yu. Sokolova conducted research using spectrophotometry and HPLC-UV methods. Fidan I. Gadzhieva, Anna Yu. Sokolova and Andrey M. Poluyanov participated in data processing and writing the text of the article. All authors contributed in discussing the results.

For citation: Hajiyeva F. I., Sokolova A. Yu., Poluyanov A. M., Besedina N. A., Bobkova N. V. Isolation, identification and quantification anthracene derivatives in the underground organs of *Rumex crispus*. *Herbarium*. 2024;1(1):33–39. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/3034-3925-2024-1-1-10>

Введение

Исследование новых видов растений, содержащих активные биологические соединения, представляет собой одну из основных задач фармакогнозии как научной дисциплины. Это способствует расширению сырьевой базы и разработке высокоэффективных лекарственных препаратов отечественного производства.

Щавель (*Rumex*), широко распространенный в нашей стране, содержит различные группы биологически активных веществ, такие как антраценпроизводные (АП), дубильные вещества, фитоалексины, флавоноиды, органические кислоты, сапонины, аминокислоты и полисахариды, благодаря чему он обладает широким спектром фармакологического действия [1–4].

В настоящее время в Российской Федерации для медицинского применения разрешен лишь один вид щавеля – щавель конский (*Rumex confertus* Willd.), чей химический состав достаточно хорошо изучен [5]. Интерес представляет изучение подземных органов других видов щавеля, в частности щавеля курчавого (*Rumex crispus* L.), обладающего сходным составом, что подтверждает его потенциал для исследований [6, 7]. Литературные источники указывают на наличие в составе изучаемого вида антрахинонов, таких как эмодин, эмодин-8-гликозид, хризофанол, фисцион, реин [8–10]. Высокое содержание антрахинонов в щавеле курчавом может способствовать его потенци-

альному применению в медицинской практике в качестве противовоспалительного, антиоксидантного и противоопухолевого средства [11, 12]. Для оценки количественного содержания антраценпроизводных в подземных органах используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ) и спектрофотометрический метод (СФМ).

Для анализа местности и сбора растения были выбраны северные окрестности деревни Кузовлево, расположенной в Роговском поселении Московской области (рисунок 1).

Материалы и методы

Реактивы и растворы

Реактивы, использованные при выполнении исследования: муравьиная кислота (класс «for analysis», PanReac, Испания); ацетонитрил (класс «for HPLC», PanReac, Испания); вода деминерализованная (класс чистоты I); этанол 95 % (класс «х.ч.», ООО ТД «ХИМ-МЕД», Россия).

Оборудование

Спектрофотометр СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия), весы аналитические R200D (Sartorius AG, Германия), дозаторы переменного объема от 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл (Sartorius AG, Германия), водяная баня WB-4 (STEGLER, Китай).



Рисунок 1. Карта местности с указанием координат

Координаты: 55.183122, 36.999648

Figure 1. Map of the area indicating coordinates

Coordinates: 55.183122, 36.999648

Условия хроматографического разделения
и детектирования

Детектирование и хроматографическое разделение проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Хроматэк-Кристалл ВЭЖХ 2014» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), оснащенный колоночным термостатом, хроматографической колонкой HPLC Column Platinum C18-EPS, 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Grace, США), автосамплером (объем инъекции: 10 мкл), дегазатором и УФ-детектором. Обнаружение выполнялось при длине волны $\lambda = 365 \pm 2$ нм. Подвижная фаза: 0,2%-й раствор муравьиной кислоты в воде (по объему) (элюент А); ацетонитрил (элюент В).

Объект исследования

В рамках данного исследования были собраны подземные органы щавеля курчавого (*Rumex crispus* L.) в период отмирания (сентябрь 2023 года). Собранные образцы были промыты от земли под холодной водой. Перед сушкой наиболее крупные органы были разрезаны на несколько частей. Сушка проводилась при комнатной температуре в помещении, защищенном от солнечного света (рисунок 2).



Рисунок 2. Щавеля курчавого корни

Figure 2. *Rumex crispus* L. roots

Результаты и обсуждение

Спектрофотометрия

Спиртовые извлечения из сырья были получены по методике, изложенной в нормативном документе на щавель конского корня (раздел «Количественное определение»), так как *R. crispus* имеет близкое родство и сходный состав с *R. confertus*.

