

УДК 577.151.42

ВЫДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ КСАНТИНОКСИДАЗЫ ИЗ ТРАВЫ ГОРЦА ПЕРЕЧНОГО. ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

© Д.И. Бояринцев*, И.В. Кузьминов, Д.А. Вагина

Тюменский государственный медицинский университет, ул. Одесская, 54, Тюмень, 625023 (Россия), e-mail: bdy0710@yandex.ru

Цель – выделить ингибиторы ксантиноксидазы (КО) флавоноидной природы из травы горца перечного, охарактеризовать их природу и определить механизм действия ингибиторов.

Задачи: 1. Выделить сумму флавоноидов из травы горца перечного и оценить ее влияния на активность КО. 2. Провести очистку суммарного экстракта и получить активные фракции, содержащие ингибиторы КО, идентифицировать их природу. 3. Определить механизм ингибирования КО выделенными флавоноидами.

Методология и научные подходы: траву горца перечного *P.hydropteris* экстрагировали 90% этанолом (70 °С в течение 1 ч). Был получен нативный экстракт с содержанием флавоноидов 1.51%. Экстракт фракционировали гептаном и методом ионно-обменной хроматографии. Антиксантиноксидазная активность фракций оценивалась спектрофотометрическим методом. Активность КО выражали в МЕ/г. Механизм действия ингибиторов КО в составе фракций определяли путем построения кинетических кривых ферментативной реакции и расчета K_m . Идентификацию флавоноидов проводили методами ТСХ, БХ, методом спектрофотометрии.

Полученные результаты и выводы: 1. Сумма флавоноидов из травы горца перечного ингибирует активность КО в концентрации 2.5 мг/мл. 2. Из нативного экстракта травы горца перечного были выделены халконы, ингибирующие КО. 3. Флавоноиды в составе активной фракции обратимо по конкурентному механизму ингибируют КО молока.

Практическая значимость и направления дальнейших исследований: полученные сведения являются базой для разработки нового лекарственного препарата, который будет использован для лечения подагры. Необходимо разработать методику выделения гомогенного флавоноида и провести его фармакокинетические исследования.

Ключевые слова: флавоноиды, *Polygonum hydropteris*, ксантиноксидаза, ингибиторы ферментов, идентификация.

Введение

Полифенольные соединения флавоноидной структуры регулируют скорость ферментативных реакций. Известно, что производные флавонола, флавонона, халконы, обладая структурным сходством с пуриновыми соединениями, могут по конкурентному механизму ингибировать фермент ксантиноксидазу (КО) [1–3]. КО является ключевым ферментом процесса деградации пуриновых нуклеотидов в тканях человека и животных. Субстратом фермента являются гипоксантин и ксантин, при окислении которых образуется мочевая кислота [4]. Мочевая кислота плохо растворима в нейтральной и кислой среде и может откладываться в синовиальной жидкости при избыточном поступлении пуринов в организм или наследственной предрасположенности к подагре [5]. Для лечения данного синдрома используются урикозурирующие средства и конкурентные ингибиторы КО (аллопуринол, фебуксостат) [6]. Однако не рассматриваются флавоноиды в качестве потенциальных ингибиторов. В отличие от аллопуринола флавоноиды обла-

дают большей биодоступностью для организма человека и, вероятно, более эффективны. Кроме того, имеются данные о возможном ингибировании фосфодиэстераз, катализирующих реакции гидролиза вторичных мессенджеров – цГМФ и цАМФ в клетках-мишенях [7, 8]. Механизм ингибирования также обусловлен структурным сходством флаво-

Бояринцев Даниэль Игоревич – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии, e-mail: bdy0710@yandex.ru
Кузьминов Илья Вячеславович – студент, e-mail: bdy0710@yandex.ru
Вагина Диана Андреевна – студент, e-mail: bdy0710@yandex.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

ноидов с пуриновыми нуклеотидами. Эти данные дают возможность также рассматривать флавоноиды как ингибиторы передачи сигнала в каскадных системах многих биогенных аминов, нейромедиаторов и гормонов [9].

В ранее проведенных исследованиях проводился скрининг 5 видов лекарственного растительного сырья, в котором были выбраны объекты, содержащие ингибиторы ксантиноксидазы. Максимальную активность демонстрировали экстракты травы горца перечного [10].

Горец перечный – *Polygonum hydropiper* (сем. *Polygonaceae*) произрастает на всей территории России в качестве сорного растения, преимущественно вблизи пресноводных водоемов. Трава горца перечного применяется в качестве кровоостанавливающего средства в медицинской практике [11, 12]. По данным нормативной документации по оценке качества сырья количественное определение суммы действующих веществ проводится в пересчете на гликозид рутин [11].

