

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



Айрапетян Эмма Эдуардовна

Фармакогностическое изучение полыни метельчатой
(*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.)

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор
Коновалов Дмитрий Алексеевич

Пятигорск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ БОТАНИЧЕСКИХ И ФИТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ <i>ARTEMISIA SCOPARIA</i> WALDST. ET KIT.....	14
1.1. Ботаническая характеристика <i>Artemisia scoparia</i> Waldst. et Kit.....	14
1.2. Распространение, этноботаническое и этномедицинское использование полыни метельчатой.....	15
1.2.1. Распространение.....	15
1.2.2. Этноботаническое и этномедицинское использование.....	16
1.2.2.1. Типичные формулы традиционной китайской медицины, содержащие <i>Artemisiae scopariae herba</i>	18
1.3. Биологически активные вещества надземной части полыни метельчатой.....	19
1.3.1. Эфирное масло.....	19
1.3.2. Фенольные соединения.....	23
1.3.3. Полиацетилены.....	24
1.3.4. Сесквитерпеновые лактоны	26
1.3.5. Другие соединения.....	26
1.3.6. Макро- и микроэлементы	27
1.3.7. Изменчивость содержания биологически активных веществ полыни метельчатой в зависимости от региона выращивания и времени заготовки сырья.....	27
1.3.8. Методы установления подлинности и оценки качества полыни метельчатой.....	30
1.4. Интродукция полыни метельчатой	33
1.5. Фармакологические исследования извлечений и биологически активных веществ из надземной части полыни метельчатой.....	34
1.5.1. Противовирусная активность.....	35
1.5.2. Гепатопротекторная активность	36

1.5.3. Противовоспалительная активность	37
1.5.4. Цитотоксическая активность	39
1.5.5. Токсичность	39
1.5.6. Клинические исследования	40
1.5.7. Биодоступность	41
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1	42
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	44
2.1. Объекты исследования	44
2.2. Методы морфолого-анатомического исследования	45
2.3. Методы исследования биологически активных веществ.....	46
2.3.1. Количественное определение эфирного масла	46
2.3.2. Качественные реакции на основные группы биологически активных веществ	47
2.3.2.1. Определение флавоноидов	47
2.3.2.2. Определение кумаринов	47
2.3.2.3. Определение дубильных веществ	48
2.3.2.4. Определение тритерпеновых соединений	48
2.3.2.5. Определение полисахаридов.....	49
2.3.2.6. Определение сесквитерпеновых лактонов	49
2.3.3. Дифференциальная спектрофотометрия.....	49
2.3.4. Тонкослойная хроматография.....	51
2.3.5. Высокоэффективная жидкостная хроматография	53
2.3.6. Изучение аминокислотного состава методом жидкостной хроматографии.....	55
2.3.7. Сверхкритическая флюидная экстракция.....	55
2.4. Методы определения показателей качества сырья – Полыни метельчатой травы.....	57
2.4.1. Методы отбора проб для анализа	57
2.4.2. Испытания.....	57
2.4.3. Методы исследования макро- и микроэлементного состава.....	58

2.5. Валидация методик количественного определения	58	
2.6. Статистическая обработка данных.....	58	
ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НАДЗЕМНОЙ		
ЧАСТИ ПОЛЫНИ МЕТЕЛЬЧАТОЙ.....		59
3.1. Предварительный качественный анализ.....	59	
3.2. Изучение фенольных соединений надземной части полыни метельчатой.....	59	
3.2.1. Идентификация фенольных соединений в надземной части полыни метельчатой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии	59	
3.2.2. Количественное определение скопарона в траве полыни метельчатой методом тонкослойной хроматографии.....	64	
3.2.3. Количественное определение кислоты хлорогеновой, скопарона, скополетина и умбеллиферона в извлечениях из надземной части полыни метельчатой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии	67	
3.2.4. Количественное определение суммы флавоноидов в надземной части полыни метельчатой.....	69	
3.3. Изучение эфирного масла в надземной части полыни метельчатой	73	
3.3.1. Количественное определение эфирного масла в надземной части полыни метельчатой.....	73	
3.3.2. Изучение компонентного состава эфирного масла из надземной части полыни метельчатой	74	
3.3.3. Количественное определение капиллина в эфирном масле полыни метельчатой.....	81	
3.3.4. Исследование CO ₂ -извлечения из надземной части полыни метельчатой, полученного с помощью сверхкритической флюидной экстракции.....	86	
3.4. Исследование аминокислотного состава полыни метельчатой травы	89	
3.5. Исследование элементного состава надземной части полыни метельчатой.....	90	

3.6. Прогноз вероятных путей реализации противовоспалительной активности для основных действующих соединений из надземной части полыни метельчатой.....	92
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3	100
ГЛАВА 4. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ, РАЗРАБОТКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И НОРМ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ «ПОЛЫНИ МЕТЕЛЬНОЧАТОЙ ТРАВА» И ЭФИРНОГО МАСЛА НА ЕГО ОСНОВЕ	102
4.1. Морфолого-анатомическое исследование надземной части полыни метельчатой.....	102
4.2. Разработка некоторых показателей и норм качества сырья «Полыни метельчатой трава»	108
4.2.1. Подлинность сырья «Полыни метельчатой трава»	108
4.3. Определение показателей качества сырья.....	111
4.4. Нормы качества эфирного масла Полыни метельчатой травы сорта «Таврида»	114
4.5. Разработка и валидация методики количественного определения кислоты хлорогеновой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.....	116
4.5.1. Линейность методики	117
4.5.2. Прецизионность методики	118
4.6. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в Полыни метельчатой траве и её валидация	121
4.6.1. Валидность методики количественного определения суммы флавоноидов в Полыни метельчатой траве	123
ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	132
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	134
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	135
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	136

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	137
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Данные о вторичных метаболитах, идентифицированных в надземной части полыни метельчатой	154
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику научной работы Пятигорского медико- фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России	166
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику учебной работы Пятигорского медико- фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России	167
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику учебной работы ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России.....	168
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику научной работы ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России	169

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В рамках программы Национальной технологической инициативы России по направлению ХелсНет, определяющей развитие лекарственного растениеводства до 2035 года, создание новых лекарственных средств природного происхождения является решением проблемы «поддержания здоровья пожилых людей на уровне, обеспечивающем активное долголетие» [27]. Всё большую ценность представляют «естественные биорегуляторы – традиционные растительные лекарственные средства с исторически доказанной эффективностью и безопасностью» [27]. Важной задачей, стоящей на уровне государства, является «создание научно-образовательных агротехнопарков и развитие отрасли лекарственного растениеводства». Для возрождения отрасли необходима «разработка новых биорегуляторов, выведение их на уровень, соответствующий мировым стандартам» [24]. Перспективными источниками биологически активных веществ для разработки подобных биорегуляторов являются виды рода Полынь (*Artemisia*). Виды этого рода применяются как в народной, так и в официальной медицине многих стран как желчегонные, отхаркивающие, жаропонижающие, бактерицидные, противогрибковые средства [136]. Особое внимание привлекает полынь метельчатая (*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit., *Asteraceae*). Трава полыни метельчатой входит в фармакопеи Китая, Тайваня и Германии, широко применяется в качестве желчегонного, гепатопротекторного, антигипертензивного, антимикробного, противовоспалительного, жаропонижающего средства для лечения гепатита, гипертонии, респираторных заболеваний, хронического цервицита [43, 108].

Степень разработанности темы исследования

Исследования по изучению дикорастущей полыни метельчатой

проводились отечественными и зарубежными учёными. Был изучен химический состав надземной части и эфирного масла. Доказано наличие полиацетиленовых соединений, веществ фенольной природы [21, 22, 31, 33, 38, 49]. Надземная часть этого вида использовалась для разработки лекарственных средств не только в Китае, но и в СССР. Максудовым Н.Х. был разработан препарат «Артемизол», составной частью которого являлось эфирное масло полыни метельчатой. Препарат применялся в урологической практике для лечения мочекаменной болезни. В СССР также на основе эфирного масла полыни метельчатой был разработан противогрибковый препарат «Оласкар» [1]. Несмотря на то, что были попытки введения данного растения в научную медицину, основные задачи для достижения этой цели не были решены. Тем не менее, в последние годы был опубликован целый ряд экспериментальных исследований и обзоров, посвящённых полыни метельчатой, что подтверждает актуальность данной темы и существенные перспективы для её последующей разработки.

Цель и задачи исследования

Целью работы является фармакогностическое исследование надземной части полыни метельчатой и обоснование возможности использования её в качестве источника потенциального сырья для разработки лекарственных средств.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Провести поиск и анализ доступных научных литературных источников, характеризующих состояние изученности полыни метельчатой, химического состава её надземной части, фармакологической активности извлечений и индивидуальных БАВ, возможных методов стандартизации её сырья.
2. Провести фитохимический анализ (определить качественный состав и количественное содержание основных групп БАВ в исследуемом сырье).
3. Выполнить морфолого-анатомическое изучение надземной части полыни метельчатой с установлением анатомо-диагностических признаков.
4. Разработать показатели и нормы качества на Полыни метельчатой траву.

5. Разработать методики качественной идентификации и количественного определения основных групп биологически активных соединений и валидировать их.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное фармакогностическое изучение сырья Полыни метельчатой травы сорта «Таврида», культивируемого на территории коллекционного питомника Никитского ботанического сада, с использованием химических, хроматографических и физико-химических методов анализа. В надземной части полыни метельчатой определены качественно и количественно методами ТСХ, ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС флавоноиды (лютеолин 6,8-ди-С-глюкозид; рутин; гиперозид; кемпферол-О-рутинозид и лютеолин), фенольные кислоты (хлорогеновая кислота, 3,5-, 3,4- и 4,5-дикофеилхинные кислоты) и кумарины (скополетин, скопарон и умбеллиферон). Разработаны методики качественной идентификации и количественного определения содержания основных групп биологически активных соединений, проведена их валидация. Установлены показатели и нормы качества на Полыни метельчатой траву и эфирное масло полыни метельчатой.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость заключается в существенном расширении сведений о комплексе БАВ в траве полыни метельчатой и факторах, влияющих на их накопление. Это имеет важное значение в поиске «естественных биорегуляторов» для лечения и «поддержания здоровья пожилых людей на уровне, обеспечивающем активное долголетие», дальнейшей перспективы разработки на основе Полыни метельчатой травы и её эфирного масла новых лекарственных средств. Практическая значимость заключается в том, что разработанные методики позволяют стандартизовать Полыни метельчатой траву и её эфирное масло по основным группам действующих веществ.

Экспериментально определены сроки заготовки сырья и получения эфирного масла, предложены показатели установления их подлинности и оценки качества. Предварительные фармакологические данные показывают целесообразность дальнейшего изучения эфирного масла и других суммарных комплексов на основе Полыни метельчатой травы в качестве перспективных фармацевтических субстанций для создания новых отечественных лекарственных препаратов.

Методология и методы исследования

Методология изучения полыни метельчатой травы и её эфирного масла основывается на результатах анализа научной литературы по теме исследования. Идентификацию и количественное определение биологически активных веществ проводили с использованием химических, хроматографических и физико-химических методов анализа (ВЭЖХ, ТСХ, хромато-масс-спектрометрия, УФ-спектрометрия, ЯМР- и масс-спектрометрия). Фармакологический скрининг осуществляли с использованием стандартных методик.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты фитохимического изучения основных групп БАВ полыни метельчатой;
2. Результаты морфолого-анатомического исследования надземной части полыни метельчатой;
3. Методики анализа, показатели и нормы качества на Полыни метельчатой траву и эфирное масло полыни метельчатой.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют п. 2, 3, 6 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности полученных данных определяется значительным объёмом экспериментальных исследований, проведенных с использованием современных химических, физико-химических и морфолого-анатомических методов исследования. Результаты научно-исследовательской работы были представлены и обсуждены на конференциях : III Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез » (21 мая-27 мая 2017 год, Краснодар), XXV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (9-12 апреля 2018 года, Москва), Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (19 марта 2021 года, Пятигорск), IV международном симпозиуме «Инженерные науки и науки о Земле: прикладные и фундаментальные исследования» (20 марта 2021 года, г. Грозный), Международной научно-практической конференции «Ароматные и лекарственные растения: интродукция, селекция, агротехника, биологически активные вещества, влияние на человека» (21-25 июня 2021 год, Ялта), Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (18-19 марта 2022 года, Пятигорск), Международной научно-практической конференции «Экологические и фармакогностические вопросы выращивания лекарственных растений» (19-20 декабря 2022 года, Пятигорск), Международной научно-практической конференции «Во имя жизни и здоровья» (30-31 марта 2023 года, Пятигорск), Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (27 марта 2023 года, Пятигорск), Международной научно-практической конференции «Беликовские чтения» (14-15 декабря 2023 года, Пятигорск), Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (28-29 марта 2024 года, Пятигорск), Международной научно-практической конференции «Беликовские чтения» (11-13 декабря 2024 года, Пятигорск). Апробация работы состоялась на заседании кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов

Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (протокол № 5 от 26.09.2023 г.).

Личный вклад автора

При непосредственном участии диссертанта были определены цели и задачи работы. Автор самостоятельно проводил поиск научных литературных источников по теме диссертации, самостоятельно выполнял экспериментальные исследования по фитохимическому, морфолого-анатомическому изучению надземной части полыни метельчатой, разработке методик количественного определения фенольных соединений в траве полыни метельчатой, капиллина в эфирном масле полыни метельчатой. Диссертант установил показатели и нормы качества на Полыни метельчатой траву и эфирное масло полыни метельчатой. Диссертация и автореферат написаны лично автором.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены и используются в учебном процессе, в научно-исследовательской работе:

- методика «Количественное определение капиллина в эфирном масле полыни метельчатой» на кафедре фармацевтической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (акт внедрения от 08.04.2021 г.);

- результаты изучения противовоспалительной активности стоматологического геля с экстрактом полыни метельчатой на кафедре терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний, Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (акт внедрения от 12.04.2021 г.);

- методика «Количественного определения скопарона в траве полыни метельчатой» на фармацевтическом факультете ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России;

- методика «Количественного определения скопарона, скополетина, умбеллиферона, хлорогеновой кислоты в траве полыни метельчатой» в ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России.

Связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена согласно плану работы Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России и в соответствии с тематикой научно-исследовательской работы кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов по теме: «Ботаническое и фармакогностическое исследование дикорастущих и культивируемых растений с целью расширения сырьевой базы и внедрения в медицинскую практику».

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования по теме диссертации автором опубликовано 13 печатных работ, в том числе 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 научная статья в журнале, индексируемом в международной базе Scopus; иных научных публикаций по результатам исследования – 9.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа изложена на 169 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, главы «Объекты и методы исследований», двух глав экспериментальной части, заключения, списка литературы, приложений. Иллюстрирована 45 таблицами и 38 рисунками. Список литературы включает 159 источников, из них 123 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ БОТАНИЧЕСКИХ И ФИТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ *ARTEMISIA SCOPARIA* WALDST. ET KIT.

1.1. Ботаническая характеристика *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.

«Корень нетолстый, прямой, вертикальный; стебель 30-70 см высотой, одиночный, реже в числе 2-3, прямой, в начале опушённый, впоследствии голый, красновато-фиолетовый или бурый, в средней и верхней частях сильно ветвистый, с отклонёнными ветвями; молодые листья мягковолосистые, взрослые – голые; нижние черешковые, дважды-трижды перисторассечённые на линейно-ланцетовидные острые дольки, во время цветения опадающие; средние стеблевые листья сидячие, 1-4 см длиной, с узколинейными или нитевидно-линейными дольками. Корзинки мелкие, 1,5-2 мм длиной, яйцевидные или широко-яйцевидные, на коротких ножках, отклонённые или поникающие, собранные на ветвях односторонними кистями, образующими пирамидальную метёлку; листочки обёртки голые, с плёнчатым краем, наружные овальные, зелёные, внутренние крупнее, гладкие, блестящие; краевые цветки пестичные; цветки диска тычиночные; семянки 0,6 мм длиной, яйцевидные, нитевидно-ребристые, бурые. Обитает на степных солонцеватых лугах, на лёгких супесчаных и песчаных почвах, в качестве сорного на полях, пастбищах, залежах в разреженных сосновых борах, а также на поливных участках, по речным долинам на щебнистых склонах» [28].

«*Artemisia scoparia* – одно- или двулетнее травянистое растение подрода *Draacunculus*, по особенностям вегетации относится к летне-зимнезелёной группе растений. Обладает высокой степенью полиморфизма, в природе полынь метельчатая представлена многообразием форм отличным по своим морфологическим и особенно биохимическим характеристикам» [23].



Рисунок 1 – Внешний вид полыни метельчатой (фото предоставлено Л.А.Логвиненко)

1.2. Распространение, этноботаническое и этномедицинское использование полыни метельчатой

1.2.1. Распространение

Ареал произрастания дикорастущей полыни метельчатой (Рисунок 2) включает: Афганистан, Албанию, Австрию, Болгарию, Россию, Кавказ, Китай, Восточно-Эгейские острова, Египет, Финляндию, Францию, Германию, Грецию, страны Персидского залива, Венгрию, Индию, Монголию, Иран, Ирак, Италию, Японию, Казахстан, Киргизию, Маньчжурию, Монголию, Мьянму, Нидерланды, Пакистан, Польшу, Румынию, Саудовскую Аравию, Швейцарию, Таджикистан, Тибет, Закавказье, Турцию, Туркменистан, Украину, Узбекистан, Западные Гималаи [48].

Вид интродуцирован (занесен) в страны Балтии, Беларусь, Бельгию,

Камбоджу, Великобританию, Корею, Лаос, Ливан, Сирию, на Малые Зондские острова, Малайи, Филиппины, Синай, Суматру, Тайвань, в Таиланд, Вьетнам [48].



Дикорастущая
 Интродуцированная (занесённая)

Рисунок 2 – Ареал распространения полыни метельчатой [48]

1.2.2. Этноботаническое и этномедицинское использование

Полынь метельчатая широко распространена в Индии, России, Китае, Японии, Афганистане и Центральной Европе [49].

В индийской медицине *Artemisia scoparia* считается полезной при болезнях ушей, а её дым используют при ожогах. Настой растения применяют как слабительное [49].

Траву применяют в монголо-тибетской медицине при пожелтении глаз, нарушениях регулирующей системы мкхрис (системы, ответственной за пищеварение, всасывание, энергетические процессы, ассимиляцию) [15, 26, 32].

В иранской медицине надземные части полыни метельчатой широко используются в качестве противовоспалительного, гипогликемического и гиполипидемического средства, применяются при лечении воспаления желчного пузыря, желтухи и гепатита [50]. Растение известно своей инсектицидной активностью [145].

Artemisiae scopariae herba (Инь Чен по-китайски), один из наиболее часто используемых традиционной китайской медицины видов лекарственного растительного сырья. Представляет собой высушенную надземную часть *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. (Бинь Хао по-китайски) или *Artemisia capillaris* Thunb. (Инь Чен Хао). Полынь метельчатая распространена в Китае, в основном, в провинциях Shandong, Shanxi, Anhui и Hebei. Согласно китайской фармакопее, *Artemisiae scopariae herba* собирают либо в виде молодых весенних побегов, густо покрытых сероватыми волосками, когда они достигают 6-10 см в высоту, либо надземную часть в фазу цветения. Эти виды сырья называют «Миан Инь Чен» (“Mian Yin Chen”) и «Инь Чен Хао» (“Yin Chen Hao”) соответственно [81].

Как широко применяемое травяное лекарственное средство *Artemisiae scopariae herba* впервые описана 2000 лет назад в Шен Нонг Бен Цао Цзин (Shen Nong Ben Cao Jing) – одной из самых первых Materia medica традиционной китайской медицины. Оно описано в работах в Шан Хан Лун, Цзинь Куй Яо Лу, Цянь Цзинь Фанг, Бен Цао Ган Му и других известных классиков традиционной китайской медицины (ТКМ) для клинического применения в лечении желтухи, гепатита и аллергического дерматита. От династии Хань до династии Цин в Китае (согласно полным записям Министерства медицины в «Собрании древних и современных книг») использовалось 37 рецептов, содержащих в качестве компонента *Artemisiae scopariae herba* [81].

Желтуха «влажного тепла» – это термин традиционной китайской медицины, обозначающий холестатические симптомы, обнаруживаемые при

различных заболеваниях печени, билиарном циррозе, фиброзе печени и вирусном или невирусном гепатите. *Artemisiae scopariae herba*, хотя и не используется отдельно, является одним из наиболее важных и часто используемых видов ЛРС в формулах ТКМ для лечения желтухи [81].