Точную навеску 1 г отмеряли на аналитических весах в колбу объемом 250 мл и экстрагировали 50 мл 70%-го спирта 1,5 ч на водяной бане. Фильтровали после остывания через бумажный фильтр «Белая лента».

Затем 1 мл извлечения помещали в мерную колбу объемом 50 мл и доводили до метки щелочно-аммиачным буфером.

В качестве раствора сравнения использовали смесь в мерной колбе объемом 50 мл из 1 мл 70%-го спирта, доведенного до метки щелочно-аммиачным буфером. Испытуемый раствор и раствор сравнения нагревали на водяной бане 15 мин.

Содержание суммы АП в пересчете на эмодин-8-О-β-D-глюкозид измеряли после остывания растворов при длине волны 520 нм (рисунок 3) и вычисляли по формуле:

$$\frac{A \times 50 \times 50 \times 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \times a \times 1 \times (100 - W)},$$

где *A* – оптическая плотность испытуемого раствора; *A*_{1 см}^{1%} – удельный показатель поглощения 8-О-β-D-глюкозида эмодина с щелочно-аммиачным буфером при длине волны 520 нм, равный 160; *a* – навеска сырья, г; *W* – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Полученный результат количественного содержания суммы АП отображен в таблице 1.

Таблица 1. Количественное содержание АП в корнях щавеля курчавого (*Rumex crispus* L.), полученное методом спектрофотометрии

Table 1. Quantitative content of AP in the roots of *Rumex crispus* L., obtained by spectrophotometry

Вид сырья Type of raw materials	Содержание АП в спиртовых экстрактах, % Content of anthracenes in alcohol extracts, %
<i>R. crispus</i>	4,9530,045

Таким образом, исследование показало, что в фазу отмирания корни щавеля курчавого содержат количество АП, соответствующее фармакопейному щавелю конскому.

Разработка методики ВЭЖХ

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

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

Было подтверждено присутствие 8-О-β-D-глюкозида эмодина, хризофановой кислоты и эмодина в пробе и подсчитано количественное содержание эмодина и хризофанола.

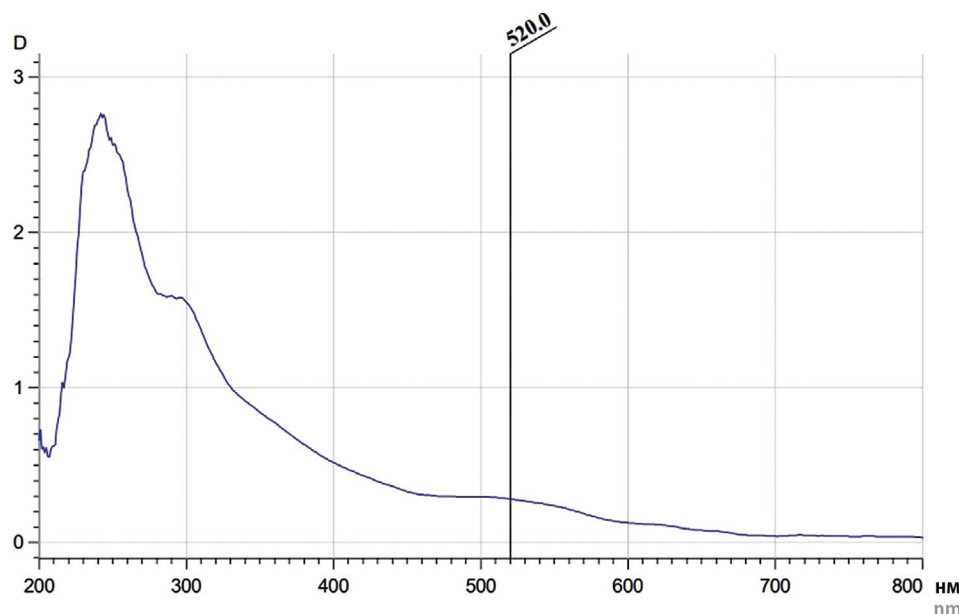


Рисунок 3. Спектр поглощения АП в испытуемом растворе

Figure 3. Absorption spectrum of anthracene in the test solution

Три пика с временами удерживания R_t 17.508, 27.964 и 30.826 сопоставимы с временами удерживания пиков 8-О- β -D-глюкозида эмодина, эмодина и хризофанола соответственно (рисунок 4).