Цель – выделить ингибиторы КО флавоноидной природы из травы горца перечного, охарактеризовать их природу и определить молекулярный механизм действия ингибиторов.

Задачи: 1. Выделить сумму флавоноидов из травы горца перечного. Провести оценку влияния суммарного экстракта на активность КО.

2. Провести очистку суммарного экстракта и получить активные фракции, содержащие ингибиторы КО, идентифицировать их природу.

3. Определить молекулярный механизм ингибирования (тип ингибирования) КО выделенными флавоноидами.

Экспериментальная часть

Выделение суммы флавоноидов из травы горца перечного. В исследовании было использовано официальное лекарственное растительное сырье – трава горца перечного (*Herba Polygoni hydropiperis*) (производитель ООО «Беловодье»). К траве массой 10 г добавляли 100 мл 90% этанола и экстрагировали при температуре 70 °С в течение 1 ч. Затем полученный экстракт высушивали под вакуумом и получали сухой экстракт травы горца перечного (нативный экстракт) [11].

Фракционирование суммы флавоноидов. Разделение суммы флавоноидов на индивидуальные компоненты проводили с помощью жидкость-жидкостной экстракции и ионно-обменной хроматографии. Нативный экстракт растворяли в 96% этаноле и получали раствор с концентрацией 2.5 мг/мл. К 5 мл полученного раствора добавляли 5 мл *n*-гептана и экстрагировали в делительной воронке дважды.

С помощью жидкостной экстракции были получены: неполярная фракция (фракция А) и полярная фракция (фракция В). Обе фракции высушивали под вакуумом и использовали для дальнейшей очистки. Фракции А и В растворяли в летучем ацетатно-аммонийном буфере (рН=11) и инкубировали 20 мин с ионно-обменной смолой (Анионит – ЭДЭ-10 П). После этого анионит с фиксированными отрицательно заряженными компонентами вносили в колонку и элюировали летучими буферными растворами с использованием градиента рН. Было получено 6 фракций, каждую из которых использовали для дальнейшего исследования. Данные фракции получали, элюируя ионит буферными растворами равного объема (по 10 мл). Фракции А-1 и В-1 содержали компоненты, не задерживающиеся на анионите. Фракции А-2 и В-2 были получены после элюирования с анионита нейтральным буферным раствором (рН=7.2). Фракции А-3 и В-3 были получены после элюирования анионита 0.1 М уксусной кислотой. Оценка гомогенности полученных фракций проводилась с помощью методов тонкослойной хроматографии (ТСХ) [13, 14], бумажной хроматографии (БХ) и спектрофотометрии [15].

Идентификация и количественное определение флавоноидов. Для идентификации флавоноидов в нативном экстракте и выделенных фракциях были использованы цветные реакции (проба Шинода, реакция с 1% раствором хлорида алюминия, реакция Вильсона) [13, 16], методы БХ, ТСХ и дифференциальной спектрофотометрии. Количественное определение флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом [11, 17].

Оценка антиксантиноксидазной активности флавоноидов. В качестве объекта исследования, содержащего активный фермент КО, было использовано обезжиренное молоко. Для оценки активности фермента КО к 1 мл молока добавляли 1 мл 0.01 М цитратного буферного раствора (рН=11), 1 мл субстрата кофеина, 1 мл раствора нативного экстракта или выделенных фракций (разной концентрации) и 100 мкл индикатора тетразолиевого нитросинего. Полученную смесь инкубировали при температуре 37 °С. В ходе ферментативной реакции происходило окисление кофеина до мочевой кислоты и образование свободных

радикалов, которые, окисляя индикатор, превращают его в окрашенный продукт формазан. Интенсивность окрашивания раствора зависит от активности КО, которую определяли на спектрофотометре СФ-2000. Оптическую плотность раствора определяли при длине волны 540 нм. Активность КО выражали в МЕ/г [18]. Для определения возможного молекулярного механизма действия флавоноидов в нативном экстракте и полученных фракциях (в концентрации 2.5 мг/мл) проводили оценку активности КО при использовании разных концентраций субстрата кофеина (0.01, 0.02, 0.05, 0.1 М).

Обсуждение результатов

Компоненты нативного экстракта травы горца перечного существенно снижали активность ксантиноксидазы в концентрациях 2.5 мг/мл и 5 мг/мл. При дальнейшем увеличении концентрации экстракта не наблюдалась ингибирующая активность. Вероятно, это связано с присутствием в суммарном экстракте как ингибиторов, так и активаторов фермента (рис. 1).