1.2.2.1. Типичные формулы традиционной китайской медицины, содержащие *Artemisiae scopariae herba*

Artemisiae scopariae herba является основным растительным компонентом в четырех современных самых известных формулах ТКМ. Другие наиболее часто используемые растительные компоненты этих формул включают *Radix Glycyrrhizae*, *Ziziphus jujuba* Mill., *Zingiber officinale* Roscoe. Типичные формулы ТКМ на основе *Artemisiae scopariae herba*, включают её отвар Yin-Chen-Hao, жидкость для перорального применения Yin-Zhi-Huang, порошок Yin-Chen-Wu-Ling, отвар Yin-Chen-Zhu-Fu и отвар Yin-Chen-Si-Ni. Современные формулы ТКМ на основе *Artemisiae scopariae herba* в виде патентованных лекарств представлены гранулами Huangdan Yinchen, жидкостью/капсулами/гранулами Yin-Zhi-Huang для инъекций/перорального применения; сиропом Yinchen Wuling, гранулами Yinchen Peifang и таблетками Hupan.

Отвар Yin-Chen-Hao является классическим рецептом в традиционной китайской медицине уже более 1800 лет. Он был впервые описан Шан Хань Луне Чжан Чжунцином в «Трактате о фебрильных заболеваниях» (“Treatise on Febrile Diseases”) Zhong-Jing Zhang во времена династии Восточная Хань (25–220 гг. н.э.) [151]. Современное использование отвара направлено на лечение острого желтушного инфекционного гепатита совместно с другими лекарственными травами.

Классические китайские формулы включают четыре элемента: лекарство монарха, лекарство министра, лекарство помощника и лекарство слуги. Лекарство монарха играет наиболее важную роль в формуле, лекарство министра увеличивает эффективность лекарства монарха, лекарство помощника помогает

лекарствам монарха и министра достичь своих целей, а лекарство слуги может уменьшить побочные эффекты или повысить эффективность всей формулы [69].

Отвар Yīn-Chén-Nāo готовят из трёх растений: 12 г *Artemisia scoparia*, 9 г *Gardenia jasminoides* и 9 г *Rheum rhabarbarum*. Полыни метельчатой трава – это лекарство монарха, которое «снимает жар и сырость, а также устраняет желтуху». Гардения – это лекарство-помощник, способное «убрать тепло-огонь и влажное тепло», а также удалить патогенные факторы из мочи. Ревень является одновременно и помощником и лекарством-служгой, он действует для «удаления тепла из кишечника, охлаждения крови, детоксикации, устранения застоя и углубления меридианов». Отвар имеет широкие перспективы применения при заболеваниях печени, в частности при лечении гепатитов с желтухой; например, он способствует метаболизму билирубина, может предотвратить повреждение печени и подавляет апоптоз клеток печени, активацию звездчатых клеток печени и синтез коллагена [102].

1.3. Биологически активные вещества надземной части полыни метельчатой

1.3.1. Эфирное масло

Выход эфирного масла из надземной части полыни метельчатой в различных исследованиях составляет от 0,06 до 2,60 об.%. Такой широкий диапазон результатов связан со значительным числом факторов, влияющих на процессы накопления эфирного масла в растении, и зависит от способа предварительной обработки, сушки, длительности и условий хранения сырья, способа выделения (экстракции) масла и т.д. По данным С.В. Жигжитжаповой с соавторами, он также зависит от места сбора, метода экстракции или некоторых других факторов [158]. Количество эфирного масла, полученного из надземной части полыни, собранной в Туркменистане, составило 0,29–0,79 об.%. Растения Узбекистана содержат до 1,28% эфирного масла в листьях и до 0,22 об.% в соцветиях и стеблях. Массовая доля эфирного масла дикорастущей полыни,

собранной в Казахстане, варьировала от 0,08 до 1,0 об.%. Содержание эфирного масла в дикорастущих растениях Кавказа составляло 0,4–1,5 об.%, а в Калмыкии – колебалось от 0,1 до 0,8 об.% [93].

ТСХ и ГЖХ-исследования эфирного масла полыни метельчатой, собранной на юге России (Ставропольский и Краснодарский края) показало присутствие в нём более 30 веществ, из которых 12 являлись основными [31]. ГЖХ/МС-анализ этого же масла показал присутствие 36 веществ, из которых удалось идентифицировать 22 [22]. Д.А. Коновалов с соавторами установили, что эфирное масло надземной части полыни метельчатой, собранной в России, содержит в качестве преобладающих следующие компоненты: капиллен, капиллин, капиллол, α - и β -пинен, мирцен, β -кариофиллен-эпоксид, эвгенол, спатуленол и аромадендрен [20].

Ф.С. Шаропов с соавторами исследовал состав эфирного масла полыни метельчатой, произрастающей в Таджикистане. В качестве основных компонентов масла были идентифицированы 1-фенил-2,4-пентадиен (34,15%), β -пинен (21,3%), метилэвгенол (5,49%), α -пинен (5,38%), мирцен (5,23%), лимонен (5,02%), капиллен (4,87%) и (E)- β -оцимен (3,83%) [33].

Компонентный состав масла из Бурятии и Монголии проанализирован С.В. Жигжитжаповой с сотрудниками. В ходе анализа выявлено, что основными компонентами масла являются *n*-цимол (0,6–15,2%), лимонен (0,1–6,3%), α -пинен (0,2–10,1%), β -пинен (0,4–8,9%), *транс*- β -оцимен (0,3–5,4%), кариофиллен (4,6–13,8%), гермакрен D (11,5–40,3%), спатуленол (4,0–11,7%), оксид кариофиллена (4,3–15,6%) [16].

Доминирующими компонентами в образцах эфирных масел полыни метельчатой из Ирана являлись β -пинен (19,01%), капиллен (17,45%), лимонен (15,11%) и мирцен (10,95) [103]; из Индии – *n*-цимол (20,5%), β -мирцен (13,95%), (+)-лимонен (12,53%) [110], эвгенол и γ -терпинен [39]; из Казахстана – метилэвгенол (27,5%), *n*-цимол (19,8%), спатуленол (8,76%) [73]; из Кореи – 1,8-цинеол и камфора [58]. Основными компонентами эфирного масла в растениях Северо-Восточного Китая были аценафтен, куркумен и (+) оксид кариофиллена

[57].

С.В. Жигжитжаповой с соавторами была предпринята попытка выявить ведущий фактор, оказывающий влияние на состав эфирного масла. Сырьё собирали в ходе экспедиционных работ в 2014–2016 гг. на территории Бурятии и Забайкальского края. Эфирное масло получали методом гидродистилляции из воздушно-сухого сырья. Выход масла колебался от 0,17 до 0,72 (в об.% от воздушно-сухого сырья). Компонентный состав масла определяли методом хромато-масс-спектрометрии. По составу компонентов изученные масла отнесены авторами к хемотипу, содержащему в качестве основных компонентов монотерпеновые и сесквитерпеновые соединения. Во всех образцах идентифицированы β -мирцен, лимонен, α - и β -пинены, α - и β -фарнезены, кариофиллен, α -копаен, спатуленол, в большинстве – *n*-цимол, γ -терпинен, гумулен, кариофиллен оксид. Для эфирных масел полыни метельчатой флоры Забайкалья характерно большое содержание сесквитерпеновых соединений. На основании проведенных исследований выявлено, что решающее влияние на состав эфирных масел оказывает влагообеспеченность растений. В эфирных маслах растений, произрастающих в экотопах с достаточным увлажнением, происходит накопление сесквитерпеновых, а в менее обеспеченных влагой – монотерпеновых соединений. Из полиацетиленовых соединений авторы обнаружили только фалькаринол [32].

С.В. Жигжитжапова с соавторами также провели исследование сырья полыни метельчатой, которое многократно собирали в одной и той же популяции в предгорьях Ганзуринского хребта (Бурятия). Эфирное масло выделяли с помощью гидродистилляции из воздушно-сухого сырья, заготовленного в основные фазы развития растений: начало вегетации, бутонизация, цветение, плодоношение. Состав выделенного эфирного масла изучали с помощью ГЖХ/МС. Наибольшее компонентное разнообразие эфирного масла обнаружено в фазу начала вегетации. Авторы относят проанализированные образцы сырья полыни к хемотипу, содержащему в качестве основных компонентов моно- и сесквитерпеновые соединения [13].

Л.А. Логвиненко и О.М. Шевчук выполнено исследование и дан анализ развития полыни метельчатой в условиях Южного берега Крыма (ЮБК) при осенних сроках посева. В условиях ЮБК к высокомасличным формам капилленового хемотипа авторы отнесли образцы полыни метельчатой, интродуцированные из крайних южных точек её ареала произрастания (Азербайджан). В составе эфирного масла этих образцов содержание основного действующего вещества капиллена колебалось в пределах 55,9-64,2%, а сумма ароматических монотерпеноидов достигала до 28,2% [23]. На основании этих исследований авторами выделена перспективная форма, отличающаяся высокими показателями ценных хозяйственных признаков и значительным содержанием капиллена. Из всего многообразия образцов данная форма проявляла себя как позднеспелая, способная в условиях сухих субтропиков (ЮБК) за вегетационный период формировать жизнеспособные семена. Показано, что растения успешно развиваются, в фазу массового цветения достигают максимальной высоты (до 130 см) и урожайности (121,4 ц/га). Сбор эфирного масла в эту фазу развития растений составляет 82,5 кг/га. Использование разных методов извлечения эфирного масла (по Гинзбергу и по Клевенджеру) позволяет получить одинаковое количество эфирного масла (0,68 об.% от сырой массы) [24].

Из экспериментальных данных, полученных Д.А. Коноваловым [21] следует, что основными компонентами эфирного масла дикорастущей полыни метельчатой, произрастающей на Кавказе, являются ароматические полиацетиленовые соединения – капиллин и капиллен. Максимальное содержание капиллина обнаружено в розеточных листьях (до 45%). С развитием растений оно уменьшалось до 8%. Содержание капиллена, напротив, возрастало и достигало максимума в период бутонизации (73,8%). Что касается других компонентов эфирного масла из листьев, то их содержание невелико. Для спатуленола оно составляло 2,3-4,7%, для ар-куркумена – 1,6-5,6%. Основным компонентом эфирного масла из соцветий полыни метельчатой являлся капиллен. Его максимальное содержание отмечено в период цветения (до 77,1%). Содержание капиллина и большинства других компонентов в эту фазу уменьшается. Таким

образом, в эфирном масле листьев и соцветий с увеличением содержания капиллена снижается содержание капиллина. В отличие от листьев, в эфирном масле соцветий содержится 2,0-2,1% эвгенола. В листьях же он обнаружен в следовых количествах. По содержанию спатуленола, β -кариофиллен эпоксида и ар-куркумена образцы эфирного масла соцветий отличались незначительно. В стеблях основным компонентом эфирного масла являлся капиллен, содержание которого с развитием растения возрастало с 63,4% до 79,8%. Последующий анализ образцов эфирного масла полыни метельчатой из разных регионов её естественного произрастания (Северный Кавказ, Дагестан, Грузия, Приморский край и Украина) показал, что все они имеют довольно близкий качественный состав, но колебания в количественном содержании отдельных компонентов значительны [21].

Лучшим сроком заготовки сырья полыни метельчатой с учётом содержания эфирного масла и полиацетиленовых соединений в нём следует считать период ветвления побегов – начала бутонизации. В зависимости от условий произрастания содержание эфирного масла в этот период составляет 0,21-2,60 об.% [21].

Анализ литературных данных показал, что исследователями достаточно хорошо изучено эфирное масло полыни метельчатой из разных регионов его произрастания, установлены закономерности его накопления в зависимости от разнообразных факторов.

1.3.2. Фенольные соединения

В надземной части полыни метельчатой обнаружены (Таблица 1 в Приложении А.1): кумарины, изокумарины, флавоноиды, фенольные кислоты, включая фенилпропионовые, фенолкарбоновые и простые фенольные кислоты [36, 37, 56, 104, 112, 127-131, 135].

В Монголии группой исследователей в ходе анализа надземной части полыни метельчатой были выявлены следующие соединения: три производные *n*-

кумаровой кислоты – друанин, метил 3-[4 гидроксипренил] кумарат и метил 1-(3, 4-дигидроксифенил) пропеноат; пять флаванов – сакуранетин, нарингенин, блюмеатин, 3,5,5,7-тетрагидроксифлаванон и эриодиктиол; четыре флавонола – цирзилинеол, цирзилиол, яцеозидин и 5,7,2,4-тетрагидрокси-6,5-диметоксифлаван; два флавонола – аксиллярин и гиперин; флаванол – 7-метокситаксифолин; кумарин – скополетин; производное бензойной кислоты – ванилиновая кислота; производное хромона – 6-деметоксикапилляризин; хроман – скопариахроман [86].

Флавоноиды являются наиболее распространенными компонентами извлечений из надземной части полыни метельчатой. В исследовании M. Ranjbar с соавторами этанольного извлечения (80%) из листьев этого вида полыни с использованием дифференциальной колориметрии общее содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин составило $61,1 \pm 0,4$ мкг/мг [116].

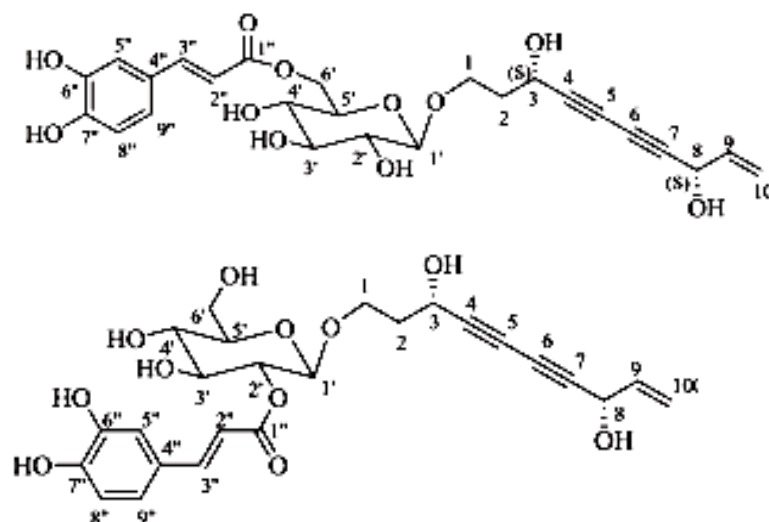
По данным Д.А. Коновалова максимум накопления суммы флавоноидов в листьях совпадает с ростом побегом и началом бутонизации. Содержание дубильных веществ в надземной части полыни метельчатой практически одинаково, начиная с формирования розеточных листьев и до фазы начала цветения растений. К началу плодоношения их содержание резко снижается. В накоплении лигнина наблюдается прямо противоположная тенденция. Из исследованных органов растения наиболее богаты им соцветия и стебли. В обоих органах содержание лигнина увеличивается от фазы бутонизации до плодоношения (22,1-27,0% в соцветиях и 33,2-43,6% в стеблях) [21].

1.3.3. Полиацетилены

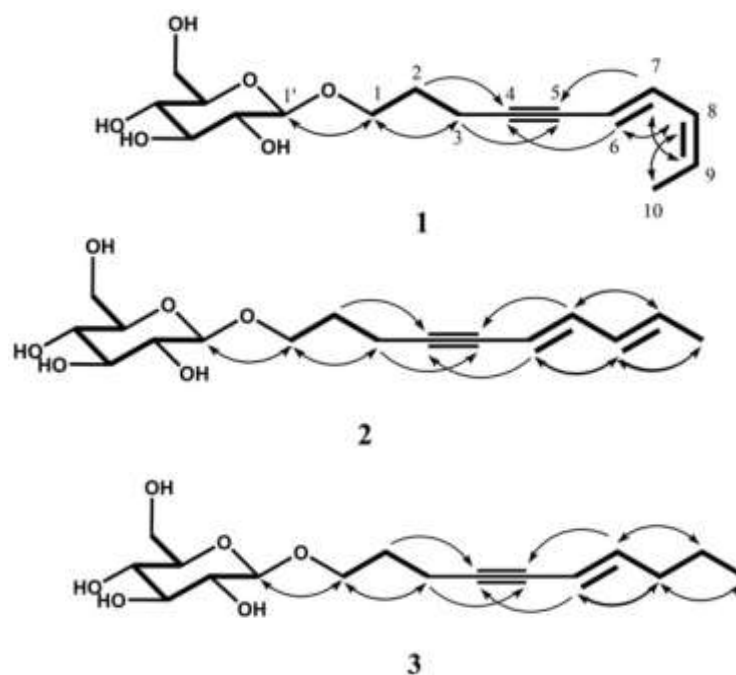
Кроме известных полиацетиленовых соединений (Таблица А.1, Приложение А), идентифицированных в эфирном масле надземной части полыни метельчатой (капиллена, капиллина, капиллола и др.) [21], выделен ряд новых веществ.

Два полиацетиленовых гликозида обнаружены в исследовании С.А. Geng с соавторами [141]. Надземная часть полыни была приобретена в августе 2013 года

у Qinghai Fukang Pharmaceutical Group Ltd., в провинции Цинхай (Китай). Её экстрагировали 90% этанолом. Объединённые извлечения исследовались [54], в результате чего были идентифицированы вещества:



Надземные части полыни метельчатой были собраны J.Y. Cho с соавторами в мае 2013 года в округе Шинан, Корея. Соединения выделяли и очищали из хлороформной и этилацетатной фракций, полученных после разделения горячего водного извлечения. Три новых деценоловых глюкозида были выделены и их структуры были определены как 6E, 8Z-декадиен-4-ин-ол 1-O-β-D-глюкопиранозид (1); 6E, 8E-декадиен-4-ин-ол 1-O-β-D-глюкопиранозид (2) и 6E-децен-4-ин-ол 1-O-β-D-глюкопиранозид (3) [142].



1.3.4. Сесквитерпеновые лактоны

Несколько научных исследований указывают на присутствие в полыни метельчатой сесквитерпеновых лактонов (Таблица А.1, Приложение А). Так Н.Р.Сингх с соавторами в процессе скрининга известного противомаларийного соединения артемизинина в некоторых видах полыней обнаружили его в надземной части полыни метельчатой. Выход составил около 0,015% [85].

Исследователи из Кореи кроме трёх кумаринов (скополетина, скопарона, изофраксидина), обнаружили в надземной части полыни семь сесквитерпеновых лактонов (скопаронолид, эстафиатон, 4 α -дигидроксигуая-11(13), 10 (14)-диен-6 α , 12-олид, эстафиатин, преупатундин, гидроксикостунолид и людовицин) [123].

Результаты этих исследований в определённом смысле нарушают ранее сформированное представление о хемотаксономических маркерах полыней подрода *Dracunculus* (Geissman T.A., Irwin M.A., 1970). Для представителей этого подрода одним из важных хемотаксономических признаков было отсутствие способности синтезировать сесквитерпеновые лактоны. Очевидно, что новые данные о содержании в полыни метельчатой этой группы природных соединений требуют проверки и подтверждения.

1.3.5. Другие соединения

Для надземной части полыни метельчатой в научной литературе описаны также некоторые другие группы соединений (Таблица А.1, Приложение А), такие как стерины, алифатические кислоты, жирные спирты. Примечательно, что *n*-гидроксиацефенон являющийся эффективным желчегонным компонентом, выделенным из надземной части полыни метельчатой, не был обнаружен в близкородственном виде – полыни волосовидной (*Artemisia capillaris* Thunb.) [51, 52, 55, 59, 61, 67, 82, 89, 106, 143, 145, 154].

1.3.6. Макро- и микроэлементы

Интерес к элементному составу лекарственных растений в последние годы обусловлен как «вопросами безопасности использования растительного сырья, так и поисками природных гипераккумуляторов эссенциальных элементов для борьбы с широко распространенными дефицитами последних. Среди возможных механизмов защиты представителей рода Полынь от солевого стресса обсуждаются их генетические особенности, способность к дезактивации ионов натрия, регулирование ионного гомеостаза и антиоксидантная активность. Известно, что галофиты, к которым принадлежат полыни, способны приспосабливаться ко многим абиотическим стрессам внешней среды, абсорбируя токсические металлы в трихомах или вакуолях, обеспечивая осморегуляцию и снижая уровень оксидативного стресса» [13].