Подтверждение наличия в щавеле курчавом таких антраценпроизводных могут дать хроматограммы стандартных образцов (СО), представленных на рисунке 5.

Для обнаружения 8-О- β -D-глюкозида эмодина использовался СО с истекшим сроком годности, поэто-

му на хроматограмме мы наблюдали два пика, соответствующих исходному гликозиду и продукту гидролиза – эмодину. Поэтому данный раствор использовался лишь для идентификации соединения без определения количества.

Для изучаемого объекта рассчитаны значения количественного содержания эмодина и хризофанола в пересчете на абсолютно сухое сырье, которые представлены в таблице 2.

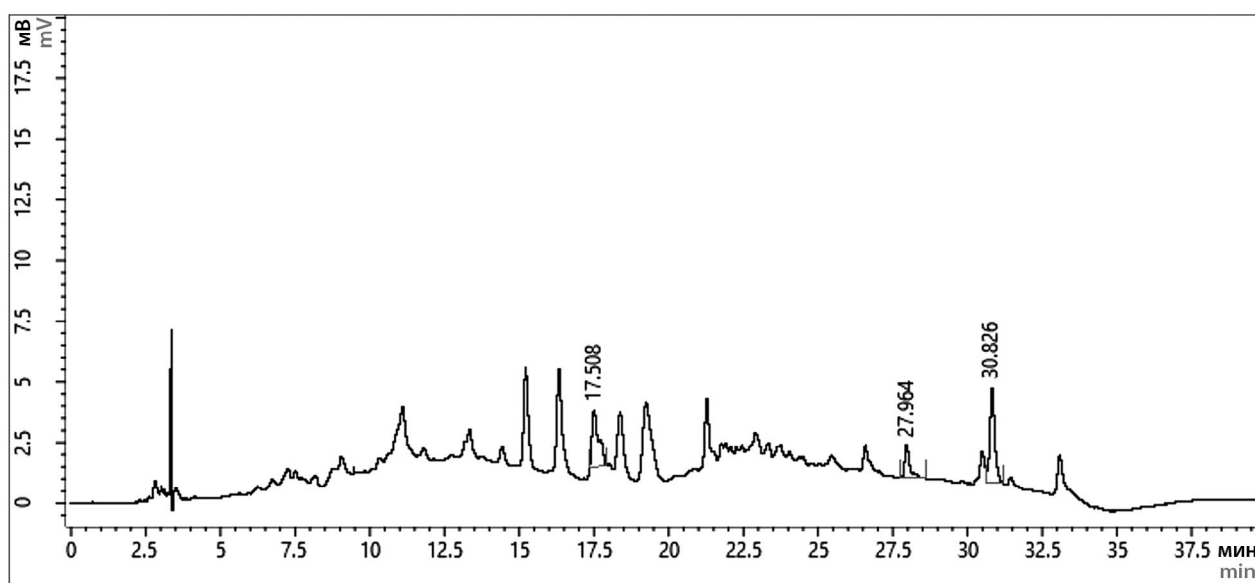


Рисунок 4. Хроматограмма АП испытуемого раствора извлечения *R. crispus* L.

Figure 4. Chromatogram of anthracene derivatives of the tested *R. crispus* L. extract solution