Фракция А, содержащая малополярные соединения (0.05% в пересчете на кверцетин), демонстрирует ингибирующую активность в концентрации 2.5 мг/мл. Фракция В не содержала флавоноидных ингибиторов ксантиноксидазы. По данным ТСХ и УФ-спектроскопии в составе фракций были идентифицированы флавоноиды, отличающиеся по структуре от кверцетина. При использовании разных систем элюентов (*n*-бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 5) [19]; этилацетат, насыщенный водой; бутилацетат : этанол (8 : 2) на хроматограмме обнаруживается одно соединение с красно-оранжевой флуоресценцией (рис. 2).

Однако по данным спектрофотометрии в составе фракции А были обнаружены гликозиды производные флавонола (кверцитрин) и халконы (изосалипурозид). Компоненты фракции давали положительные реакции Шинода и Вильсона. Отсюда следует, что фракция А негомогенна и содержит несколько соединений флавоноидной природы. Поэтому на следующем этапе мы провели разделение компонентов фракции А с помощью ионно-обменной хроматографии. Фракции А-1; А-2 и А-3 проявляли ингибирующую активность в концентрации 1 мг/мл. Наибольшую активность проявила фракция А-2 (рис. 3). Гидроксо-группы ингибитора КО диссоциируют в щелочной среде, придавая ему отрицательный заряд за счет образования ионных связей с функциональными группами анионита. При смене рН среды до 7.2 диссоциация подавляется и флавоноиды вымываются с анионита.

В составе активной фракции А-2 были идентифицированы халконы по данным УФ-спектрофотометрии и БХ (рис. 4).

Известно, что производные флавонола и флавонолы подвергаются таутомерным превращениям при длительном стоянии, смене рН среды и нагревании [20]. Наличие халконов может свидетельствовать о протекании реакции изомеризации в условиях проведения ионно-обменной хроматографии. Поэтому требуется более точная идентификация компонентов фракции А-2 с использованием чувствительных методов анализа (ВЭЖХ, ГХ-МС).

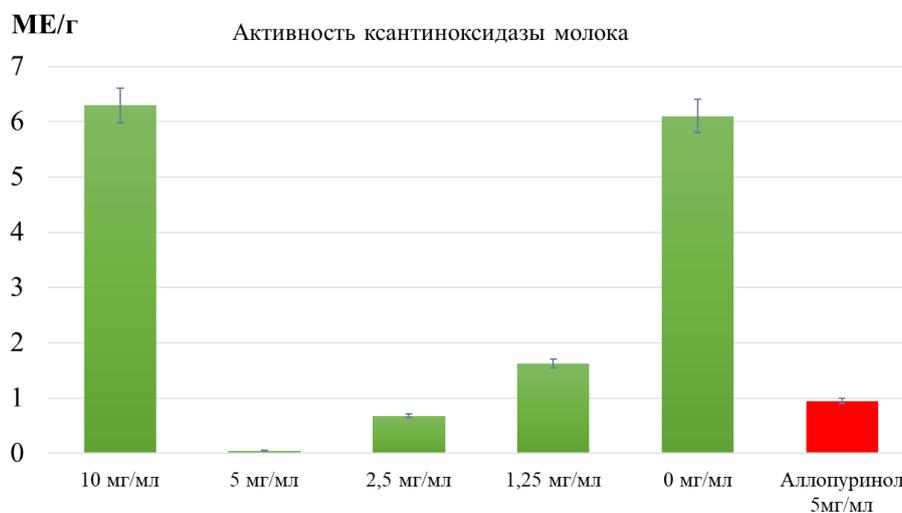


Рис. 1. Оценка ферментативной активности КО в присутствии компонентов нативного экстракта КО