Анализ содержания тяжёлых металлов в полыни метельчатой выявил её высокие аккумулирующие способности в отношении Al, As, Pb, V. Исследование А.В.Молчановой с сотрудниками показало, что по содержанию в наземной части можно расположить в следующем порядке:

- макроэлементы (мг/кг свежей массы): Na (168), K (29,44), Ca (12,34), P (5,78), Mg (1,67);

- микроэлементы (мг/кг свежей массы): Fe (713), Se (70), Mg (64,1), Zn (39,0), B (35,9), Si (27,3), Cu (18,5), Li (0,65);

- тяжёлые металлы и мышьяк (мг/кг свежей массы): Al (520), Sr (36,6), Ni (2,17), V (1,2), Cr (0,94), Pb (0,64), As (0,47), Cd (0,19) [13].

1.3.7. Изменчивость содержания биологически активных веществ полыни метельчатой в зависимости от региона выращивания и времени заготовки сырья

Традиционное использование и фармакологические эффекты полыни метельчатой варьируются в зависимости от времени сбора сырья. По данным

некоторых исследователей, регион выращивания и время (фаза) заготовки сырья влияют на состав компонентов в *Artemisiae scopariae herba* [96, 126, 138].

Тан Х. J. с соавторами изучили накопление 13 компонентов (Таблица 1) этого сырья в зависимости от региона и времени его сбора [149]. В этом исследовании использовался метод ВЭЖХ с диодно-матричной детекцией для идентификации и количественного определения фенольных кислот, кумаринов, флавоноидов и 4-гидроксиацетофенона. Было проанализировано 9 образцов сырья, собранных в разное время из различных регионов выращивания в Китае. Среди проанализированных соединений содержание хлорогеновой и 4,5-дикофеилхинной кислот было самым высоким (4,70–27,97 мг/г и 0,40–10,52 мг/г соответственно). Авторы показали, что количество хлорогеновой кислоты со временем заметно снижается. Другие фенольные кислоты, такие как кофейная, 3,5-дикофеилхинная, 4,5-дикаффеилхинная кислоты и 4-гидроксиацетофенон, накапливались в гораздо более высоких количествах в период с мая по июль. Анализируемые образцы содержали гораздо меньшее количество других флавоноидов и кумаринов, таких как рутин, гиперозид, изокверцитрин, скопарон. Осенью содержание скопарона особенно сильно выросло. Содержание 6,7-дигидроксикумарина, скополетина, 7-метоксикумарина и кверцетина было самым низким и близким к следовым количествам. 13 соединений в образцах из разных регионов культивирования показали аналогичную тенденцию. Данные этого исследования, по мнению авторов, указывают, что сбор *Artemisiae scopariae herba* следует проводить либо в конце августа, либо в начале сентября [125].

Таблица 1 – Содержание БАВ в надземной части полыни метельчатой в разное время её роста и развития [118]

Группа БАВ	Компонент	Содержание (мг/г)			
		март-апрель	май-июль	август-сентябрь	октябрь
Кумарины	Скопарон	0,089-0,179	0,051-2,618	3,050	
			0,103	2,600-3,600	1,200
		4,600-14,800			

Продолжение Таблицы 1

Кумарины	Скопарон	6,341			
		0,035			
	Скополетин	0,031-0,035	0,031-0,040	0,054	
		0,037			
	7-Метоксикумарин	0,002-0,020	0,008-0,081	0,023	
6,7-Дигидроксикумарины	следы	0,013-0,021	следы		
Хромоны	Капилляризин	0,034			
		2,652			
Флавоноиды	Гиперозид	0,444-0,876	0,111-2,082	1,755	
	Цирсилиол			0,240-0,620	
				0,260-2,570	0,100-0,230
	Цирсилинеол			0,490-5,800	
				0,050-3,110	0,030-0,660
	Аркапиллин			0,270-0,980	
				0,260-2,150	0,400
	Рутин	0,358-0,524	0,299-1,005	1,396	
	Цирсимаритин			0,100-0,380	
				0,310-1,160	0,180-0,280
Кверцетин	следы	0,070-0,152	0,515		
Фенольные кислоты	Хлорогеновая кислота	18,130-27,972	4,511-9,668	4,553	
		1,463-12,900			
		8,100		4,600	
				4,200-4,300	2,000-2,100
		0,520-11,500			
		2,100-14,300			

Продолжение Таблицы 1

Фенольные кислоты	Хлорогеновая кислота	14,356-20,672			
		0,926			
	4,5-Дикофеилхинная кислота	4,079-6,319	5,901-10,522	5,612	
		0,123-0,262	0,285-0,732	0,208	
	Кофейная кислота	0,167-0,261	0,101-0,168	0,126	
		4,329-6,495			
0,225					
Альдегиды и кетоны	4-Гидроксиацетофенон	0,467-1,026	0,544-2,608	0,511	
		6,732-8,795			
		0,300-0,340			
Тритерпеноиды	Олеаноловая кислота	1,890-4,980			
Эфирное масло	Эвгенол	0,068			
Полисахариды		4,600-6,600			

Таким образом, основные химические компоненты в надземной части полыни метельчатой меняются в зависимости от сезона: весеннее сырьё «Mian Yinchen» богато эфирным маслом и хлорогеновой кислотой, а в собранной осенью траве «Hua Yinchen» преобладают флавоноиды и кумарины [138, 156].

1.3.8. Методы установления подлинности и оценки качества полыни метельчатой

Artemisia scoparia herba включена в фармакопеи Китая, Тайваня, Германии (Таблица 2). В них для этого сырья описаны следующие группы фенольных соединений: флавоны – цирзилинеол, цирзимаритин, генкванин, рамноцитрин, аркапиллин, энкатолитин, капилляризин; фенолкарбоновые кислоты –

хлорогеновая, изохлорогеновая; кумарины: скопарон, скополетин, капиллартемизин А, В, умбеллиферон [108].

Таблица 2 – Показатели качества полыни метельчатой травы в фармакопеях Китая, Тайваня, Германии

Фармакопея	Показатели качества					
	Влажность	Зола общая	Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	Экстрактивные вещества	Качественное определение	Количественное определение
Китай	-	-	-	-	ТСХ (хлорогеновая кислота, скополетин, умбеллиферон) ВЭЖХ (хлорогеновая кислота, скопарон, скополетин, умбеллиферон, капиллен)	-
Тайвань	Не более 13,0%	Не более 30,0%	Не более 15,0%	Не менее 7,0% в разб. этаноле; не менее 8,0% в воде	ТСХ (хлорогеновая кислота)	-
Германия	Не более 11,0%	Не более 14,0%	Не более 5,0%	-	ТСХ (рутин, хлорогеновая кислота)	ВЭЖХ (не менее 0,2% хлорогеновой кислоты)

Исходя из представленных данных различных фармакопей, хлорогеновая кислота является наиболее характерной фенольной кислотой в *Artemisiae*

scopariae herba. Многие исследования сообщают о наличии этой кислоты. По данным Х.Д. Тан с соавторами содержание хлорогеновой кислоты достигало максимума в апреле (до 27,97 мг/г), затем снижалось (примерно до 4,00 мг/г) летом и в начале осени, в октябре – до 2,00–2,10 мг/г [125, 149]. Примечательно, что содержание хлорогеновой кислоты значительно варьировалось в различных исследованиях, с самым низким значением 0,520 мг/г и максимальным значением 47,730 мг/г [118].

Скопарон и капилляризин считаются основными желчегонными компонентами *Artemisiae scopariae herba*. Содержание скопарона в *Artemisiae scopariae herba* по данным некоторых исследований составляло 0,089-0,179 мг/г (воздушно-сухое сырьё) в марте и апреле, затем увеличивалось и достигало максимума примерно в августе и сентябре (около 2,600-3,600 мг/г), а в октябре снижалось до 1,200 мг/г [149]. Однако в других исследованиях было обнаружено более значительное накопление скопарона в *Artemisiae scopariae herba* – от 4,6 до 14,8 мг/г. Что касается капилляризина, то в двух исследованиях сообщается, что его содержание колеблется от 0,034 мг/г до 2,652 мг/г [49, 113].

Количественное содержание скопарона в траве в соответствии с требованиями Китайской фармакопеи – основной показатель для контроля её качества.

Гиперозид и рутин являются типичными флавоноидами, обнаруженными в *Artemisiae scopariae herba*. Несколько исследователей установили, что содержание гиперозида составляло весной 0,194-0,891 мг/г и повышалось до 1,755 мг/г осенью.

Однако другое исследование показало, что содержание гиперозида весной составляло 2,930–15,580 мг/г. Содержание рутина (гликозида кверцетина) варьировало от 0,358 до 0,524 мг/г в марте-апреле и повышалось до 1,396 мг/г в августе-сентябре [113].

1.4. Интродукция полыни метельчатой

Л.А. Логвиненко, О.М. Шевчук изучили особенности развития, динамики накопления и химического состава эфирного масла в течение вегетационного периода в образцах полыни метельчатой (травы) различного эколого-географического происхождения. Интродукционные исследования этой полыни в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре РАН (НБС-ННЦ РАН) были начаты ещё в 1980 году [24].

Интродукционное изучение проводили по методике, разработанной и применяемой в отделе ароматических и лекарственных культур НБС-ННЦ РАН [18]. Массовую долю эфирного масла (ЭМ) определяли в свежесобранном сырье методом гидродистилляции по Гинзбергу. Динамику биосинтеза ЭМ исследовали по основным фазам роста и развития на протяжении 2015–2017 гг. [24].

Изучение многочисленных образцов, привезённых из разных мест естественного произрастания (Грузия, Азербайджан, Краснодарский край, Крым) и интродуцированных в условиях коллекционного питомника НБС-ННЦ РАН, показало, что по содержанию ЭМ изученные образцы можно разделить на 3 группы:

- с низким содержанием эфирного масла (0,20-0,25% в пересчёте на свежее сырьё);
- со средним содержанием (0,37-0,40% в пересчёте на свежее и 0,93%-0,98% в пересчёте на воздушно-сухое сырьё);
- с высоким содержанием (более 0,50% в пересчёте на свежее и более 1,0% в пересчёте на воздушно-сухое сырьё) [24].

Весь последующий отбор (направленная селекция) проводился на основе образцов третьей группы с использованием многократного индивидуального отбора. В результате был получен сорт *Artemisia scoparia* cv. 'Таврида'. В настоящее время НБС-ННЦ РАН является оригинатором (создателем) сорта *Artemisia scoparia* cv. 'Таврида', который внесён в список (реестр) разрешенных к распространению на юге России сортов растений.

«Сорт полыни метельчатой «Таврида» неприхотлив к условиям возделывания, хорошо растет в условиях культуры, выдерживает засуху, засоление, не повреждается вредителями и болезнями. Наиболее эффективным методом его размножения является его воспроизведение с помощью семян. При посеве семян под зиму уже в марте (вторая-третья декады) появляются всходы, а через 2-3 недели происходит формирование розетки листьев. Примерно через месяц растения данного сорта вступают в фазу активного роста побегов. Цветение растений начинается в конце лета (середина августа – весь сентябрь). Семена созревают в октябре – начале ноября. Сорт характеризуется как высокоурожайный (68-70 ц/га) и высокомасличный. Эфирное масло светло-коричневого цвета с красно-коричневым оттенком и с ярко выраженным гвоздично-перечным ароматом»[24].

Установлено, что образование эфирного масла *Artemisia scoparia* cv. 'Таврида' происходит уже на стадии формирования побегов, составляя 0,43-0,46% в пересчёте на свежее сырьё. Наибольшее содержание эфирного масла обнаружено в фазу цветения – 0,84-0,86% в пересчёте на свежее и 1,77-1,79% в пересчёте на высушенное сырьё. В условиях ЮБК данный сорт характеризуется высокой урожайностью. Максимальная урожайность отмечена в фазу массового цветения растений – 121,4 ц/га [23].

1.5. Фармакологические исследования извлечений и биологически активных веществ из надземной части полыни метельчатой

На основе эфирного масла полыни метельчатой ранее был разработан комбинированный препарат «Артемизол», оказывающий болеутоляющее, диуретическое, бактерицидное, седативное действие при мочекаменной болезни [25].

Японскими учёными установлено, что полиацетилен капиллин, выделенный из полыни волосовидной, произрастающей в Японии, обладает сильным противогрибковым действием (Имаи К., 1956; Имаи К., Икэда Н., Танака К.,

Сугавара С., 1956) [2]. Исследования Д.А. Коновалова [22] показали значительное содержание капиллина в эфирном масле ботанически близкого вида – полыни метельчатой. Образцы эфирного масла и его основных компонентов: капиллина, капиллена, спатуленола, эвгенола, β -кариофилен эпоксида были исследованы в лаборатории антимикробных и противовирусных средств НИИ ВИЛАР на наличие противогрибковой активности (*in vitro* и *in vivo*). На животных исследуемые вещества испытывались в виде линиментов. В опытах *in vitro* было установлено, что капиллин, капиллен и спатуленол обладают фунгистатическим эффектом в концентрациях 1,95-3,9 мкг/мл; 3,9-7,8 мкг/мл и 3,9 мкг/мл, соответственно, и антибактериальной активностью. Выявлена высокая фунгистатическая активность самого эфирного масла в отношении мицелиальных грибов родов Трихофитон и Микроспорум. Отмечена также значительная фунгистатическая активность в отношении дрожжеподобных грибов рода Кандида, как и бактериостатическая активность в отношении грамположительных бактерий [1]. По данным лаборатории токсикологии НИИ ВИЛАР эфирное масло полыни метельчатой является малотоксичным; в связи, с чем были изучены возможности использования всего эфирного масла полыни метельчатой для создания фунгистатического и бактерицидного средства. В результате последующих исследований был разработан оптимальный состав противогрибкового линимента, получившего название «Оласкар» [22]. Способ получения данного препарата был в последующем защищён патентом №2039565 от 20.07.95 г. «Противогрибковое средство».

Эфирное масло полыни метельчатой использовалось также при создании крем-пены «Корсар», способ получения и состав которой защищён патентом №2139706 от 28.05.96 г «Средство для бритья».

1.5.1. Противовирусная активность

Сумма флавоноидов, выделенная из полыни метельчатой исследователями из Синьцзянского института Materia Medica (Китай), на модели пневмонии

мышей и линии клеток Hep-2 ингибировала репликацию двух штаммов вирусов гриппа (H1N1) *in vitro* и *in vivo* при концентрации 0,1-0,4 г/кг, перорально [71]. При последующем изучении активности отдельных компонентов суммы флавоноидов обнаружили, что флавоноид цирсимаритин дозозависимо снижает титр вируса гриппа А и синтез белка [65].

Другая группа учёных из Китайской академии наук обнаружила, что 95% этанольное извлечение из надземной части полыни метельчатой обладает активностью в отношении вируса гепатита В [141]. Из этого извлечения были выделены и идентифицированы три новых соединения: скопарамид А, 3S,8S-дигидроксидек-9-ен-4,6-ин-1-О-(6-О-кофеил)-β-D-глюкопиранозид и 3S, 8S-дигидроксидек-9-ен-4,6-ин-1-О-(2'-О-кофеил)-β-D-глюкопиранозид. Первые два вещества ингибировали репликацию ДНК вируса в клетках HepG2.2. со значением IC₅₀ 0,07±0,04 мМ и 0,12±0,05 мМ соответственно. Анализ взаимосвязи структура-активность показал, что кофеильная группа играет важную роль в противовирусной активности этих веществ [141].

1.5.2. Гепатопротекторная активность

В нескольких опубликованных исследованиях сообщалось, что неочищенное извлечение из надземной части полыни метельчатой обеспечивает защиту от гепатотоксичности [94, 95]. Введение извлечения в дозе 150 мг/кг два раза в день заметно снизило уровень ферментов: глутамино-оксалоуксусной трансаминазы и глутамино-пировиноградной трансаминазы в сыворотке крови (до 93±05 и 27±03 МЕ/л, соответственно) крыс, предварительно обработанных четыреххлористым углеродом, что указывает на гепатопротекторное действие [78].

Рутин, выделенный из полыни метельчатой, был исследован на модели токсического повреждения печени. Предварительное введение крысам рутина (20 мг/кг) предотвращало вызванное парацетамолом повышение сывороточного уровня аспартаттрансаминазы и аланинтрансаминазы, а также сокращало

вызванное CCl_4 удлинение времени пентобарбиталового сна, подтверждая гепатопротективные свойства этого флавоноида [90].

Скопарон также оказывает защитное действие на печень. Он может уменьшить гепатотоксичность и холестаза. Он также улучшал нарушенную аутофагию и несколько ключевых признаков неалкогольного стеатогепатита у мышей, ингибируя пути ROS/P38/Nrf2 и PI3K/AKT/mTOR [120]. K.Nuh с коллегами сообщили, что скопарон способен ингибировать активность ксантиноксидазы и, тем самым, регулировать активность глюкуронилтрансферазы и сульфотрансферазы, таким образом, защищая печень от внешних канцерогенов [83]. Пероральное введение крысам скопарона (35 мг/кг) подавляло сывороточные уровни аспартаттрансаминазы, аланинтрансаминазы и щелочной фосфатазы [119].

Помимо скопарона, выраженным гепатопротекторным действием обладают аркапиллин, кверцетин, изорамнетин и капилляризин [148]. Эти исследования позволяют с научной точки зрения объяснить практику использования извлечений из надземной части полыни метельчатой в народной медицине разных стран при токсическом повреждении и болезнях печени.

1.5.3. Противовоспалительная активность

Современные фармакологические исследования предоставили научную основу для понимания жаропонижающего и противовоспалительного действия извлечений из травы полыни метельчатой при традиционном использовании. Например, M. Nabib с коллегами сообщили, что введение однократных внутривентральных доз воднометанольного извлечения этой полыни значительно уменьшало вызванный каррагинаном отек лапы у крыс и увеличивало время термической ноцицепции у крыс в дозах 400 и 800 мг/кг [79]. Кроме того, извлечение подавляло корчи, вызванные уксусной кислотой, и ослабляло гипертермию у мышей.

В другом исследовании 80% спиртовое извлечение из надземной части полыни метельчатой подавляло активность продукции оксида азота (NO) [86].

Кроме того, A. Boudreau с сотрудниками обнаружили, что этанольный экстракт (50 мкг/мл) снижает воспалительную генную экспрессию (моноцитарного хемоаттрактантного белка-1, IL-6, iNOS и Lcn2), а также подавляет воспалительные реакции, по крайней мере, посредством двух различных сигнальных путей в клетках инсулиномы крыс линий 3T3-L1, RAW264.7 и 832/13 [100]. Все эти исследования демонстрируют, что неочищенные экстракты полыни метельчатой обладают заметной противовоспалительной активностью, что подтверждает их традиционное использование.

Кроме того, сумма флавоноидов полыни метельчатой (12,5–100 мкг/мл) способна подавлять продукцию NO и химически активных форм кислорода, стимулированную липополисахаридом в клетках RAW264.7 [71].

Кумарины полыни также обладают выраженным противовоспалительным действием. Y. Dou с коллегами сообщили, что скополетин уменьшал синовиальное воспаление, разрушение хрящей и костей у крыс с адьювантным артритом в концентрациях 15, 30 и 60 мкМ [121].

H.J. Kim с соавторами установили, что скополетин (1–50 мкг/мл) подавляет продукцию провоспалительных цитокинов и проявляет ингибирующую активность в отношении липополисахарид-индуцированной продукции PGE₂ посредством подавления экспрессии COX-2 [122].

По данным Fan Ying с сотрудниками, скопарон способен подавлять воспаление за счет снижения содержания IL-5 в сыворотке крови, BALF и PLA₂ в тканях легких на модели астматической морской свинки [88].

Были изучены противоаллергические и противовоспалительные эффекты полыни метельчатой и её активного соединения – 3,5-дикофеилэпихинной кислоты. Высушенные образцы надземной части после обезжиривания экстрагировали метанолом. Водный слой разделяли между н-бутанолом и водой. В результате препаративной ТСХ на силикагеле в системе растворителей этилацетат – метанол – вода (30: 5: 4) выделили 18 мг 3,5-дикофеилэпихинной кислоты. Бутанольная фракция и 3,5-дикофеилэпихинная кислота значительно снижали уровни продукции провоспалительных и вазоактивных химических

медиаторов TSLP, TNF- α , IL-1 β и IL-6 посредством ингибирования сигнального пути каспаза-1/NF- κ B. При этом какого-либо цитотоксического эффекта не наблюдалось. Таким образом, результаты показали, что полынь метельчатая и её активное соединение, 3,5-дикофеилэпихинная кислота имеют потенциал использования при лечении воспалительных заболеваний, опосредованных тучными клетками [46].