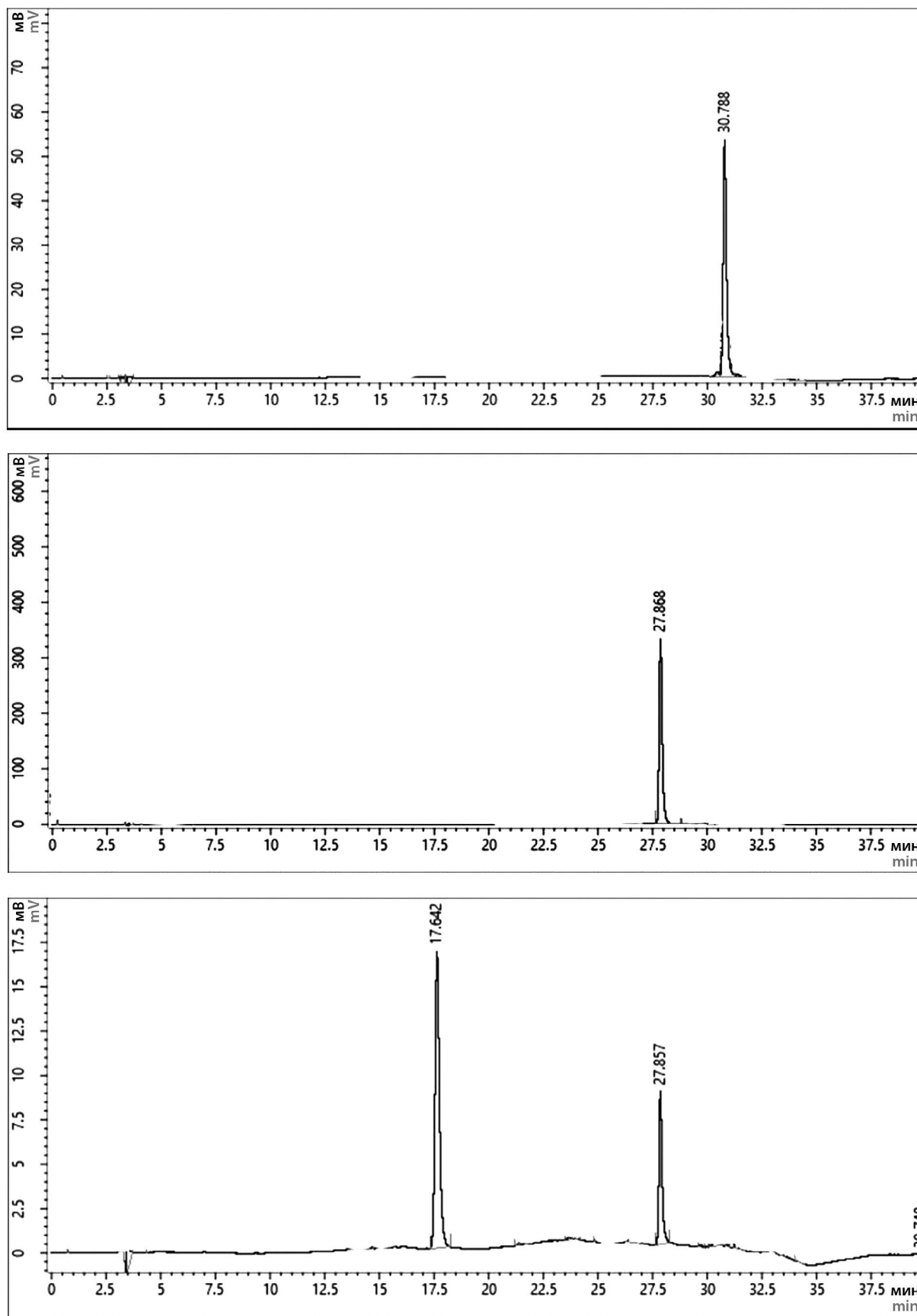


Рисунок 5. Хроматограммы СО АП

Figure 5. Chromatograms of standard samples anthracene

Таблица 2. Количественное содержание эмодина и хризофановой кислоты в пересчете на сухое сырье

Table 2. Quantitative content of emodin and chrysophanic acid in terms of dry raw materials

Вид сырья Type of raw materials	Содержание эмодина, % Content of emodine, %	Содержание хризофанола, % Content of chrysophanol, %
<i>R. crispus</i>	0,198 ± 0,001	0,757 ± 0,004

Лидирующим компонентом из идентифицированных веществ группы АП был хризофанол. Его количество более чем в 3 раза превышало количество эмодина.

Таким образом, чувствительным методом ВЭЖХ было подтверждено наличие в щавеле курчавом хризофановой кислоты, эмодина и 8-О-β-D-глюкозида эмодина и определено количественное содержание эмодина и хризофанола.