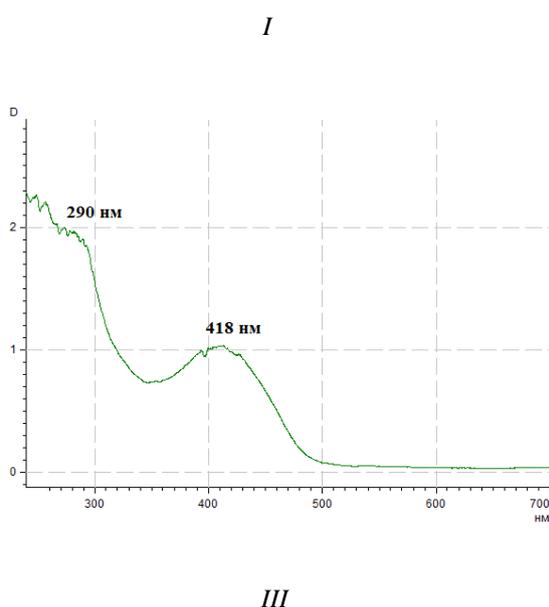
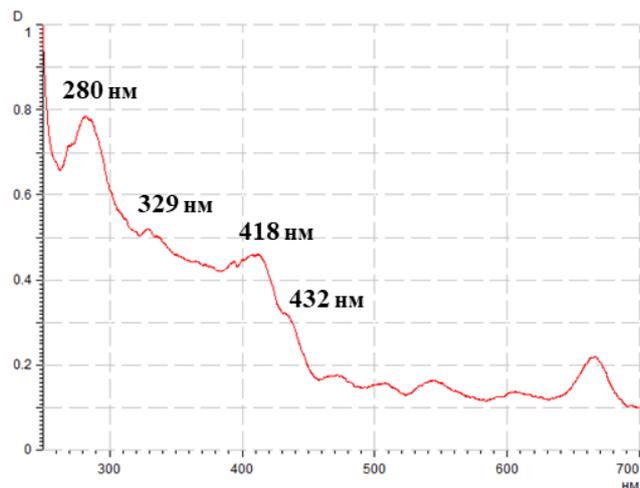
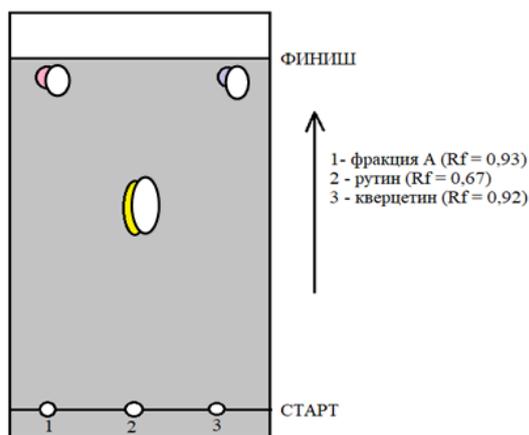


Рис. 2. Идентификация флавоноидов в составе фракции А: *I* – по данным ТСХ обнаружены соединения ($R_f=0.93$ ярко-оранжевая флуоресценция), отличающиеся по структуре от флавоноидов рутина ($R_f=0.67$ желто-зеленая флуоресценция) и кверцетина ($R_f=0.92$ желто-зеленая флуоресценция). Условия хроматографирования: восходящий варинат ТСХ. Система растворителей: *n*-бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 5). Проявление: УФ-254 нм; *II* – по данным УФ-спектрофотометрии (1% $AlCl_3 + HCl$) обнаружены максимумы поглощения при 280, 329, 418 и 432 нм. Это соответствует кверцитрину и халкону изосалипуризу [20]; *III* – УФ-спектр 0.05 М стандартного раствора изосалипуриза (1% $AlCl_3 + HCl$)

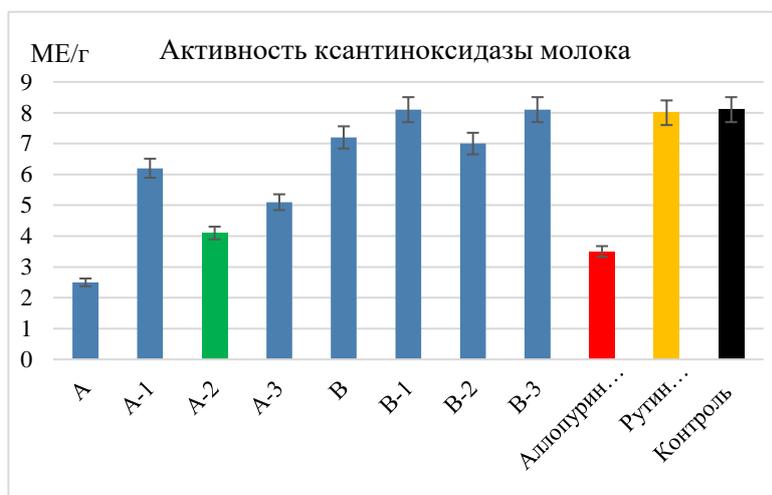


Рис. 3. Оценка ферментативной активности КО в присутствии компонентов фракций, полученных методами жидкость-жидкостной экстракции (А и В) и ионно-обменной хроматографии (фракции А1-А3; В1-В3). В положительном контроле – аллопуринол (5 мг/мл), рутин (5 мг/мл). В отрицательном – буферный раствор