1.5.4. Цитотоксическая активность

В экспериментальном исследовании S. Moulaie с соавторами были синтезированы (с использованием методов зелёной химии) наночастицы серебра. Антибактериальную активность синтезированных частиц характеризовали, определяя минимальную ингибирующую концентрацию (МИК), а цитотоксичность – в отношении линии клеток рака легкого (A549) в диапазоне концентраций 3,125-100 мкг/мл. Результаты показали, что биосинтезированные наночастицы обладают значительной антибактериальной активностью и дозозависимой цитотоксичностью в отношении линии клеток рака легкого (A549) [101].

1.5.5. Токсичность

В рамках оценки безопасности полыни метельчатой травы как широко используемого лекарственного сырья в ТКМ были изучены гранулы Fufang-xiongdan-yinchen. Их в растворённом виде вводили серым крысам (*Rattus norvegicus*) (2 мл/кг) через желудочный зонд в течение 90 дней. Никаких явных патологических изменений печени, селезенки, надпочечников и семенников у животных не наблюдалось [80].

В эксперименте по изучению потенциальной токсичности формулы Xiongdan-yinchen эту пероральную жидкость давали десяти утятам через желудочный зонд в течение 10 дней в дозе 60 г/кг, 2 раза в день, что было

эквивалентно 30-кратной клинической дозе для человека. Результат показал, что LD₅₀ превышает 60 г/кг/сут [92].

Два приведенных выше экспериментальных результата показывают, что формулы традиционной китайской медицины, содержащие в качестве основного компонента траву полыни метельчатой, безопасны. Однако необходимы дополнительные исследования токсичности извлечений и экстрактов из наземной части полыни метельчатой выполненные в рамках клинических исследований.

1.5.6. Клинические исследования

В своём обзоре J.Y. Li с соавторами приводят результаты клинических испытаний эффективности отвара Yīn-Chén-Nāo при заболеваниях печени и возможные механизмы его действия *in vitro* и *in vivo*. Исследования показывают, что отвар Yīn-Chén-Nāo может модулировать различные молекулярные пути при заболеваниях печени. Данное средство, по данным авторов, широко используется в Китае в клинических условиях для лечения заболеваний печени и может быть безопасным и новым терапевтическим препаратом при повреждении печени во всем мире [140].

Было проведено значительное количество клинических исследований формул традиционной китайской медицины, включающих траву полыни метельчатой [63, 64, 70, 72, 75-77, 91, 97, 98, 107, 119, 124, 132, 136, 139, 146-148, 150, 152, 154, 155, 157]. Причём эффективность этих лекарственных средств сравнивалась с результатами лечения широко используемыми европейскими препаратами. Формулы традиционной китайской медицины во многом подтвердили свою эффективность, а в некоторых исследованиях их эффективность превышала результаты лечения с использованием общепринятых европейских схем лечения [140].

1.5.7. Биодоступность

Y. Fang с соавторами [74] для выяснения клинических эффектов скопарона, выделенного из полыни метельчатой, использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). Для определения вещества в плазме кроликов были выбраны две эффективные дозы: 2,0 и 3,6 мг/кг. После внутривенного введения период полувыведения скопарона составил 8,6 и 10,4 минут соответственно. Средние значения периода полувыведения ($T_{1/2}$) показали, что они не зависят от дозировки. Распределение кумарина в плазме крови кроликов и его выведение происходили относительно быстро. По мнению исследователей, эти результаты показывают, что скопарон можно легко вводить с помощью аэрозольных ингаляторов. Кроме того, он не должен вызывать побочных эффектов, поскольку эффективная концентрация остается в сыворотке всего 12 минут, а его период полувыведения сравнительно мал [74]. При изучении рационального ежедневного приема отвара Yin-chen-hao для лечения экспериментальной желтухи у крыс L.V. Jun-lan с коллегами моделировали патологию 4% 1-нафтилизотиоцианатом (75 мг/кг) в течение 48 часов. Затем вводили отвар в разных дозах. В дозе 0,324 г/кг – один раз, в дозе 0,162 г/кг – дважды и в дозе 0,108 г/кг – трижды в сутки. Установлено, что концентрация скопарона в крови животных при введении один раз в день поддерживалась на более высоком уровне в течение более длительного времени [117]. В исследовании Z.G. Yu с соавторами отвара Yīn-Chén-Nāo использовалась ВЭЖХ совмещённая с УФ-детектором для тестирования скопарона в плазме крыс после внутрижелудочного введения отвара Yīn-Chén-Nāo или водных отваров отдельных растений, входящих в формулу (полыни метельчатой, гардении жасминовидной и ревеня волнистого). Исследование показало, что уровень скопарона после приема отвара Yīn-Chén-Nāo был значительно выше, чем у водного извлечения из травы полыни метельчатой. Более того, терапевтический эффект отвара Yīn-Chén-Nāo оказался лучше, чем у отдельно используемых отваров трав составляющих это лекарственное средство [68].

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 1

1. Анализ доступной научной литературы по изучению надземной части полыни метельчатой показал, что исследователями, в основном, достаточно хорошо изучено эфирное масло этого вида. Другие группы биологически активных веществ растения мало изучены и представляют огромный интерес в связи с необходимостью уточнения их лечебных свойств и возможной токсичности.

2. Установлено, что эфирное масло содержится во всех органах надземной части полыни метельчатой в течение практически всего онтогенеза и колеблется в зависимости от многих факторов от 0,06% до 2,60%. Его качественный состав и количественное содержание отдельных компонентов варьирует в зависимости от места произрастания, фазы развития и некоторых других факторов. Для дикорастущих популяций полыни метельчатой характерна высокая степень полиморфизма, многообразие форм отличных по своим морфологическим и особенно биохимическим характеристикам. Некоторыми исследователями выделены хемотипы растения в зависимости от состава эфирного масла. Сырьём для получения эфирного масла полыни метельчатой может служить вся её надземная часть (без одревесневших нижних частей стеблей).

3. Несмотря на активное использование лекарственных средств традиционной китайской медицины в мире и полыни метельчатой травы как лекарственного растительного сырья (фармакопеи Германии, Китая, Тайваня), в России данный вид полыни можно отнести к малоизученному, хотя имеются его культивируемые сорта и возможность их промышленного внедрения. Клинические испытания лекарственных средств на основе полыни метельчатой травы проводились только в рамках традиционной китайской медицины.

4. По данным литературы в весеннем сырье (побеги в фазу стеблевания) полыни метельчатой преобладающими компонентами являются хлорогеновая кислота и полиацетиленовые соединения, а в летнем сырье (трава в фазу цветения) – флавоноиды (рутин, гиперозид) и кумарины (скопарон, скополетин).

5. Эфирное масло, фенольные и полиацетиленовые соединения, описанные в научной литературе для надземной части полыни метельчатой, характеризуются разнообразными фармакологическими эффектами. При этом противомикробная и противовоспалительная активности, установленные у суммарных извлечений из *Artemisiae scopariae herba*, являются перспективными направлениями исследований для разработки новых лекарственных средств на их основе. Также очевидно, что для обоснования этой возможности необходимо комплексное фармакогностическое изучение «Полыни метельчатой травы» и разработка методов стандартизации этого лекарственного сырья по основным действующим веществам.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объекты исследования

Объектом исследования являлась полынь метельчатая сорта «Таврида», заготовленная в основные фазы роста и развития (ветвление, бутонизация, цветение, созревание семян) в период 2016-2020 гг. на территории НБС – ННЦ РАН. В качестве сырья использовали надземную часть растения, срезанную на высоте 20-30 см над поверхностью почвы [23].

Таблица 3 – Образцы надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» использованные в исследовании

Номер образца	Год сбора образца	Фаза вегетации	Время сбора
1.	2016	Ветвление	май
2.		Бутонизация	август
3.		Начало цветения	сентябрь
4.		Массовое цветение	сентябрь
5.		Конец цветения	сентябрь
6.		Созревание семян	октябрь
7.	2017	Ветвление	май
8.		Бутонизация	август
9.		Начало цветения	сентябрь
10.		Массовое цветение	сентябрь
11.		Конец цветения	сентябрь
12.		Созревание семян	октябрь
13.	2018	Ветвление	май
14.		Бутонизация	август
15.		Начало цветения	сентябрь
16.		Массовое цветение	сентябрь
17.		Конец цветения	сентябрь
18.		Созревание семян	октябрь
19.	2019	Начало цветения	сентябрь
20.		Массовое цветение	сентябрь
21.		Конец цветения	сентябрь
22.	2020	Начало цветения	сентябрь
23.		Массовое цветение	сентябрь
24.		Конец цветения	сентябрь

Примечание: данные образцы были предоставлены сотрудником Никитского ботанического сада Шевчук О.М. и Логвиненко Л.А. в рамках совместного изучения

Таблица 4 – Образцы эфирного масла, полученные в НБС-ННЦ РАН и на кафедре фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

Номер образца	Год получения образца	Фаза вегетации	Происхождение образцов
1.	2016	Ветвление	НБС-ННЦ РАН
2.		Бутонизация	НБС-ННЦ РАН
3.		Начало цветения	НБС-ННЦ РАН
4.		Массовое цветение	НБС-ННЦ РАН
5.		Конец цветения	НБС-ННЦ РАН
6.		Созревание семян	НБС-ННЦ РАН
7.	2017	Ветвление	НБС-ННЦ РАН
8.		Бутонизация	НБС-ННЦ РАН
9.		Начало цветения	НБС-ННЦ РАН
10.		Массовое цветение	НБС-ННЦ РАН
11.		Конец цветения	НБС-ННЦ РАН
12, 13		Созревание семян	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
14, 15	2018	Ветвление	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
16, 17		Бутонизация	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
18, 19		Начало цветения	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
20, 21		Массовое цветение	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
22, 23		Конец цветения	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
24, 25		Созревание семян	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
26, 27	2019	Начало цветения	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
28, 29		Массовое цветение	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
30, 31		Конец цветения	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
32, 33	2020	Начало цветения	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
34, 35		Массовое цветение	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ
36, 37		Конец цветения	НБС-ННЦ РАН, ПМФИ

2.2. Методы морфолого-анатомического исследования

Определение и описание внешних признаков *Artemisiae scopariae herba* проводили в соответствии с общими фармакопейными статьями (ОФС) ГФ РФ XIV издания «Лекарственное растительное сырье. Фармацевтические субстанции растительного происхождения» и «Травы» [4, 14]. Микроскопический анализ – согласно ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [4, 14].

В процессе экспериментальных исследований использовали микроскопы:

люминесцентный Микромед 3 ЛЮМ и биологический Микромед 1 (вар. 3-20) (ООО «Наблюдательные приборы», Россия).

Микрофотографии были получены с использованием видеоокуляра DCM-130 ESCOPE.

2.3. Методы исследования биологически активных веществ

2.3.1. Количественное определение эфирного масла

Количественное содержание эфирного масла определяли методом перегонки с водяным паром из сырья при использовании прибора Клевенджера в модификации Лошкарева на кафедре фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в соответствии с требованиями метода 2 ОФС 1.5.3.0010.15 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [4, 14].

«Навеску сырья (от 250 до 300 г сухого сырья), измельченного до размера 5-7 мм, помещали в колбу вместимостью 4000 мл, приливали 3 л воды очищенной и доводили до кипения. Эфирное масло отгоняли при скорости стекания дистиллята 60-65 капель в минуту в течение 5 часов. Через 5 минут после окончания перегонки измеряли объём эфирного масла в приёмнике. Выделенное эфирное масло пропускали через слой силикагеля (2-3 см) для удаления воды» [29].

«Содержание эфирного масла в пересчёте на абсолютно сухое сырьё в массо-объемных процентах (X) вычисляли по формуле»:

$$X = \frac{V \times 100 \times 100}{a \times (100 - W)}, \text{ где}$$

V – объём эфирного масла, мл;

a – навеска лекарственного растительного сырья, г;

W – влажность сырья, % [10, 29].

2.3.2. Качественные реакции на основные группы биологически активных веществ

Приготовление водного извлечения. «Измельчённое сырьё *Artemisiae scopariae herba* экстрагировали (1:10) водой очищенной на кипящей водяной бане (с обратным холодильником) в течение 1 часа. Полученное извлечение после охлаждения фильтровали».

Приготовление спиртового извлечения. «Измельчённое сырьё *Artemisiae scopariae herba* экстрагировали (1:20) спиртом этиловым 70% на кипящей водяной бане (с обратным холодильником) в течение 1 часа. Полученное извлечение охлаждали, фильтровали».

2.3.2.1. Определение флавоноидов

«2,0 г измельченного сырья помещали в колбу, прибавляли 20 мл этилового спирта 70 % и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут. Полученное извлечение охлаждали до комнатной температуры, фильтровали». Проводили следующие реакции:

- «в пробирку с 2 мл исследуемого извлечения вносили хлористоводородную кислоту конц. (5 капель), магний металлический (0,05 г). Пробирку с полученной смесью нагревали до появления характерного окрашивания»;

- «в пробирку с таким же объёмом извлечения вносили 2 мл 2% раствора алюминия хлорида в спирте этиловом».

2.3.2.2. Определение кумаринов

«К измельчённому сырью *Artemisiae scopariae herba* (5 г) добавляли спирт этиловый 95% (20 мл), нагревали до 100 °С и настаивали (2 часа). Полученное извлечение фильтровали и концентрировали до 1/3 первоначального объёма.

Полученный концентрат делили поровну и помещали в две пробирки. В одну из них вносили 5 мл 10% раствора натрия гидроксида и нагревали на водяной бане. После охлаждения в каждую пробирку прибавили по 4 мл воды очищенной».

2.3.2.3. Определение дубильных веществ

Наличие дубильных веществ определяли, используя раствор железоаммониевых квасцов. «К 2 мл водного извлечения добавляли несколько капель раствора железоаммониевых квасцов. При наличии гидролизуемых дубильных веществ наблюдается чёрно-синее окрашивание, а присутствие конденсированных дубильных веществ подтверждается чёрно-зелёным окрашиванием раствора» [35].

Возможное присутствие двух групп дубильных веществ исследовали с помощью реакции Стиасни. «Для этого водное извлечение после добавления 40%-ного раствора формальдегида и кислоты хлористоводородной конц. кипятили на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. В случае присутствия конденсированных дубильных веществ должен выпасть осадок. После его отделения с помощью фильтрации, к фильтрату прибавляют несколько капель железоаммониевых квасцов и несколько кристаллов натрия ацетата. Присутствие гидролизуемых дубильных веществ подтверждается окрашиванием жидкости вокруг кристаллов ацетата натрия в сине-фиолетовый цвет» [35].

2.3.2.4. Определение тритерпеновых соединений

Тритерпеноиды определяли в водном извлечении. «Для этого по 2-3 капли извлечения вносили в две пробирки. Одна содержала 5 мл раствора кислоты хлористоводородной (0,1 моль/л), другая – 5 мл раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л)». Обе пробирки встряхивали. По объему и интенсивности пены делали вывод о природе сапонинов [35].

2.3.2.5. Определение полисахаридов

«Для обнаружения полисахаридов готовили водное извлечение (1:10), нагревая измельченное сырье на водяной бане в течении 30 минут. После охлаждения извлечение фильтровали и проводили качественные реакции»:

- «к 2 мл водного извлечения прибавляли 3 мл 95% спирта этилового»;
- «к 2 мл водного извлечения прибавляли 2 мл реактива Фелинга, перемешивали и нагревали на водяной бане 3-5 минут».

2.3.2.6. Определение сесквитерпеновых лактонов

Идентификацию сесквитерпеновых лактонов проводили методом ИК-спектromетрии в соответствии с методикой К.С. Рыбалко [30]. «К 50 г измельчённой до размера частиц 2 мм надземной части полыни метельчатой прибавляли в соотношении 1:5 воду очищенную и нагревали с обратным холодильником на водяной бане при 70-80 °С в течение 60 минут. После охлаждения извлечение трижды последовательно экстрагировали небольшими порциями хлороформа (10:1, 10:1, 20:1). Полученные хлороформные фракции объединяли и при пониженном давлении удаляли экстрагент. Полученный смолообразный остаток высушивали в сушильном шкафу в течение 3 часов (35-40 °С), смешивали с хлороформом (0,2 мл). ИК спектры измеряли на спектрометре ИКС-40, в виде 20% суспензии в вазелиновом масле в области 1800-1600 см⁻¹. Наличие в этой области ИК спектра характерной полосы поглощения γ -лактонного карбонила указывает на возможное отсутствие сесквитерпеновых лактонов».

2.3.3. Дифференциальная спектрофотометрия

Определение суммы флавоноидов полыни метельчатой травы проводили на кафедре токсикологической и аналитической химии Пятигорского медико-

фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ под руководством к.ф.н., доцента Леоновой В.Н. Для количественного определения суммы флавоноидов полыни метельчатой травы за основу была взята методика количественного определения суммы флавоноидов полыни горькой травы методом дифференциальной спектрофотометрии [14]. В качестве стандартного образца использовали рутин (Sigma-Aldrich, $\geq 99,0\%$). Измерение оптических плотностей проводили на спектрофотометре СФ 2000. Использовали 6 испытуемых проб. Извлечение готовили из полыни метельчатой травы, собранной в фазу начала цветения в Никитском ботаническом саду в 2019 году, по следующей методике: аналитическую пробу надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» измельчают до величины частиц, проходящей через сито с отверстиями размером 1 мм. «1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл спирта 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. После охлаждения фильтр промывают 40 мл спирта 70%, объем извлечения доводят до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора). 2 мл раствора А испытуемого раствора, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30%, доводят объем раствора спиртом 95% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30% доведенной спиртом 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл». «Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО рутина в таких же условиях» [10].

Приготовление раствора СО рутина. «0,05 г (точная навеска) рутина,

предварительно высушенного при 130-135 °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют при нагревании на водяной бане в 85 мл спирта 95%, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутина)». «2,0 мл раствора А СО рутина, 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2% и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30% помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят спиртом 95% до метки (раствор Б СО рутина). В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2,0 мл раствора А СО рутина, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 95% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл» [10].

«Содержание суммы флавоноидов (в пересчёте на рутин и абсолютно сухое сырьё) в процентах вычисляют по формуле»:

$$X = \frac{A_x \times W_{x1} \times W_{ax2} \times a_{ст} \times V_{act} \times 100 \times 100}{A_{ст} \times a_x \times V_{ax} \times W_{ст1} \times W_{ст2} \times (100 - B)}, \text{ где}$$

A_x – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

$A_{ст}$ – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

$a_{ст}$, a_x – навеска стандартного вещества и растительного сырья, соответственно, г;

W_{x1} , W_{ax2} , $W_{ст1}$, $W_{ст2}$ – объемы мерных колб, использованных для получения анализируемого раствора и раствора СО рутина, мл;

V_{act} , V_{ax} – объемы аликвоты анализируемого вещества и раствора СО, мл;

B – потеря в массе при высушивании сырья, % [10].

2.3.4. Тонкослойная хроматография

Исследования проводили с использованием хроматографических пластин марки «Sorbfil» (ПТСХ-П-А-УФ размером 10×15 см).

Для качественного обнаружения компонентов эфирного масла: ацетиленов – капиллина, капиллена, капиллола использовали системы растворителей: гексан

– метилэтилкетон (7:3) и гексан – этилацетат (9:1), а для кумарина скопарона – петролейный эфир-этилацетат-этанол (4:1:1).

Для определения количественного содержания капиллина использовали систему растворителей гексан – этилацетат (9:1). «Точные объёмы (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мкл) раствора СО капиллина с концентрацией 11,3 мг/мл точно наносили на линию старта хроматографической пластинки. Кроме того, на этой же пластинке обозначали две линии контрольных треков с нанесёнными гексановыми растворами эфирного масла полыни метельчатой (1:2) объемом 1,0 мкл. Хроматографирование осуществляли в камере (объемом 2000 см³), предварительно насыщенной парами растворителей. После прохождения фронтом растворителя на хроматографической пластинке расстояния 8-9 см пластинку извлекали из камеры. В вытяжном шкафу пластинку высушивали до удаления паров растворителя при комнатной температуре. При дневном освещении на пластинке появляются пятна жёлтого, жёлто-оранжевого цвета. Окраска усиливается в УФ-свете» [29].