Закключение

В рамках исследования *Rumex crispus* L. была апробирована методика выделения антраценпроизводных по ФС для щавеля конского, разработана методика количественного определения антраценов в спиртовых извлечениях, позволяющая объективно и достоверно определять количественное содержание доминирующей группы БАВ, которое по результатам данного исследования составило 4,953 %. В изучаемом объекте были обнаружены эмодин, 8-О-β-D-глюкозид эмодина и хризофановая кислота. Количественное содержание эмодина и хризофанола составило 0,198 и 0,757 % соответственно.

Литература / References

1. Prakash Mishra A., Sharifi-Rad M., Shariati M. A., Mabkhot Y. N., Al-Showiman S. S., Rauf A., Salehi B., Župunski M., Sharifi-Rad M., Gusain P., Sharifi-Rad J., Suleria H. A. R., Iriti M. Bioactive compounds and health benefits of edible *Rumex* species-A review. *Cellular and Molecular Biology*. 2018;64(8):27–34. DOI: 10.14715/cmb/2018.64.8.5.
2. Salama S. A., AL-Faifi Z. E., Masood M. F., El-Amier Y. A. Investigation and Biological Assessment of *Rumex vesicarius* L. Extract: Characterization of the Chemical Components and Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, and Anti-Dengue Vector Activity. *Molecules*. 2022;27(10):3177. DOI: 10.3390/molecules27103177.
3. Wang Q., Yang J.-B., Wang Y., Li Y.-Y., Wen H.-R., Zhang Y.-J., Ma S.-C. Toxicokinetics of emodin-8-O-β-D-glucoside in rats in vivo. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2022;47(15):4214–4220. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20220516.701.
4. Seitimova G. A., Shokan A. K., Tolstikova T. G., Zhukova N. A., Korulkin D. Yu., Kudrina N. O., Litvinenko Yu. A., Meduntseva N. D., Terletskaya N. V., Kulmanov T. E. Antiulcer activity of anthraquinone-flavonoid complex of *Rumex tianschanicus* Losinsk. *Molecules*. 2023;28(5):2347. DOI: 10.3390/molecules28052347.

5. Berillo D., Kozhahmetova M., Lebedeva L. Overview of the Biological Activity of Anthraquinones and Flavanoids of the Plant *Rumex* Species. *Molecules*. 2022;27(4):1204. DOI: 10.3390/molecules27041204.
6. Poluyanov A. M., Sokolova A. Yu., Malashenko E. A., Sergunova E. V., Bobkova N. V. Isolation, Identification and Quantitative Determination of Anthracene Derivatives by HPLC-UV Method in the Raw Materials of Some Representatives of the Genus *Rumex* of Three Vegetation Times. *Drug development & registration*. 2022;11(4):216–225. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-216-225.
7. Nigussie G. Isolation and Characterization of the Roots of *Rumex nervosus*. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 2020;5(1):39–50. DOI: 10.25026/jtpc.v5i1.241.
8. Eom T., Kim E., Kim J.-S. In Vitro Antioxidant, Antiinflammation, and Anticancer Activities and Anthraquinone Content from *Rumex crispus* Root Extract and Fractions. *Antioxidants*. 2020;9(8):726. DOI: 10.3390/antiox9080726.
9. Demirezer L. Ö. Concentrations of Anthraquinone Glycosides of *Rumex crispus* during Different Vegetation Stages. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2014;49(7–8):404–406. DOI: 10.1515/znc-1994-7-802.
10. Feduraev P., Chupakhina G., Maslennikov P., Tacenko N., Skrypnik L. Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. *Antioxidants*. 2019;8(7):237. DOI: 10.3390/antiox8070237.
11. Pan Y., Zhao X., Kim S.-H., Kang S.-A., Kim Y.-G., Park K.-Y. Anti-inflammatory effects of Beopje curly dock (*Rumex crispus* L.) in LPS-induced RAW 264.7 cells and its active compounds. *Journal of Food Biochemistry*. 2020;44(7):e13291. DOI: 10.1111/jfbc.13291.
12. Li Y.-X., Li N., Li J.-J., Zhang M., Zhu H.-T., Wang D., Zhang Y.-J. New seco-anthraquinone glucoside from the roots of *Rumex crispus*. *Natural Products and Bioprospecting*. 2022;12(1):29. DOI: 10.1007/s13659-022-00350-3.