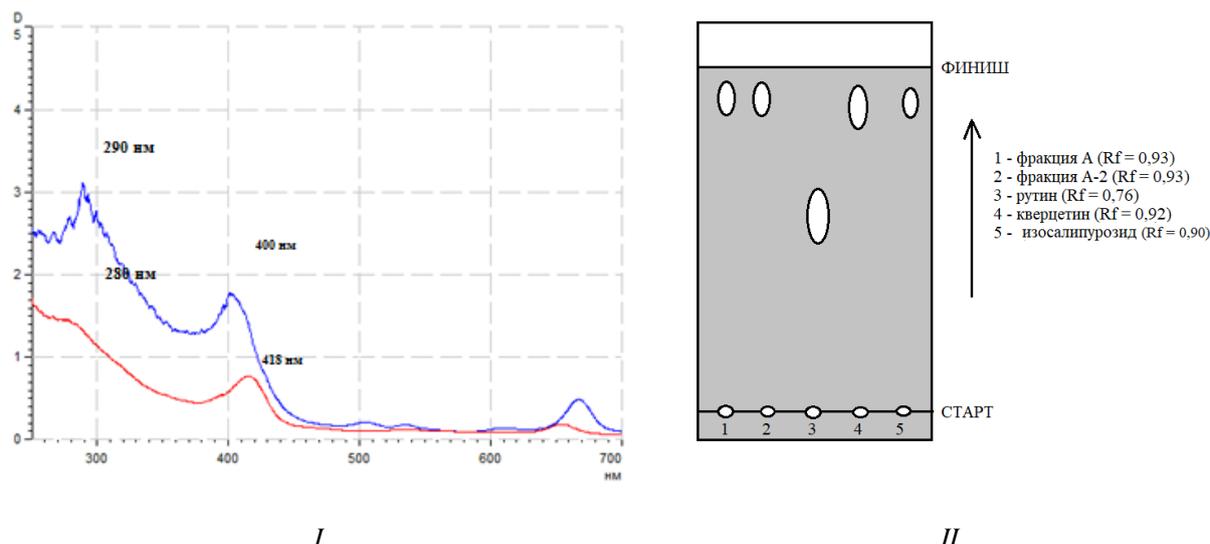


Рис. 4. I – УФ-спектр активной фракции А-2. Максимумы поглощения 290, 400 нм (в нативной форме) 280, 418 нм (в комплексе с 1% $AlCl_3 + HCl$) соответствуют производным халкона. Сравнение со стандартным образцом (Рис. 2-III); II – восходящая БХ в системе растворителей HCl : уксусная кислота : вода (3 : 30 : 10). При освещении под УФ в составе фракции А и А-2 обнаружены флавоноиды (R_f = 0.93 – ярко оранжевая флуоресценция). R_f (рутин) = 0.67 желто-зеленая флуоресценция; R_f (кверцетин) = 0.92 желто-зеленая флуоресценция; R_f (изосалипурозид) = 0.90 – желтая флуоресценция)

Молекулярный механизм действия выделенных флавоноидов связан с конкурентным ингибированием фермента КО, поскольку при использовании большей концентрации субстрата кофеина наблюдается восстановление ферментативной активности. При этом выявлены отличия показателя K_m в присутствии ингибитора фракции А-2 (1 мг/мл) и аллопуринола (5 мг/мл). Анализируя графики зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, можно сделать вывод, что ингибиторы фракции А-2 обладают конкурентным механизмом действия и они прочнее связываются с активным центром ксантиноксидазы, чем аллопуринол (рис. 5). Следует отметить, что механизм ингибирования реакции окисления тетразолового нитросинего связан не с инактивацией свободных радикалов, а с образующейся в ходе окисления кофеина ксантиноксидазой, поскольку скорость реакции в присутствии антиоксиданта рутина не снижалась. При этом не следует ожидать проявления активности у кверцетина, поскольку активной частью молекулы является фенилхромоновое ядро флавоноида.