Приготовление раствора стандартного образца скопарона и его хроматографирование

«Навеску массой 0,025 г (точная навеска) СО скопарона помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл. Добавляли около 10 мл спирта этилового (95%). Колбу подогревали на водяной бане до растворения вещества, а затем охлаждали до комнатной температуры и доводили объём раствора спиртом этиловым до метки, раствор перемешивали [10]. Концентрация полученного раствора составила 1 мкг/мкл».

«На линию старта хроматографической пластинки длиной 15 см карандашом отмечали 8 треков и наносили на них СО скопарона объёмом 1, 2, 3, 4, 5 мкл с содержанием 1, 2, 3, 4, 5 мкг вещества в пятне и по 10 мкл спиртового извлечения. Раствор наносили с помощью микрошприца GC MLT-10. Пластинку помещали в камеру для хроматографирования, предварительно насыщенную парами растворителя в течение часа. Путь фронта растворителя около 9 см. После хроматографирования пластинку извлекали из камеры, высушивали в вытяжном

шкафу до исчезновения запаха растворителей. Детектирование пятен производили в ультрафиолетовом свете с помощью УФ-лампы (254 нм) в течение 5 минут».

2.3.5. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Изучение фенольных соединений осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием УФ-детектора и масс-спектрометра.

Для количественного определения фенольных соединений (скопарон, скополетин, умбеллиферон, хлорогеновая кислота) в траве полыни метельчатой использовали жидкостной хроматограф Стайер компании «Аквилон» (Россия) с УФ-детектором (UVV 104M) [7].

«Для анализа был применен режим ступенчатого градиента (Таблица 5) с использованием подвижной фазы следующего состава: ацетонитрил – муравьиной кислоты водный раствор 0,1%. В качестве аналитической использовали длину волны 280 нм, колонку Luna C18 (2) («Phenomenex», США) 250×4,6 мм. Скорость потока – 0,7 мл/мин. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Температура колонки 25 °С» [7].

Таблица 5 – Режим ступенчатого градиента

Время, мин	Количество ацетонитрила (%)	Количество кислоты муравьиной (%)
0-10	15	85
10,0-10,1	20	80
10,1-50	20	80

С использованием указанных условий проводили анализ изучаемых извлечений.

В качестве стандартных образцов использовали кислоту хлорогеновую, умбеллиферон и скополетин производства компании Sigma, с содержанием действующих веществ не менее 99,0%, а также скопарон производства компании

Sigma с содержанием действующего вещества не менее 95,0% [7].

Готовили серию растворов стандартных образцов (СО) скопарона, скополетина, умбеллиферона и кислоты хлорогеновой в спирте этиловом 70%.

Расчет содержания веществ в извлечениях полыни метельчатой проводили по формуле:

$$X = \frac{S_x \times C_{ст} \times P \times 100}{S_{ст} \times W_x \times A_x \times (100 - B)}, \text{ где}$$

S_x – площадь пика анализируемого вещества на хроматограмме испытуемого раствора, mV·сек;

$S_{ст}$ – площадь пика анализируемого вещества на хроматограмме стандартного раствора, mV·сек;

$C_{ст}$ – концентрация СО, г/мл;

A_x – навеска сырья, г;

P – содержание действующего вещества в стандартном образце, %;

W_x – объем мерной колбы при приготовлении испытуемого раствора, мл;

B – потеря в массе при высушивании, % [7].

Качественных анализ фенольных соединений осуществляли спектрофотометрически при 254 нм и с использованием масс-спектрометра Bruker Amazon SL (Bruker, США) (Таблица 6) [7].

Таблица 6 – Условия анализа с использованием масс-спектрометра [7]

Источник ионизации	Электроспрей (ESI)
Тип масс-анализатора	Ионная ловушка (Ion Trap)
Газ ионной ловушки	Гелий
Газ-распылитель	Азот
Газ-осушитель	Азот
Давление газа распылителя	30 psi
Поток газа-осушителя	10 л/мин
Температура интерфейса	250 °C
Ионизация	Отрицательная
Напряжение на капилляре	4500 В
Режим детектирования	SIM (-)
Диапазон сканирования	70 – 1000 m/z

В качестве стандартных образцов использовали скополетин, хлорогеновую кислоту, рутин, гиперозид, лютеолин производства компании Sigma-Aldrich с содержанием действующих веществ не менее 99,0% [7].

2.3.6. Изучение аминокислотного состава методом жидкостной хроматографии

«Идентификацию и количественное определение аминокислот в образцах сырья *Artemisiae scorariae herba* осуществляли с использованием анализатора аминокислот ААА 400, представляющего собой жидкостной хроматограф, включающий термостатируемую аналитическую колонку, спектрофотометрический двухканальный детектор, оснащённый компьютерной программой, обеспечивающей проведение исследований в автоматизированном режиме. Разделение свободных аминокислот, полученных в результате гидролиза исследуемых образцов, достигалось посредством жидкостной ионообменной хроматографии. Продукты разделения после взаимодействия с нингидрином идентифицировались спектрофотометрически».

Методика определения включала точное взвешивание анализируемого образца сырья, добавление раствора хлористоводородной кислоты, нагревание в сушильном шкафу в течение 23 часов при температуре 105-110 °С. Гидролизированный и очищенный образец смешивали с загрузочным буфером (рН - 2,2) и после фильтрации вводили в ионообменную колонку. Подробное описание методики анализа и приготовления раствора загрузочного буфера представлены в публикации [8].

2.3.7. Сверхкритическая флюидная экстракция

Получение и анализ CO₂-извлечений из надземной части полыни метельчатой проводили в Институте физики Дагестанского научного центра Российской академии наук под руководством старшего научного сотрудника А.М.

Алиева [4].

«Экстракцию проводили на лабораторной экспериментальной установке (Рисунок 3), которая позволяет осуществлять комплексные исследования процессов экстракции при давлениях до 40 МПа, в диапазоне температур 25-100 °С, с максимальным расходом сверхкритического флюида 1,7 ($\pm 0,05$) кг/ч. Измельченное сырьё загружали в цилиндрический (внутренним диаметром 70 мм) экстрактор 1 с внутренним объемом 0,993 литра, куда подается диоксид углерода в сверхкритическом состоянии из силового цилиндра 3, и настаивали в течение 10 мин. После этого CO_2 с растворенным извлечением выводили в сепаратор 2; одновременно в экстрактор из силового цилиндра подавали чистый CO_2 . В сепараторе поддерживали температуру -20 °С (отрицательная температура достигается за счет эффекта Джоуля-Томсона) и давление 1 МПа, при которых сверхкритический диоксид углерода переходит в газообразное состояние, а извлечение осаждается. Низкая температура в сепараторе способствует удерживанию легколетучих соединений содержащихся в извлечении. Давление в системе создается насосом 8, который подает дистиллированную воду из резервуара 7 в силовой цилиндр, в котором CO_2 сжимается и достигается необходимое давление. В силовом цилиндре вода отделена от CO_2 поршнем 4. Время экстракции (2 часа), скорость потока СК CO_2 ($1,5 \pm 0,05$ кг/ч), температура (50 °С) и давление (30 МПа) были постоянными» [4].

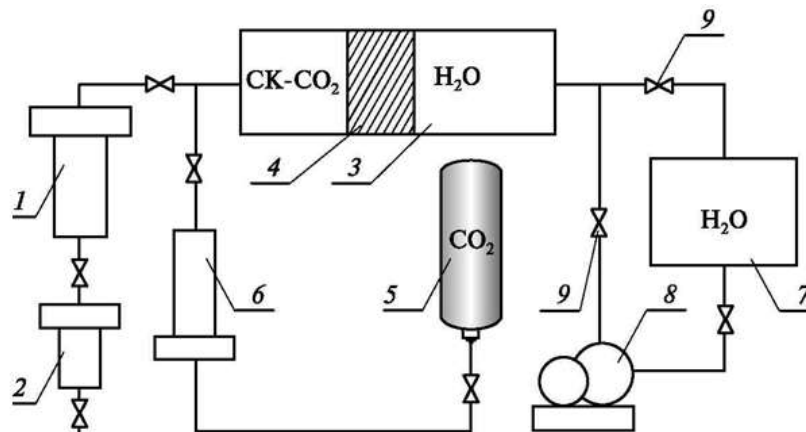


Рисунок 3 – Принципиальная схема экспериментальной установки для

экстракции сверхкритическим CO₂: 1 – экстрактор; 2 – сепаратор; 3 – силовой цилиндр; 4 – разделительный поршень; 5 – баллон с CO₂; 6 – фильтр очистки CO₂; 7 – ёмкость с дистиллированной водой; 8 – дозирующий насос высокого давления; 9 – вентили [4]

Компонентный состав полученных извлечений определяли методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Shimadzu GCMS-QP2010plus на колонке Supelco SLB TM-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 µм) в режиме «split». «В качестве газ-носителя использовался гелий чистотой 99,9999% со скоростью потока 1 мл/мин. Температуру колонки поднимали от 60 °С (выдержка 4 мин) до 150 °С со скоростью 10 °С/мин, далее до 270 °С со скоростью 5 °С/мин и выдерживали в течении 10 минут. Температура инжектора была 280 °С, а интерфейса и детектора 250 °С. Ионизация электронным ударом с энергией электронов 70 эВ. Ток эмиссии катода 60 мкА, диапазон регистрируемых ионов с m/z 45-500. Идентификация компонентов проводилась с использованием лицензионных библиотек масс-спектров NIST и FFNSC. Извлечение перед анализом растворялось в н-гексане в соотношении 1:500. 1 мкл разведенной пробы вводился в прибор с делением потока 1:40» [4].

2.4. Методы определения показателей качества сырья – Полыни метельчатой травы

2.4.1. Методы отбора проб для анализа

Отбор проб растительного сырья для проведения анализа Полыни метельчатой травы проводили согласно методике ГФ РФ XIV изд., ОФС. 1.1.0005.15 [14].

2.4.2. Испытания

Нормирование (установление норм) показателей качества сырья *Artemisiae*

scorariae herba проводили с использованием методик ГФ РФ XIV издания [14].

Содержание влаги, золы общей, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте и экстрактивных веществ в образцах сырья устанавливали в соответствии с требованиями ОФС. 1.5.3.0007.15, ОФС. 1.2.2.2.0013.15, ОФС. 1.5.3.0005.15, ОФС. 1.5.3.0006.15 соответственно [14].

2.4.3. Методы исследования макро- и микроэлементного состава

«Полуколичественный спектральный анализ золы надземной части полыни метельчатой был проведен с использованием спектрографа ДФС-8-1. Полное двухстадийное испарение точной навески образцов из кратера угольного электрода осуществлялось при воздействии плазмы электрической дуги переменного тока».

Навеску образца озолённого сырья *Artemisiae scorariae herba* измельчали и помещали в угольные электроды прибора. Уплотнение пробы проводили с помощью воды очищенной, с последующим просушиванием. Детектирование проб и стандартных образцов осуществлялось двухстадийным фотографированием (при силе тока 10 А и 15 А).

2.5. Валидация методик количественного определения

Валидационная оценка разработанных методик количественного определения проводилась в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» ГФ РФ XIV издания [14].

2.6. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований проводилась по методикам ГФ РФ XIV изд., ОФС.1.1.0013.15 [14]. Расчеты проводили с помощью программы Microsoft Office Excel.

ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ПОЛЫНИ МЕТЕЛЬЧАТОЙ

3.1. Предварительный качественный анализ

Идентификацию основных групп БАВ надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» проводили с использованием извлечений из нескольких образцов, заготовленных в фазу цветения в 2016-2019 гг. (глава 2). В результате наблюдали положительные аналитические эффекты на флавоноиды, кумарины, дубильные вещества (гидролизуемой группы), полисахариды, тритерпеновые сапонины. Не обнаружены сесквитерпеновые лактоны (ИК-спектроскопия).

3.2. Изучение фенольных соединений надземной части полыни метельчатой

По результатам качественных реакций можно сделать предположение о наличии фенольных соединений (флавоноидов, кумаринов, дубильных веществ) в исследуемом сырье. Согласно литературным данным эти группы фенольных соединений характерны и неоднократно обнаруживались различными исследователями в надземной части полыни метельчатой (см. Приложение А, Таблица А.1).

3.2.1. Идентификация фенольных соединений в надземной части полыни метельчатой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Исследование проводили на жидкостном хроматографе Стайер компании «Аквилон» (Россия) с УФ-детектором (UVV 104M) в режиме ступенчатого градиента с использованием подвижной фазы следующего состава: ацетонитрил – муравьиной кислоты водный раствор 0,1%. Детектирование осуществляли спектрофотометрически при 254 нм и с использованием масс-спектрометра Bruker

Amazon SL (Bruker, США) [7].

Качественный анализ фенольных соединений проводили с использованием стандартных образцов фенольных соединений (глава 2).

Идентификацию и количественное определение выполняли в водноспиртовом извлечении (70%), которое получали следующим образом. «Около 1 г (точная навеска) измельченного и просеянного сквозь сито с отверстиями 1 мм сырья помещали в коническую колбу вместимостью 200 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70%, закрывали пробкой, взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г и оставляли на 1 ч. Затем колбу соединяли с обратным холодильником, нагревали, поддерживая слабое кипение в течение 2 ч. После охлаждения потерю в массе восполняли тем же растворителем и фильтровали через сухой бумажный фильтр» [7].

Качественный анализ компонентов водноспиртового извлечения из полыни метельчатой травы проводили на жидкостном хроматографе «Dionex Ultimate 3000, снабженном УФ-детектором VWD-3100 (Thermo Scientific, США), используя хроматографическую колонку Luna C18(2) размером 250×4,6 мм (Phenomenex, США), заполненную октадецилсиликагелем с размером частиц 5 мкм. Разделение проводили с использованием 0,1% раствора кислоты муравьиной в воде и ацетонитрила квалификации «для ВЭЖХ/МС» в градиентном режиме с возрастанием концентрации ацетонитрила от 0 до 10 минуты с 5 до 15%, с 10 до 35 минуты – до 30%, с 35 до 65 минуты – до 95%. Объем вводимой пробы составлял 20 мкл, температуры образцов и колонки – 20 и 30 °С соответственно, скорость подвижной фазы – 0,2 мл/мин. Детекцию пиков осуществляли спектрофотометрически при 254 нм и с использованием масс-детектора Bruker Amazon SL (Bruker, США) в условиях ионизации электрораспылением (ESI). Параметры детектора включали: температура интерфейса – 250 °С, напряжение на капилляре 4500 В, скорость подачи газа-распылителя (азот) – 3 л/мин, скорость газа-осушителя – 10 л/мин, давление газа ионной ловушки (гелий) – 30 psi; диапазон сканирования масс (m/z) 100-1000; режим мониторинга выделенных ионов при отрицательной ионизации (SIM-)» [7].

«Идентификацию компонентов водноспиртового (70%) извлечения проводили с использованием стандартных образцов (глава 2) и данных библиотеки масс-спектров NIST, открытых интернет-ресурсов и данных литературы» [7].

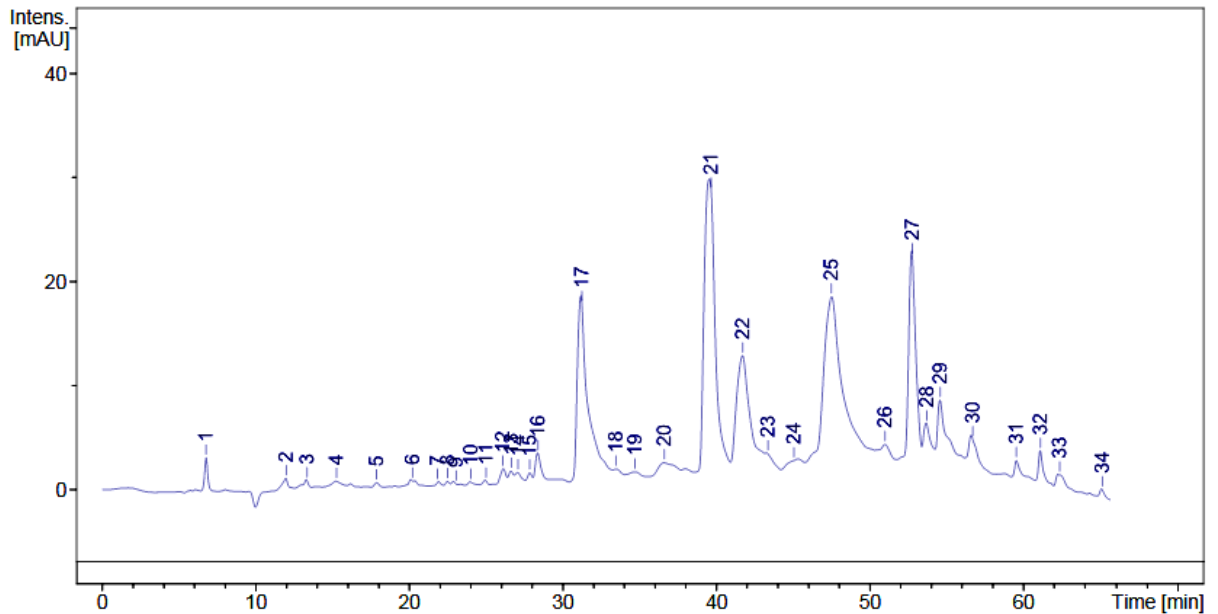


Рисунок 4 – Хроматографический профиль водноспиртового извлечения (70%) полыни метельчатой травы (УФ-детекция, 254 нм)

15 – лютеолин 6,8-ди-С-глюкозид; 16 – скополетин; 17 – хлорогеновая кислота; 21 – рутин; 22 – гиперозид; 23 – кемпферол-О-рутинозид; 24 – гесперидин; 25 – 3,5-дикофеилхинная кислота; 27 – 3,4-дикофеилхинная кислота; 29 – 4,5-дикофеилхинная кислота; 30 – лютеолин [7]

Таблица 7 – Компонентный состав водноспиртового извлечения полыни метельчатой травы [7]

№ пика	Соединение	Время удерживания	m/z прекурсор	MS2-фрагментация*
1	Не идентифицировано	6,75	-	-
2	Не идентифицировано	11,98		
3	Не идентифицировано	13,34		
4	Не идентифицировано	15,25		
5	Не идентифицировано	17,87		
6	Не идентифицировано	20,21		
7	Не идентифицировано	21,84		
8	Не идентифицировано	22,50		

Продолжение Таблицы 7

9	Не идентифицировано	23,04		
10	Не идентифицировано	24,02		
11	Не идентифицировано	25,00	447	401, 239, 311
12	Не идентифицировано	26,09		
13	Не идентифицировано	26,64		
14	Не идентифицировано	27,07		
15	Лютеолин 6,8-ди-С- глюкозид (луценин-2)	27,83	609	489, 369
16	Скополетин	28,38	399	353, 191, 176
17	Хлорогеновая кислота	31,24	353	191,179
18	Производное кофейной кислоты	33,44	339	395, 359, 269 395, 305, 359, 375, 397, 359
19	Не идентифицировано	34,70	431	-
20	Не идентифицировано	36,60	-	-
21	Рутин	39,66	609	301, 271, 255, 179, 343
22	Гиперозид	41,72	463	301, 179, 271, 151
23	Кемпферол-О-рутинозид	43,36	593	285
24	Гесперидин	45,05	609	301, 286, 242, 199, 325, 227, 283
25	3,5-Дикофеилхинная кислота	47,50	515	353, 191, 173
26	Не идентифицировано	50,98	287	259, 243, 269, 201, 215
27	3,4-Дикофеилхинная кислота	52,77	515	353, 203, 173, 299
28	Производное эллаговой кислоты	53,71	331	301, 257, 287, 187
29	4,5-Дикофеилхинная кислота	54,58	515	353, 255, 173, 203
30	Лютеолин	56,70	285	241, 257, 199
31	Производное лютеолина	59,54	315	241, 271, 253, 285
32	Производное лютеолина	61,12	315	241, 271, 253, 285
33	Не идентифицировано	62,37	500	277, 315, 185
34	Не идентифицировано	65,15	323	305, 169

Примечание: MS2-спектры соединений 16, 21, 22, 25, 27, 29 30 представлены на Рисунке 5 [7]