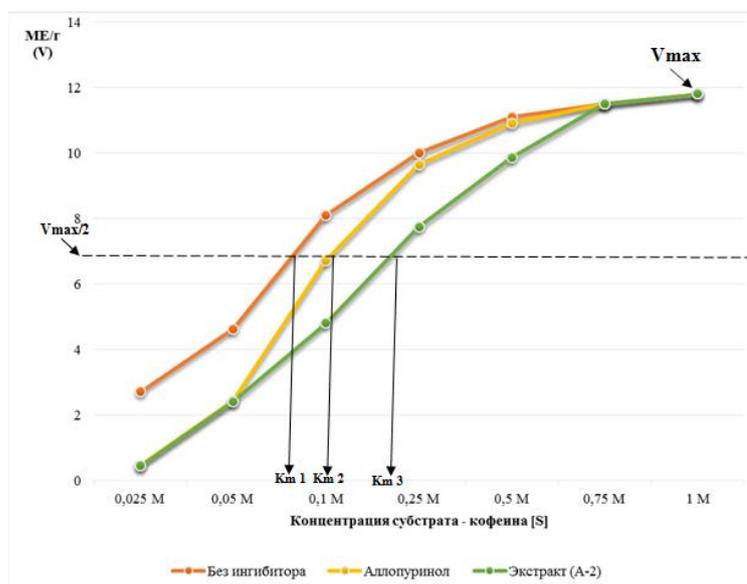


Рис. 5. Зависимость скорости ксантиноксидазной реакции от концентрации субстрата ($K_m 1 = 0.07$ М – без ингибитора; $K_m 2 = 0.11$ М – в присутствии аллопуринола (5 мг/мл); $K_m 3 = 0.21$ М – в присутствии фракции А-2 (1 мг/мл)

Построив кинетические зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата кофеина, мы определили, что K_m фермента КО увеличивается в 3 раза (в присутствии ингибиторов фракции А-2). Аллопуринол снижает сродство фермента к субстрату менее чем в 2 раза. Анализируя изменение кинетики ферментативной реакции, можно сделать вывод, что флавоноиды в составе фракции А-2 конкурируют с кофеином за активный центр КО. Торможение носит обратимый характер, поскольку скорость ферментативной реакции восстанавливается после добавления избытка кофеина.

Выводы

1. Сумма флавоноидов из травы горца перечного (нативный экстракт) ингибирует активность фермента КО в концентрации 2.5 мг/мл.
2. Из нативного экстракта травы горца перечного были выделены халконы (изосалипурозид), ингибирующие КО.
3. Флавоноиды в составе активной фракции обратимо по конкурентному механизму ингибируют фермент КО молока. При этом снижается сродство фермента к субстрату эффективнее, чем в случае аллопуринола.

Список литературы

1. Liu Y., Hou Y., Si Y., Wang W., Zhang S., Sun S., Liu X., Wang R., Wang W. Isolation, characterization, and xanthine oxidase inhibitory activities of flavonoids from the leaves of *Perilla frutescens* // *Nat. Prod. Res.* 2020. Vol. 34(18). Pp. 2566–2572. DOI: 10.1080/14786419.2018.1544981.
2. Wu Z.Y., Zhang H., Li F., Yang F.Q. Evaluation of xanthine oxidase inhibitory activity of flavonoids by an online capillary electrophoresis-based immobilized enzyme microreactor // *Electrophoresis.* 2020. Vol. 41(15). Pp. 1326–1332. DOI: 10.1002/elps.202000083.
3. Белобородов В.Л., Зурабян С.Э., Лузин А.П., Тюкавкина Н.А. *Органическая химия.* М., 2008. Т. 2. С. 415–492.
4. Желябина О.В., Елисеев М.С. Ингибиторы ксантиноксидазы при асимптоматической гиперурикемии // *Современная ревматология.* 2019. Т. 13(4). С. 137–142.
5. Джонс К., Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У. *Справочник биохимика.* М., 1991. 544 с.
6. White W.B., Saag K.G., Becker M.A., Borer J.S., Gorelick P.B., Whelton A., Hunt B., Castillo M., Gunawardhana L. CARES Investigators. Cardiovascular Safety of Febuxostat or Allopurinol in Patients with Gout // *N. Engl. J. Med.* 2018. Vol. 378(13). Pp. 1200–1210. DOI: 10.1056/NEJMoa1710895.
7. Зверев Я.Ф. Антитромбоцитарная активность флавоноидов // *Вопросы питания.* 2017. Т. 86. №6. С. 6–20.
8. Орлова О.О., Кампанцева Е.В., Деменьтева Т.М. Биологически активные вещества рода ива (*Salix L.*) // *Фармация и фармакология.* 2016. Т. 4. №2 (15). С. 41–59.
9. Архипов В.В. Клиническая фармакология ингибиторов фосфодиэстеразы // *Практическая пульмунология.* 2014. №3. С. 35–40.
10. Вагина Д.А., Мамедов Я.И. Оценка активности ксантиноксидазы в присутствии растительных экстрактов с преимущественным содержанием флавоноидов // 75-ая X всероссийская итоговая научная студенческая конференция с межд. участием. Челябинск, 2021.
11. Горца перечного трава // *Государственная фармакопея РФ.* XIV изд. Т. 1. М., 2018.
12. Гудкова А.А. Фармакогностическое изучение представителей рода горец (*persicaria mill.*) как перспективного источника получения лекарственных препаратов: дисс. ... докт. фарм. наук. М., 2020. 450 с.
13. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музыкакина Р.А., Толстиков Г.А. *Природные флавоноиды.* Новосибирск, 2007. 232 с.
14. Мальцева А.А., Тринеева О.В. и др. Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов // *Фармация.* 2013. №1. С. 13–16.
15. Высочина Г.И. и др. Флавоноиды Мари белой (*Chenopodium album L.*), произрастающей в Сибири // *Химия растительного сырья.* 2009. №4. С. 107–112.
16. Санникова Е.Г., Попова О.И., Фролова О.О., Айрапетова А.Ю. Изучение флавоноидов ивы трехтычинковой (*Salix triandra L.*), произрастающей на Северном Кавказе // *Фармация и фармакология.* 2016. №3(16). С. 56–67.
17. Кочетова М.В., Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Определение биологически активных фенолов и полифенолов в различных объектах методами хроматографии // *Успехи химии.* 2007. Т. 76. №1. С. 88.
18. Панина С.Б. Роль антиоксидантной системы и провоспалительных цитокинов в механизмах развития гонартроза: дисс. ... канд. биол. наук. Ростов на-Дону, 2016. 149 с.
19. Калинин Е.П., Бояринцев Д.И., Буслаева Н.Н., Ромаданова М.А. Идентификация действующих веществ растительных экстрактов, обладающих антикоагулянтной активностью // *Вестник Удмуртского университета. Серия Биология – науки о земле.* 2017. Т. 27. №3. С. 350–355.