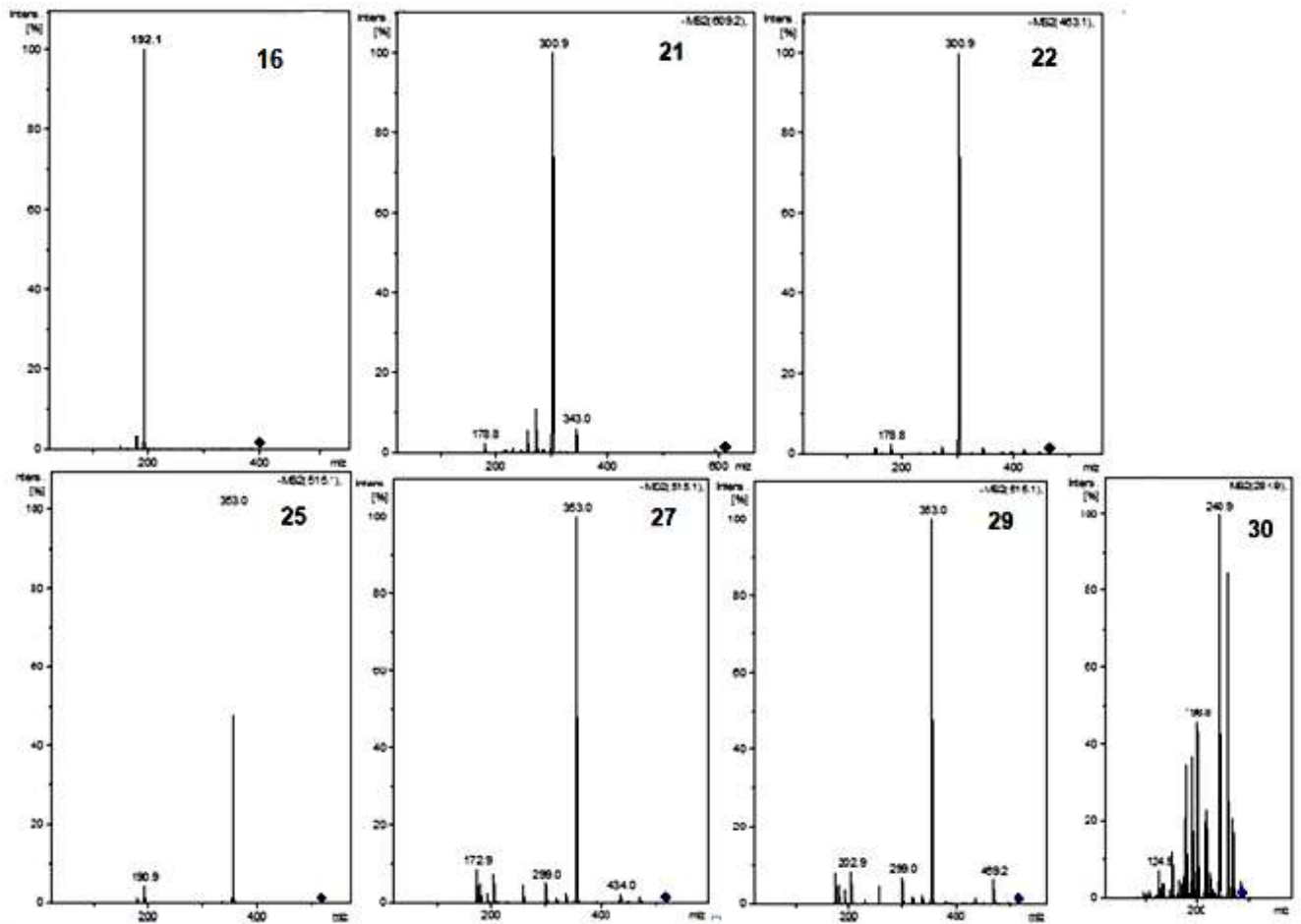


Рисунок 5 – MS2-спектры основных соединений водноспиртового извлечения полыни метельчатой травы

Соединение 16 характеризуется родительским ионом с m/z 192 [M⁺]. Соединения 17, 21, 22 и 30 могут быть идентифицированы по соответствию временам удерживания пиков на хроматограммах стандартных образцов, а также совпадению масс-спектрометрических характеристик с данными литературы и библиотеки масс-спектров как хлорогеновая кислота, рутин, гиперозид и лютеолин, соответственно. Пики соединений 25, 27, 29 имеют одинаковые m/z , равные 515, что соответствует дикофеилхинной кислоте. Известно, что дикофеилхинная кислота имеет 6 изомеров, поэтому для их дифференциации использовали алгоритм, приведенный в работе [66]. Пик соединения 25 характеризовался основным пиком MS2-спектра с m/z 191, что характерно для кофеилхинных кислот, не имеющих заместителя в 4-м положении. Поскольку масс-спектр данного вещества имел слабый пик с m/z 353 и содержал слабую

полосу с m/z 173 на MS2-спектре, это позволило идентифицировать его как 3,5-дикофеилхинную кислоту. Базовым пиком в MS2-спектрах соединений 27 и 29 являлся пик с m/z 173, что характерно для 4-замещенных дикофеилхинных кислот. Однако сильные сигналы фрагментов с m/z 255 и 203, отмечаемые в масс-спектре соединения 29 дают основание идентифицировать его как 4,5-дикофеилхинную кислоту и дифференцировать от 3,4-дикофеилхинной кислоты (соединение 27) [7].

Таким образом, в результате проведенного исследования были обнаружены следующие соединения: флавоноиды – лютеолин 6,8-ди-С-глюкозид; рутин; гиперозид; кемпферол-О-рутинозид и лютеолин; фенольные кислоты – хлорогеновая, 3,5-, 3,4- и 4,5-дикофеилхинные кислоты; кумарин – скополетин [5, 7].

3.2.2. Количественное определение скопарона в траве полыни метельчатой методом тонкослойной хроматографии

Для количественного определения скопарона в извлечении полыни метельчатой использовали наиболее доступный метод тонкослойной хроматографии. Современные компьютерные технологии дают возможность проводить количественное определение веществ методом ТСХ с большой чувствительностью, эффективностью и с погрешностью, вполне допустимой для анализа растительных извлечений. Объектом исследования явилась полыни метельчатой трава сорта «Таврида», собранная в фазу начала цветения (образцы № 19, 22) на территории коллекционного питомника Никитского ботанического сада в 2019-2022 гг. Извлечение из травы полыни метельчатой получали двухкратным настаиванием, при соотношении сырья и экстрагента 1:5 и 1:3. В качестве последнего использовали спирт этиловый 70%. На поверхности пластинки на треках СО скопарона (Sigma) и на треках с извлечением появлялись пятна ярко-синего свечения с R_f $0,57 \pm 0,02$ (Рисунок 6).

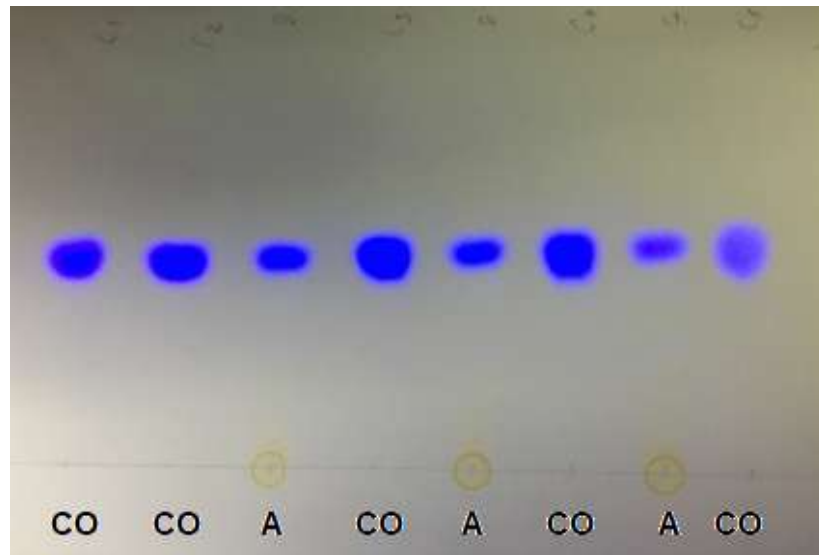


Рисунок 6 – Хроматографическая пластинка со стандартным образцом (СО) скопарона и водноспиртовым (70%) извлечением (А) полыни метельчатой (проявление в УФ свете, 254 нм) в различной концентрации

Пластинку фотографировали в УФ свете, фото обрабатывали с помощью компьютерной программы Денситометр Сорбфил и получали оцифрованную хроматограмму (Рисунок 7). На оцифрованной хроматограмме пик СО скопарона совпадал с пиком на треках извлечения.

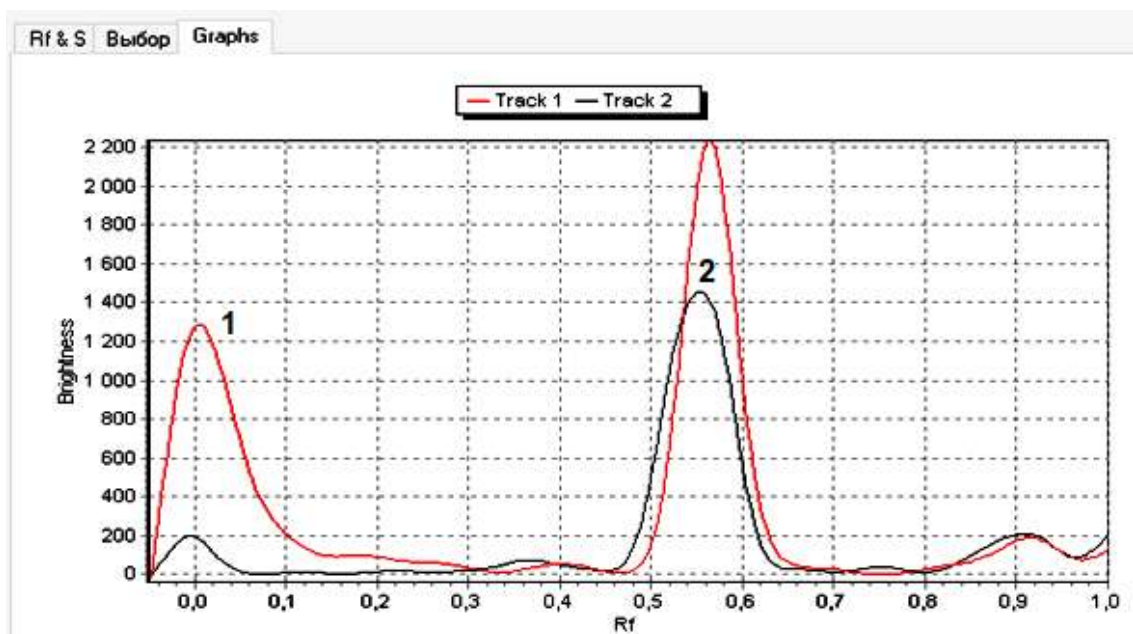


Рисунок 7 – Хроматограмма извлечения из полыни метельчатой (1) и СО скопарона (2)

Линейность. Для подтверждения линейности градуировочного графика результаты определения площадей пиков СО скопарона обрабатывали методом наименьших квадратов, определяли значимость свободного члена, уравнение регрессии, коэффициент корреляции.

Результаты статистической обработки данных эксперимента подтверждают, что методика количественного определения скопарона в интервале массы от 1 до 5 мкг линейна. Свободный член не значим. Уравнение регрессии имеет вид: $S = 5.9 \times 10^4 m$ (Рисунок 8). Коэффициент корреляции $r = 0,995$.

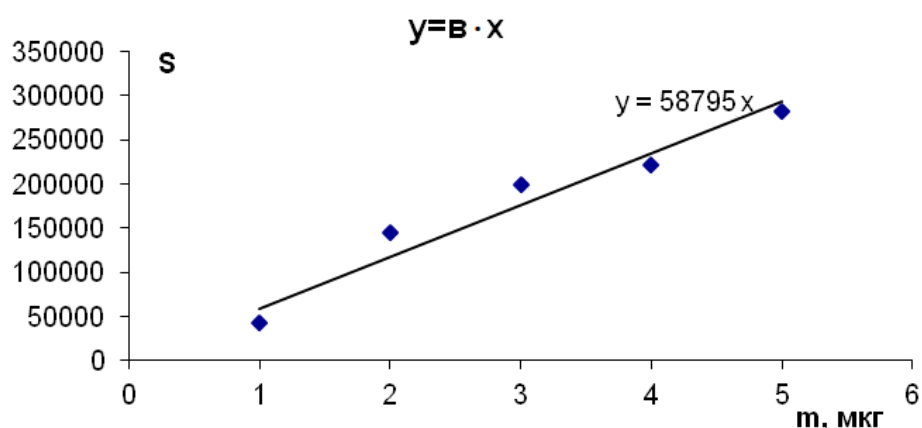


Рисунок 8 – Градуировочный график СО скопарона

Чувствительность. По данным градуировочного графика (Рисунок 8) определяли чувствительность метода: рассчитывали предел обнаружения (ПО) и предел количественного обнаружения (ПКО). Предел обнаружения рассчитывали по формуле: $ПО = 3,3 \times S/b$, где: S – стандартное отклонение сигнала; b – угловой коэффициент градуировочного графика. $ПО = 1,47$ мкг. Предел количественного определения (ПКО) рассчитывали по формуле: $ПКО = 10 \times S/b$, $ПКО = 4,46$ мкг [29].

Правильность методики определяли методом «введено-найдено» на пяти уровнях концентраций СО скопарона с двумя результатами на каждом уровне [29]. Результаты следующие: $x_{ср.} = 97,3 \%$; $\Delta x = 7,9 \%$; $RSD\% = 11\%$; $E = 8,2\%$.

Внутрилабораторная прецизионность. Для получения статистически

корректных данных количественного определения опыт проводили на нескольких пластинках с использованием не менее двух треков контрольного образца. Результаты обрабатывали методом математической статистики по Стьюденту. Результаты представлены в пересчете на воздушно-сухое сырьё (Таблица 8).

Таблица 8 – Содержание скопарона в надземной части полыни метельчатой

Содержание скопарона, г/100 г сырья	Метрологические характеристики
0,31; 0,31; 0,33; 0,33; 0,35; 0,35; 0,37; 0,38; 0,40; 0,41.	$x_{cp.} = 0,35\%$ $\Delta x = 0,03\%$ $E = 7,14\%$

Таким образом, показана возможность количественного определения кумарина скопарона в водноспиртовом (70%) извлечении и надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» методом тонкослойной хроматографии. Разработанная методика валидирована, чувствительная, высокоэффективна и не требует дорогостоящего оборудования. В условиях эксперимента определено, что среднее содержание скопарона в исследованных образцах травы полыни метельчатой сорта «Таврида», культивируемого на Южном берегу Крыма, составляет $0,35 \pm 0,03\%$ [29, 115].

3.2.3. Количественное определение кислоты хлорогеновой, скопарона, скополетина и умбеллиферона в извлечениях из надземной части полыни метельчатой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Согласно монографиям на сырьё *Artemisiae scopariae herba* в Китайской фармакопее (2010 г.), Немецкой фармакопее и Фармакопее Тайваня (2016), при стандартизации этого вида растительного сырья в качестве маркерных веществ используются СО кислоты хлорогеновой, скопарона, скополетина и умбеллиферона. При этом количественно определяется содержание кислоты хлорогеновой. Для качественной идентификации и количественного определения

указанных кумаринов и кислоты хлорогеновой в образцах извлечений из надземной части полыни метельчатой, полученных с помощью спирта этилового 70%, был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Исследование проводили на жидкостном хроматографе Стайер компании «Аквилон» (Россия) с УФ-детектором (UVV 104M) в режиме ступенчатого градиента с использованием подвижной фазы следующего состава: ацетонитрил – муравьиной кислоты водный раствор 0,1% [7]. Детектирование осуществляли при длине волны 280 нм (глава 2). В качестве стандартных образцов использовали кислоту хлорогеновую, умбеллиферон и скополетин производства компании Sigma, с чистотой не менее 99,0%, а также скопарон компании Sigma с содержанием действующего вещества не менее 95,0%. Исследуемыми объектами являлись образцы водноспиртовых извлечений (70%) полыни метельчатой, полученные из надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида», собранной в фазу начала цветения в Никитском ботаническом саду в 2017-2019 гг. Результаты определения фенольных соединений в образцах извлечения полыни метельчатой методом ВЭЖХ представлены на Рисунке 9 и в Таблице 9.

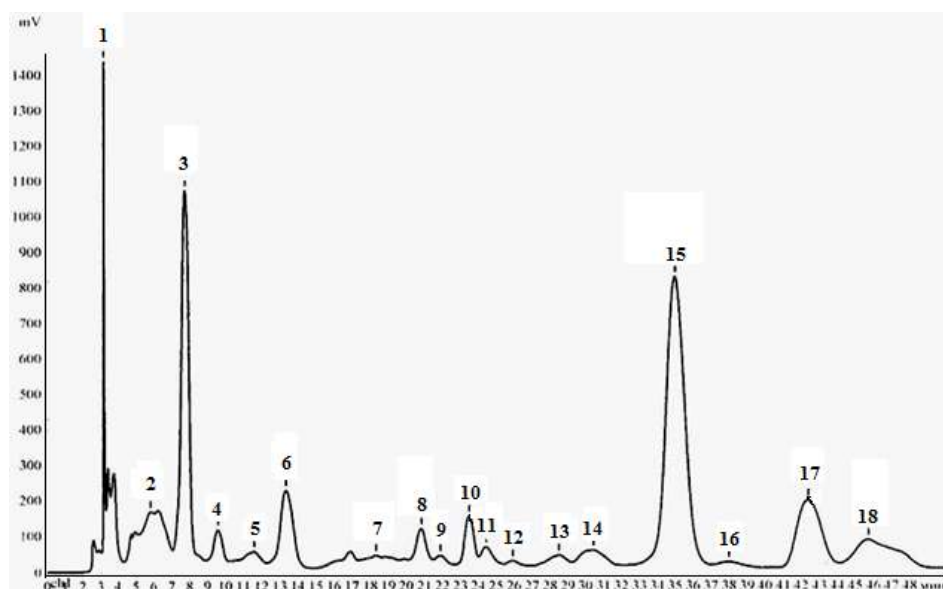


Рисунок 9 – Стандартная ВЭЖХ-хроматограмма водноспиртового извлечения из полыни метельчатой

3 – хлорогеновая кислота, 10 – скополетин, 11 – умбеллиферон, 17 – скопарон

Таблица 9 – Результаты количественного определения кислоты хлорогеновой, скополетина, умбеллиферона и скопарона в образцах водноспиртового извлечения (70%) полыни метельчатой

Год сбора надземной части	Определяемые вещества, % ($\bar{x} \pm \Delta x$)			
	Кислота хлорогеновая	Скополетин	Умбеллиферон	Скопарон
2017	0,1999±0,0064	0,0634±0,0034	0,0117±0,0009	0,1654±0,0048
2018	0,2161±0,066	0,0741±0,0035	0,0117±0,0007	0,1823±0,0053
2019	0,1884±0,0056	0,0715±0,0038	0,0126±0,0010	0,1605±0,0050

Таким образом, методом ВЭЖХ с использованием стандартных образцов исследуемых веществ в образцах извлечений из надземной части полыни метельчатой, полученных из сырья 2017-2019 гг. сбора, были количественно определены 4 соединения фенольной природы: скопарон, скополетин, умбеллиферон и хлорогеновая кислота [12].

3.2.4. Количественное определение суммы флавоноидов в надземной части полыни метельчатой

Предварительное исследование УФ-спектров спиртовых извлечений (40%, 70% и 95%), полученных из надземной части показало, что все они имеют сходный характер, наиболее выраженный максимум поглощения в области 330 ± 2 нм [10].

При одной и той же концентрации, более интенсивное поглощение в области 330 нм наблюдалось у извлечения из надземной части полыни, полученного с помощью спирта этилового 70% (Рисунок 10) [10].

Для количественного определения суммы флавоноидов в надземной части полыни метельчатой использовали методику, описанную ранее (глава 2). Предварительное изучение спектральных характеристик водноспиртового (70%) извлечения из надземной части полыни метельчатой после добавления к нему раствора алюминия хлорида (III) показало, что наблюдается батохромный сдвиг максимума поглощения от 330 к 410 нм (Рисунок 11) [10].