20. Петрова Д.Н. Совершенствование методов анализа ряда флавоноидсодержащих растений: дисс. ... канд. биол. наук. Казань, 2015. 180 с.

Поступила в редакцию 8 июля 2021 г.

После переработки 15 ноября 2021 г.

Принята к публикации 15 декабря 2021 г.

Для цитирования: Бояринцев Д.И., Кузьминов И.В., Вагина Д.А. Выделение флавоноидных ингибиторов ксантинооксидазы из травы горца перечного. Химическая природа и механизм действия // Химия растительного сырья. 2022. №1. С. 133–140. DOI: 10.14258/jcprgm.2022019814.

*Boyarintsev B.I.**, *Kuzminov I.V.*, *Vagina D.A.* ISOLATION OF FLAVONOID XANTHINE OXIDASE INHIBITORS FROM KNOTWEED HERB. CHEMICAL NATURE AND MECHANISM OF ACTION

Tyumen State Medical University, ul. Odesskaya, 54, Tyumen, 625023 (Russia), e-mail: bdy0710@yandex.ru

The aim is to isolate flavonoid xanthine oxidase (XO) inhibitors from the herb of Knotweed, to characterize their nature and to determine the mechanism of action inhibitors.

Objectives: 1. To isolate the amount of flavonoids from the herb of Knotweed and to assess their effect on the activity of XO. 2. Purify the total extract and obtain active fractions containing XO inhibitors, identify their nature. 3. Determine the mechanism of inhibition of XO, isolated by flavonoids.

Methodology: Grass P. hydropiper extracted with 90% ethanol (70 °C for 1 h). A native extract obtained with a flavonoid content of 1.51%. The extract fractionated with heptane and ion exchange chromatography. The anti-xanthine oxidase activity of the fractions assessed by the spectrophotometric method. KO activity expressed in IU / g. The mechanism of action of KO inhibitors in the fractions was determined by constructing kinetic curves of the enzymatic reaction and calculating Km. Flavonoids were identified by TLC, PC, spectrophotometry.

The obtained results and conclusions: 1. The sum of flavonoids from the herb of Knotweed inhibit the activity of KO at a concentration of 2.5 mg / ml. 2. Chalcones inhibiting XO were isolated from the native extract of the herb of Knotweed. 3. Flavonoids in the active fraction reversibly inhibit milk XO by a competitive mechanism

Practical significance and directions for further research: The information obtained is the basis for the development of a new drug used to treat gout. It is necessary to develop a method for isolating a homogeneous flavonoid and conduct its pharmacokinetic studies.

Keywords: flavonoids, knotweed, xanthine oxidase, enzyme inhibitors, identification.

* Corresponding author.