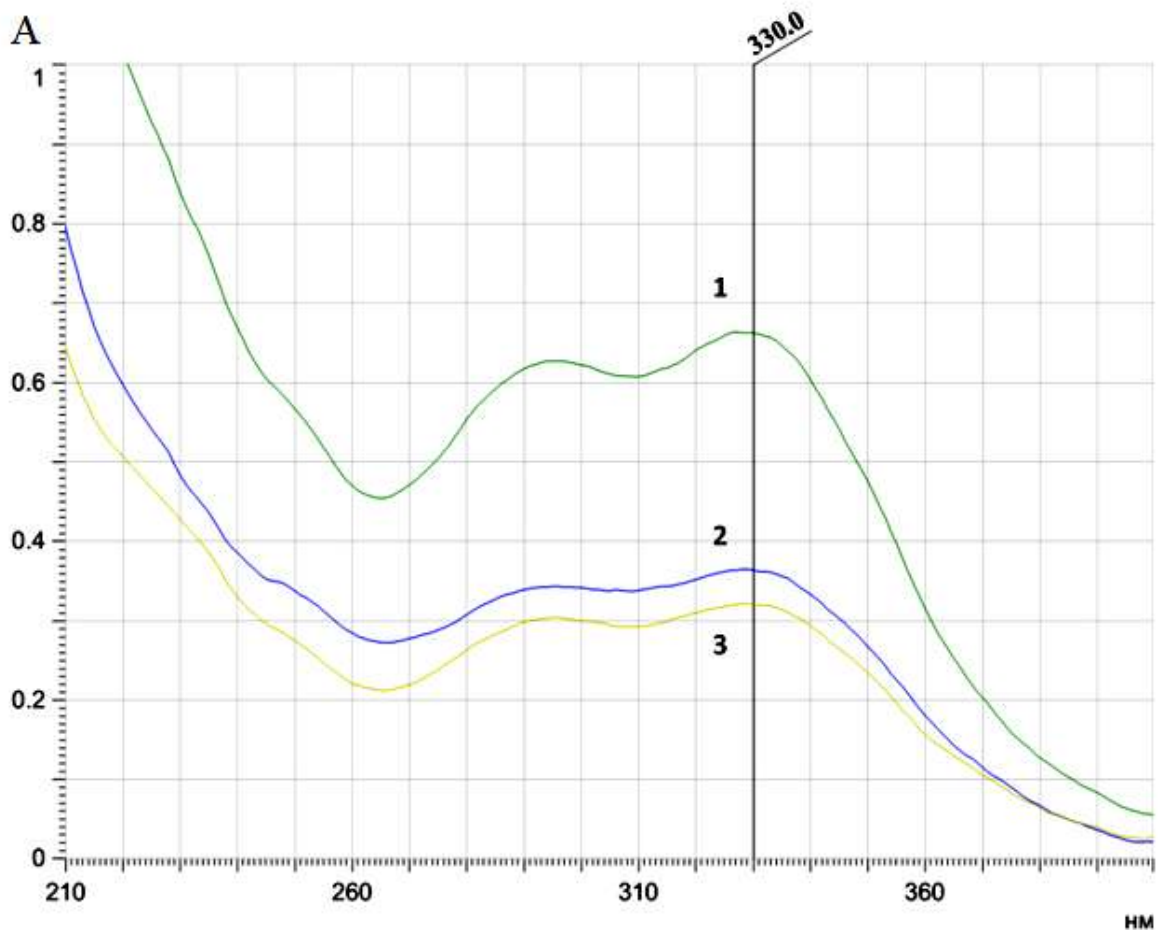


Рисунок 10 – УФ спектры извлечений из надземной части полыни метельчатой [10]

1 – спирт этиловый 70%; 2 – спирт этиловый 40%; 3 – спирт этиловый 95%

Подобный максимум светопоглощения (410 нм) характерен для спектра поглощения комплекса рутин с ионами алюминия. Кроме того, как следует из обзора литературы, рутин по данным многих исследователей является одним из основных флавоноидов надземной части полыни метельчатой. Наши исследования также показали его присутствие в извлечениях из надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида». На этом основании в качестве раствора стандартного образца был использован рутин [10].

Устойчивость комплекса определяли через 15 мин, 30 мин и 45 мин. Оптимальным временем для достижения устойчивого комплекса оказался интервал в 30 мин [10].

«Аналитическую пробу сырья измельчали до величины частиц, проходящих

через сито с отверстиями размером 1 мм. 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 60 мл спирта 70%. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтровали через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. После охлаждения фильтр промывали 40 мл спирта 70%, объем извлечения в колбе доводили до метки и перемешивали (раствор А испытуемого раствора)» [10].

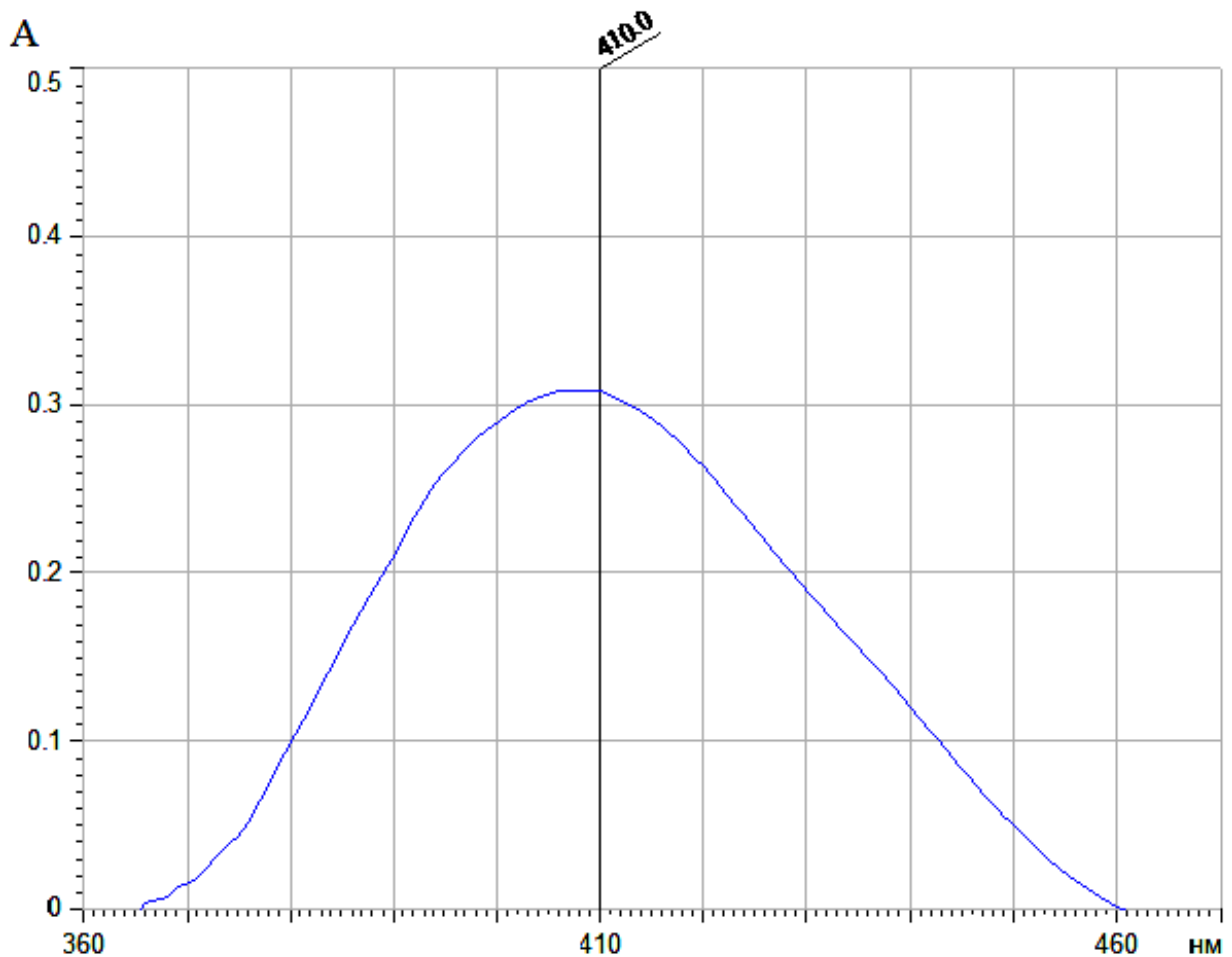


Рисунок 11 – Фрагмент спектра поглощения комплекса спиртового (70%) извлечения полыни метельчатой травы с алюминия хлоридом [10]

«2 мл раствора А испытуемого раствора, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора

2%, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30%, доводили объем раствора в колбе спиртом 96% до метки и перемешивали (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряли через 30 минут на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора и 1 капли уксусной кислоты разведенной 30% доведенной спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл [10].

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А СО рутина, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл» [10].

Приготовление раствора СО рутина

«0,05 г (точная навеска) рутина, предварительно высушенного при 130-135 °С в течение 3 ч, помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяли при нагревании на водяной бане в 85 мл спирта 96%, охлаждали, доводили объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивали (раствор А СО рутина)» [10].

«1,0 мл раствора А СО рутина, 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2% и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30% помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили спиртом 96% до метки (раствор Б СО рутина)» [10].

Содержание суммы флавоноидов (X %) в пересчете на рутин с учетом влажности сырья вычисляли по формуле [10]:

$$X = \frac{A_x \times a_0 \times V_{a_0} \times W_{1_x} \times W_{2_x} \times 100 \times 100}{A_0 \times W_{1_0} \times W_{2_0} \times a_x \times V_{a_x} \times (100 - w)}$$

где

A_x – значение оптической плотности в испытуемом растворе;

A_0 – значение оптической плотности раствора СО рутина;

W_{1_x}, W_{2_x} – мерные колбы, использованные для получения испытуемого раствора, мл;

W_{10}, W_{20} – мерные колбы, использованные для получения раствора СО рутин, мл;

a_x и a_0 – навески сырья и СО рутин соответственно, г;

V_{a_x} и V_{a_0} – аликвоты полученного извлечения из сырья и раствора СО рутин соответственно, мл;

w – влажность сырья, % [10].

Результаты показывают, что максимальное содержание флавоноидов обнаруживается в извлечении, полученном с помощью спирта этилового 70% ($1,95 \pm 0,05\%$ в пересчёте на рутин и абсолютно сухое сырьё). Содержание суммы флавоноидов в извлечениях, полученных с помощью спирта этилового 40% и 95% составило соответственно $1,15 \pm 0,11\%$ и $0,85 \pm 0,11\%$ в пересчёте на рутин и абсолютно сухое сырьё [10].

3.3. Изучение эфирного масла в надземной части полыни метельчатой

3.3.1. Количественное определение эфирного масла в надземной части полыни метельчатой

Эфирное масло из надземной части (травы) полыни метельчатой получали методом перегонки с водяным паром из сырья при использовании прибора Клевенджера в модификации Лошкарёва (метод 2, ГФ РФ XIV) [14].

Предварительное изучение и подбор оптимальных условий перегонки показал, что при измельчённости сырья 5-7 мм наибольший выход эфирного масла наблюдается через 5 часов. Более высокая степень измельчения, как и более длительный процесс отгонки не оказывали существенного влияния на увеличение объёма, выделяемого эфирного масла. Свежеполученное эфирное масло представляло собой легкоподвижную жидкость светло-жёлтого цвета с характерным запахом. Через несколько часов окраска масла становилась более интенсивной.

3.3.2. Изучение компонентного состава эфирного масла из надземной части полыни метельчатой

Согласно данным литературы (глава 1), максимальная урожайность (до 121,4 ц/га) и сбор эфирного масла (до 82,5 кг/га) из надземной массы полыни метельчатой сорта «Таврида» приходится на фазу массового цветения. В период конца цветения эти показатели существенно снижаются, составляя 90,7 ц/га и 77,1 кг/га, соответственно [23]. С точки зрения фармакологической активности, прежде всего, антибактериальных свойств, важным является содержание полиацетиленовых соединений (капиллена, капиллина и др.), с которыми эти свойства эфирного масла связывают. Поэтому нами были проведены исследования по идентификации и определению количественного содержания основных соединений в образцах эфирного масла из надземной части полыни метельчатой, собранной в период цветения (начало цветения, массовое цветение, конец цветения) на территории коллекционного питомника Никитского ботанического сада в 2018-2019 годах.

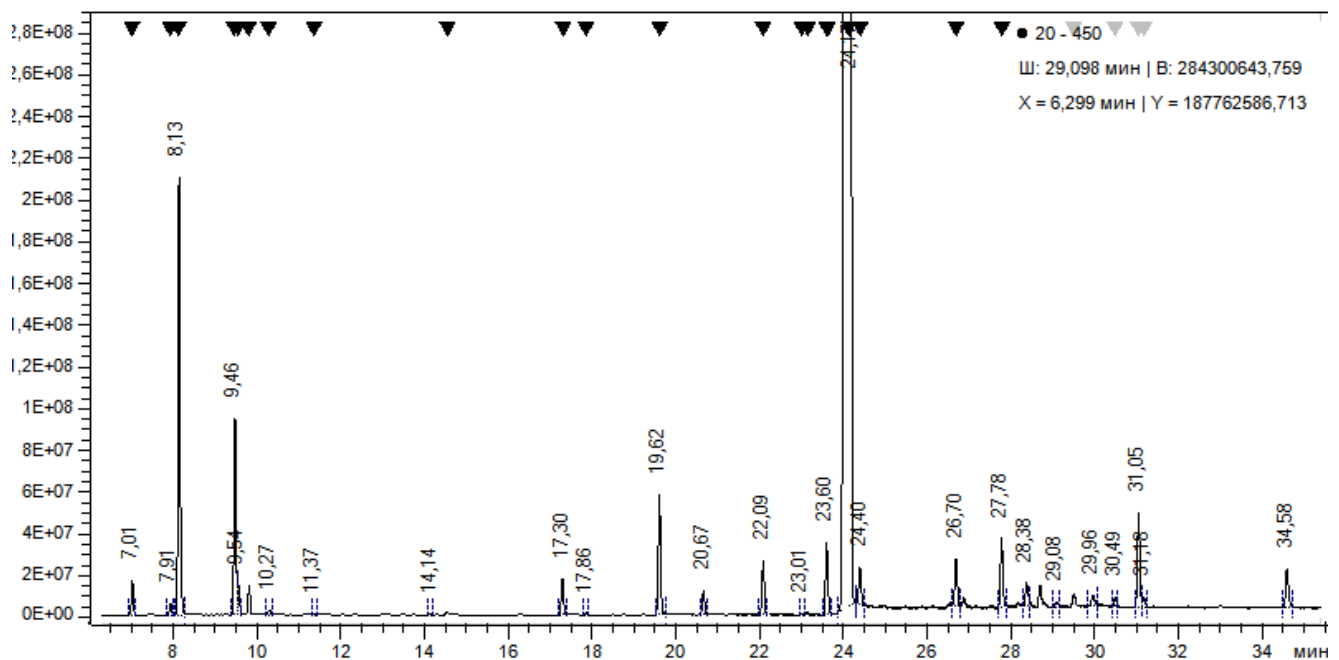


Рисунок 12 – Хроматограмма эфирного масла в период начала цветения полыни метельчатой

Компонентный состав полученных образцов эфирных масел исследовали на хроматографе Хроматэк-Кристалл 5000.2 с масс-спектрометрическим детектором и идентифицировали по результатам сравнения с данными библиотеки масс-спектров NIST14 MS Search [7, 34].

Таблица 10 – Компонентный состав эфирного масла в период начала цветения полыни метельчатой [7]

№	Название компонента	Время	Площадь, %	RI
1	α -Пинен	7,01	0,43	942
2	Сабинен	7,91	0,15	978
3	β-Пинен	8,13	5,80	985
4	D-Лимонен	9,46	2,65	1034
5	Эвкалиптол	9,54	0,33	1037
6	(Z)-Оцимен	9,79	0,40	1047
7	γ -Терпинен	10,27	0,08	1066
8	Линалоол	11,37	0,02	1093
9	Неидентифицированное соединение	14,14	0,02	
10	α -Терпинеол	14,54	0,05	1193
11	Бензилдиацетилен	17,30	0,55	1278
12	Карвакрол	17,86	0,03	1281
13	Эвгенол	19,62	1,84	1352
14	Неидентифицированное соединение	20,67	0,36	
15	β -Кариофиллен	22,09	0,82	1425
16	Неидентифицированное соединение	23,01	0,02	
17	Гумулен	23,15	0,03	1439
18	γ -Куркумен + α -куркумен	23,60	1,15	1485
19	Капиллен	24,17	79,01	1497
20	Бициклогермакрен	24,40	0,60	1501
21	(+)-Спатуленол	26,70	0,77	1579
22	Неидентифицированное соединение	26,88	0,12	
23	(E,E)-Фарнезол	27,78	1,04	1625
24	Неидентифицированное соединение	28,38	0,39	
25	Неидентифицированное соединение	28,69	0,33	
26	Неидентифицированное соединение	29,08	0,10	
27	α -Бисаболол	29,50	0,25	1628
28	Неидентифицированное соединение	29,96	0,20	
29	(E,E)-Фарнезил ацетат	30,49	0,14	1633
30	Бутановой кислоты, 2-метил-, 2-метокси-4-(2-пропенил)фениловый эфир	31,05	1,48	1746
31	Неидентифицированное соединение	34,58	0,70	

Как следует из данных Таблицы 10, преобладающими компонентами эфирного масла в надземной части полыни метельчатой в период начала цветения являются полиацетилен капиллен и монотерпеноиды β -пинен и d-лимонен [7].

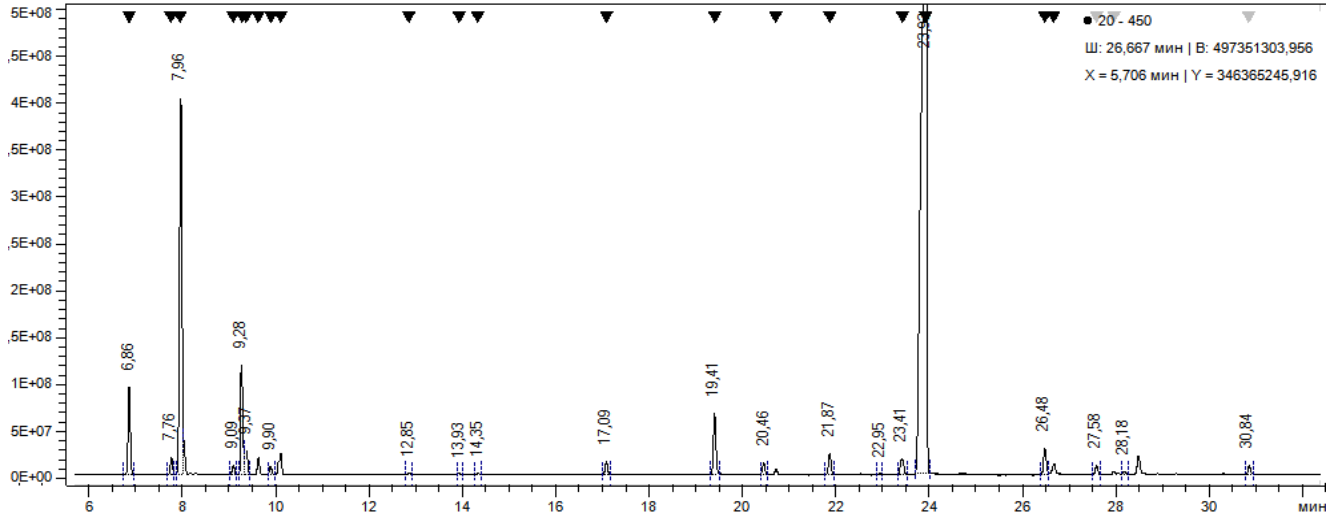


Рисунок 13 – Хроматограмма эфирного масла полыни метельчатой в период массового цветения

Таблица 11 – Компонентный состав эфирного масла полыни метельчатой в период массового цветения [7]

№	Название компонента	Время	Площадь, %	RI
1	α -Пинен	6,86	3,48	945
2	Сабинен	7,76	0,66	981
3	β-Пинен	7,96	16,96	988
4	<i>n</i> -Цимен	9,09	0,38	1030
5	D-Лимонен	9,28	4,91	1036
6	Эвкалиптол	9,37	0,88	1039
7	<i>cis</i> - β -Оцимен	9,62	0,67	1048
8	Артемизия кетон	9,90	0,34	1057
9	γ -Терпинен	10,09	0,93	1063
10	Камфора	12,85	0,13	1151
11	Терпинен-4-ол	13,93	0,07	1185
12	α -Терпинеол	14,35	0,08	1197
13	Неидентифицированное соединение	17,09	0,58	1283
14	Эвгенол	19,41	2,72	1356
15	Неидентифицированное соединение	20,46	0,51	1388
16	Метилэвгенол	20,72	0,25	1395
17	Кариофиллен	21,87	1,01	1435

Продолжение Таблицы 11

18	Неидентифицированное соединение	22,95	0,06	1471
19	α -Куркумен	23,41	0,99	1486
20	Капиллен	23,93	60,49	1503
21	(+)-Спатуленол	26,48	1,30	1589
22	Кариофиллен оксид	26,67	0,61	1595
23	trans-Фарнезол	27,58	0,40	1630
24	Капиллин	27,95	0,15	1644
25	Неидентифицированное соединение	28,18	0,14	1652
26	Неидентифицированное соединение	28,48	0,93	1663
27	Бутановой кислоты, 2-метил-, 2-метокси-4-(2-пропенил) фениловый эфир	30,84	0,39	1751

Согласно данным Таблицы 11, в период массового цветения преобладающими компонентами эфирного масла в надземной части полыни метельчатой являются полиацетилен капиллен и монотерпеноиды β -пинен, d-лимонен и эвгенол [7].