Referenses

1. Liu Y., Hou Y., Si Y., Wang W., Zhang S., Sun S., Liu X., Wang R., Wang W. *Nat. Prod. Res.*, 2020, vol. 34(18), pp. 2566–2572. DOI: 10.1080/14786419.2018.1544981.
2. Wu Z.Y., Zhang H., Li F., Yang F.Q. *Electrophoresis*, 2020, vol. 41(15), pp. 1326–1332. DOI: 10.1002/elps.202000083.
3. Beloborodov V.L., Zurabyan S.E., Luzin A.P., Tyukavkina N.A. *Organicheskaya khimiya*. [Organic chemistry]. Moscow, 2008, vol. 2, pp. 415–492. (in Russ.).
4. Zhelyabina O.V., Yeliseyev M.S. *Sovremennaya revmatologiya*, 2019, vol. 13(4), pp. 137–142. (in Russ.).
5. Dzhons K., Doston R., Elliot D., Elliot U. *Spravochnik biokhimiya*. [Biochemist's Handbook]. Moscow, 1991, 544 p. (in Russ.).
6. White W.B., Saag K.G., Becker M.A., Borer J.S., Gorelick P.B., Whelton A., Hunt B., Castillo M., Gunawardhana L. *N. Engl. J. Med.*, 2018, vol. 378(13), pp. 1200–1210. DOI: 10.1056/NEJMoa1710895.
7. Zverev Ya.F. *Voprosy pitaniya*, 2017, vol. 86, no. 6, pp. 6–20. (in Russ.).
8. Orlova O.O., Kampantseva Ye.V., Dement'eva T.M. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, vol. 4, no. 2 (15), pp. 41–59. (in Russ.).
9. Arkhipov V.V. *Prakticheskaya pul'munologiya*, 2014, no. 3, pp. 35–40. (in Russ.).
10. Vagina D.A., Mamedov Ya.I. *75-aya X vsrossiyskaya itogovaya nauchnaya studencheskaya kon-ferentsiya s mezhd. uchastiyem*. [75th All-Russian final scientific student conference with int. participation]. Chelyabinsk, 2021. (in Russ.).
11. *Gosudarstvennaya farmakopeya RF. XIV izdaniye*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition]. Moscow, 2018, vol. 1. (in Russ.).
12. Gudkova A.A. *Farmakognosticheskoye izucheniye predstaviteley roda gorets (persicaria mill.) kak perspektivnogo istochnika polucheniya lekarstvennykh preparatov: diss. ... dokt. farm. nauk*. [Pharmacognostic study of representatives of the genus mountainer (persicaria mill.) as a promising source of obtaining drugs: diss. ... doc. farm. Sciences]. Moscow, 2020, 450 p. (in Russ.).
13. Korul'kin D.Yu., Abilov Zh.A., Muzychkina R.A., Tolstikov G.A. *Prirodnyye flavonoidy*. [Natural flavonoids]. Novosibirsk, 2007, 232 p. (in Russ.).
14. Mal'tseva A.A., Trineyeva O.V. i dr. *Farmatsiya*, 2013, no. 1, pp. 13–16. (in Russ.).
15. Vysochina G.I. i dr. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2009, no. 4, pp. 107–112. (in Russ.).
16. Sannikova Ye.G., Popova O.I., Frolova O.O., Ayrapetova A.Yu. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, no. 3(16), pp. 56–67. (in Russ.).
17. Kochetova M.V., Semenistaya Ye.N., Larionov O.G., Revina A.A. *Uspekhi khimii*, 2007, vol. 76, no. 1, p. 88. (in Russ.).
18. Panina S.B. *Rol' antioksidantnoy sistemy i provospalitel'nykh tsitokinov v mekhanizмах razvitiya gonar-troza: diss. ...kand. biol. nauk*. [The role of the antioxidant system and pro-inflammatory cytokines in the mechanisms of development of gonarthrosis: diss. ...cand. biol. Sciences]. Rostov-on-Don, 2016, 149 p. (in Russ.).
19. Kalinin Ye.P., Boyarintsev D.I., Buslayeva N.N., Romadanova M.A. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya – nauki o zemle*, 2017, vol. 27, no. 3, pp. 350–355. (in Russ.).
20. Petrova D.N. *Sovershenstvovaniye metodov analiza ryada flavonoidsoderzhashchikh rasteniy: diss. ... kand. biol. nauk*. [Improvement of methods for the analysis of a number of flavonoid-containing plants: diss. ... cand. biol. Sciences]. Kazan', 2015, 180 p. (in Russ.).

Received July 8, 2021

Revised November 15, 2021

Accepted December 15, 2021

For citing: Boyarintsev B.I., Kuzminov I.V., Vagina D.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 133–140. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022019814.