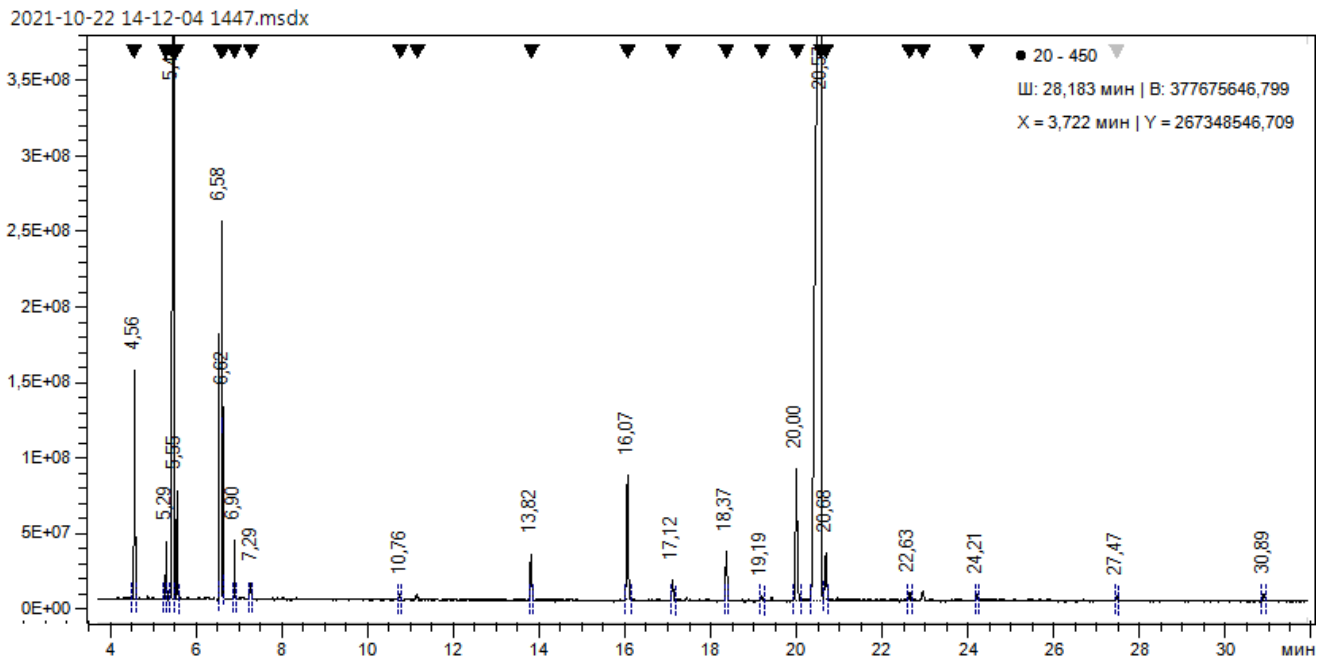


Рисунок 14 – Хроматограмма эфирного масла полыни метельчатой в период конца цветения

Таблица 12 – Компонентный состав эфирного масла полыни метельчатой в период конца цветения [7]

№	Название	Время	Площадь, %	RI
1	α -Пинен	4,56	3,40	943
2	Сабинен	5,29	0,92	979
3	β-Пинен	5,46	17,06	987
4	β -Мирцен	5,55	1,65	990
5	D-Лимонен	6,58	7,31	1036
6	(E)-Оцимен	6,62	2,97	1037
7	(Z)-Оцимен	6,90	0,95	1049
8	γ -Терпинен	7,29	0,28	1063
9	Терпинен-4-ол	10,76	0,13	1183
10	α -Терпинеол	11,16	0,17	1195
11	Бензилдиацетилен	13,82	0,96	1281
12	Эвгенол	16,07	2,87	1353
13	Неидентифицированное соединение	17,12	0,43	
14	β -Кариофиллен	18,37	1,06	1427
15	(E)- β -Фарнезен	19,19	0,10	1454
16	γ -Куркумен	20,00	3,23	1481
17	Капиллен	20,57	54,42	1498
18	Бициклогермакрен	20,68	1,27	1502
19	Неидентифицированное соединение	22,63	0,18	
20	(+)-Спатуленол	22,95	0,28	1581
21	Фарнезол	24,21	0,12	1626
22	Бутановой кислоты, 2-метил-, 2-метокси-4-(2-пропенил)фениловый эфир	27,47	0,11	1747
23	Неидентифицированное соединение	30,89	0,14	

В период конца цветения (Таблица 12) преобладающими компонентами эфирного масла в надземной части полыни метельчатой являются полиацетилен капиллен и монотерпеноиды β -пинен, d-лимонен, (E)-оцимен и эвгенол [7].

Таким образом, исследование образцов эфирных масел полыни метельчатой, заготовленных в разные периоды фазы цветения показывает, что

содержание основного полиацетиленового соединения – капиллена от начала до конца данной фазы существенно снижается. Содержание других идентифицированных данным методом полиацетиленов: 2,4-пентадиинилбензена (бензилдиацетилена), капиллина – незначительно [7].

«Качественную идентификацию некоторых компонентов эфирного масла проводили с использованием хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ). Для этого были опробованы различные хроматографические системы элюентов: хлороформ – бензол, гексан – метилэтилкетон, гексан – этилацетат, гексан – диэтиловый эфир, бензол – ацетон, петролейный эфир – этилацетат – этанол, петролейный эфир – диэтиловый эфир, петролейный эфир – этилацетат в различных соотношениях. В качестве оптимальных для разделения и идентификации полиацетиленовых компонентов эфирного масла полыни метельчатой были выбраны системы растворителей гексан – метилэтилкетон (7:3) и гексан – этилацетат (9:1), для идентификации кумарина скопарона – петролейный эфир-этилацетат-этанол (4:1:1). Для визуализации результатов хроматографирования использовали реактивы: ванилин в кислоте серной разведённой и 1% раствор калия перманганата в 1% растворе кислоты хлористоводородной. Кроме того, имея ввиду фоточувствительность полиацетиленовых соединений [99], нами были проведены эксперименты по облучению разделённых на пластинках для ТСХ соединений с помощью УФ-облучателя (254 нм)».

С целью идентификации нами были использованы препаративно выделенные по известной методике [22] скопарон, капиллен, капиллин и капиллол.

Идентификация скопарона. Светло-жёлтые кристаллы, с т. пл. 144,5-146 °С. УФ спектр (λ , нм): 230, 296, 344. Вещество имело ярко-синюю флюоресценцию в УФ свете, окрашивалось парами щелочи в лимонно-жёлтый цвет, а при воздействии диазореактива приобретало сине-зелёную окраску. ВЭЖХ и ТСХ со стандартным образцом.

Идентификация капиллена. В ЯМР спектре (δ м.д.): синглет 1,9 (метил при

тройной связи), синглет при 3,65 (метилен), синглет 7,40 (протоны бензольного кольца). Полученные данные соответствовали структуре капиллена [22].

Идентификация капиллина. После перекристаллизации из спирта кристаллическое вещество имело т. пл. 81-82 °С. В ЯМР спектре (δ м.д.): синглет при 2,1 (метил при двойной связи); мультиплеты 7,5 и 8,2 (пять протонов бензольного кольца). В УФ спектре наблюдались максимумы поглощения при λ_{max} . 271, 280 и 295 нм (этанол). Спектральные данные показали идентичность этого вещества капиллину (1-фенил-1-оксо-гексадин-2,4) [22].

Идентификация капиллола. Кристаллическое вещество т.пл. 85-86,5 °С (этанол). В УФ спектре (λ_{max}) 267, 280, 293 нм. В ИК спектре (λ_{max}) 3300 cm^{-1} (ОН-группа). В ЯМР спектре (δ м.д.): синглет при 2,0 ($\text{CH}_3\text{-C}\equiv$); синглет при 5,5 ($\text{C}=\text{C-CH(O)-C}\equiv$); 7,25-7,6 (пять протонов бензольного кольца). Полученные спектральные характеристики были идентичны полиацетиленовому соединению – капиллолу [22].

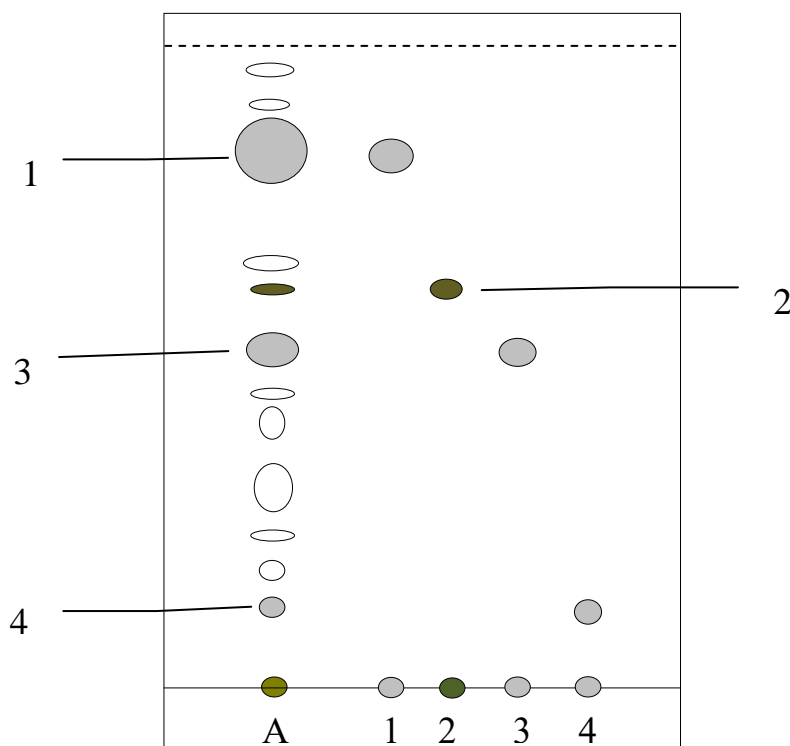


Рисунок 15 – Схема разделения (элюент: гексан – метилэтилкетон, 7:3) компонентов эфирного масла (А) надземной части полыни метельчатой: капиллена (1), скопарона (2), капиллина (3) и капиллола (4)

Как следует из представленных на Рисунке 15 данных, ацетиленовые соединения (капиллин, капиллен, капиллол) и кумарин скопарон можно качественно идентифицировать методом ТСХ.

Также установлено, что проявление зон адсорбции на хроматографической пластинке с помощью УФ света позволяет качественно обнаружить ацетиленовые компоненты эфирного масла полыни метельчатой без использования агрессивных реагентов (проявителей) (Рисунок 16).

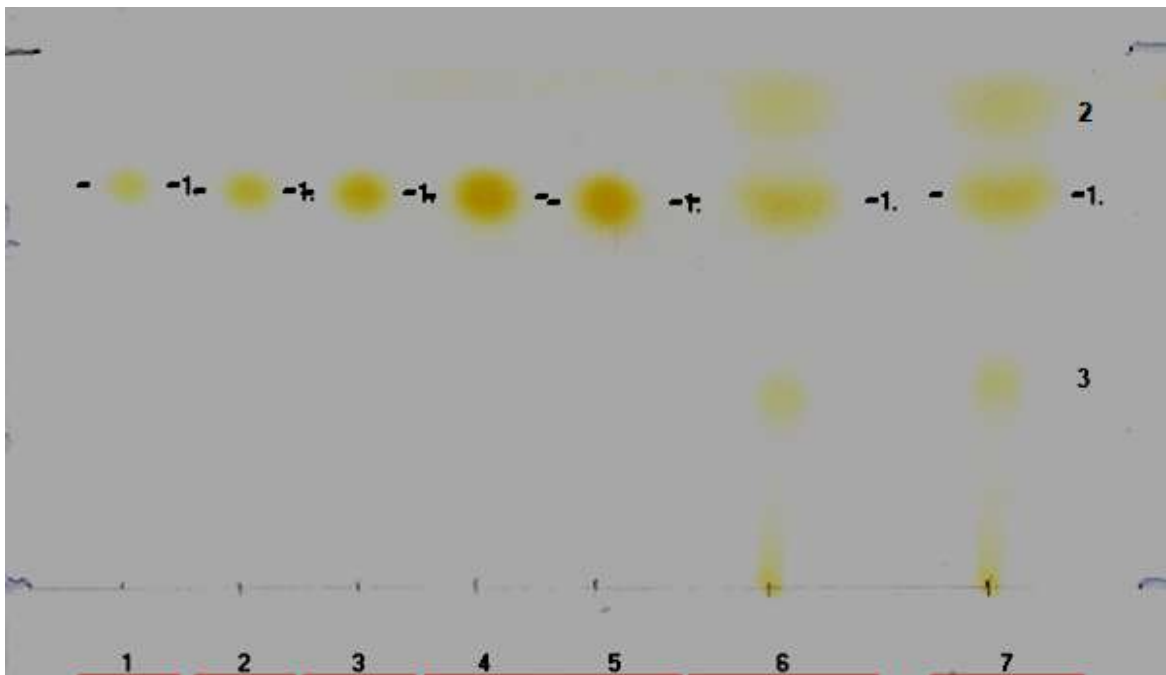


Рисунок 16 – Стандартная хроматограмма разделения полиацетиленовых компонентов эфирного масла (треки 6, 7) надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» в системе гексан – этилацетат 9:1 (после 5 минут облучения УФ светом); 1 – капиллин; 2 – капиллен; 3 – капиллол

3.3.3. Количественное определение капиллина в эфирном масле полыни метельчатой

Согласно данным литературы (раздел 1.4.3) ацетиленовые соединения капиллен и капиллин входят в состав действующих веществ, с которыми связывают антимикробные и противовоспалительные свойства надземной части

полыни метельчатой. Согласно данным, полученным Д.А. Коноваловым (раздел 1.4.1) и нами (раздел 3.2), суммарное содержание этих компонентов в эфирном масле составляет более 80% от суммы всех компонентов. Однако по агрегатному состоянию эти соединения различаются: капиллен при обычных условиях является жидкостью, а капиллин – кристаллическим соединением. Поэтому в качестве стандартного образца для установления подлинности сырья полыни метельчатой использовали образец ранее выделенного капиллина. Идентификацию (Рисунок 16) и количественное определение капиллина в эфирном масле (Рисунок 17) из надземной части полыни метельчатой в фазу ветвления побегов (образцы №1, 7, 13) проводили методом планарной хроматографии [8, 29].

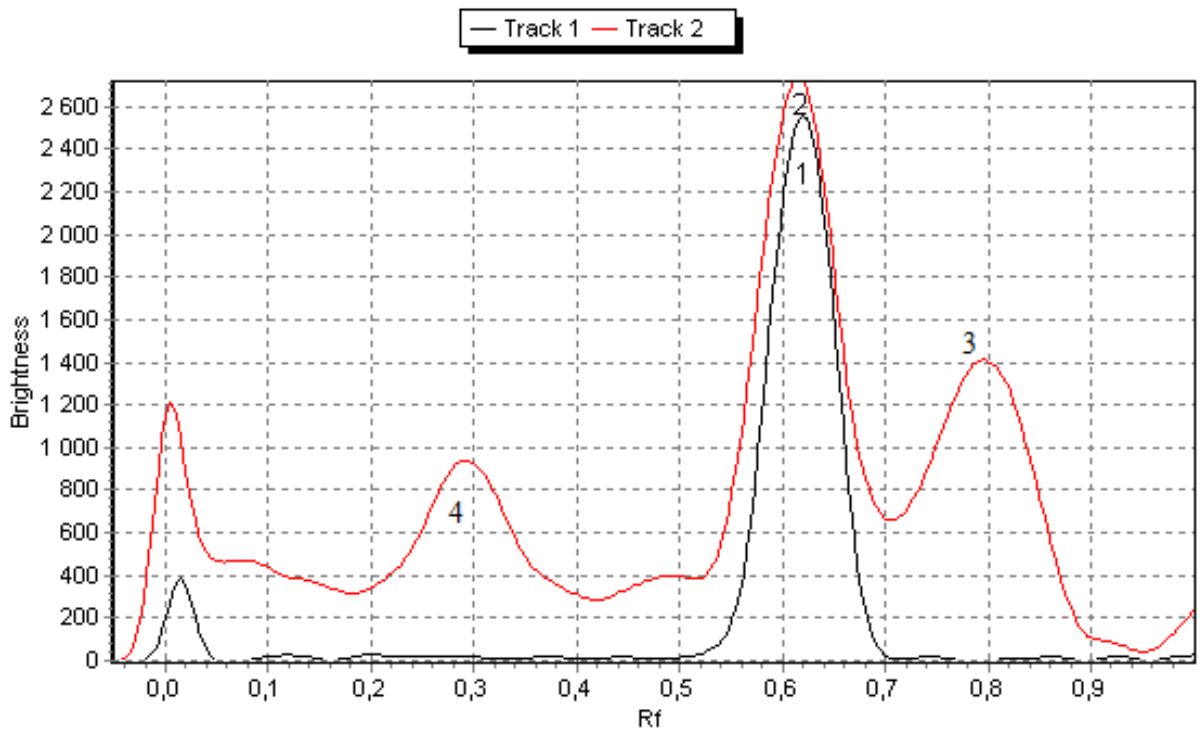


Рисунок 17 – Оцифрованная хроматограмма полиацетиленов эфирного масла полыни метельчатой (фаза ветвления побегов): капиллин (2), капиллен (3), капиллол (4) и РСО капиллина (1) [8, 29]

На треках контрольного образца (Рисунок 17) в условиях эксперимента обнаруживали четыре зоны сканирования жёлтого цвета, а на оцифрованной

хроматограмме – четыре пика: с R_f 0,06 (не идентифицирован); R_f 0,29 (капиллол); R_f 0,62 (капиллин); R_f 0,79 (капиллен) [8, 29].

В соответствии с требованиями действующей Государственной фармакопеи и международных стандартов для любой разрабатываемой аналитической методики должна экспериментально подтверждаться её пригодность к практическому использованию и получению достоверной информации об объекте анализа. В качестве основных характеристик, оценивающих валидность методики, определяли предел обнаружения, специфичность, линейность, предел количественного определения, правильность и прецизионность [8, 29].

Предел обнаружения (ПО), рассчитывали по формуле:

$$\text{ПО} = 3,3 \times S/b, \text{ где}$$

S – стандартное отклонение сигнала;

b – угловой коэффициент градуировочного графика.

$$\text{ПО} = 13,7 \text{ мкг [8, 29].}$$

Специфичность характеризовали значением R_f пятен зоны сканирования контрольного трека и его соответствием R_f зон сканирования стандартного образца ($0,62 \pm 0,02$) [8, 29].

Эффективность пластинки (N) составила около 600 теоретических тарелок.

Предел количественного определения (ПКО) рассчитывали по формуле:

$$\text{ПКО} = 10 \times S/b,$$

$$\text{ПКО} = 41,6 \text{ мкг}$$

Измерение аналитических сигналов для 5-и проб с разными концентрациями СО капиллина позволили установить *линейность* методики. Уравнение регрессии и коэффициент корреляции рассчитывали с использованием электронных таблиц Microsoft Excel. Значимость свободного члена линейной зависимости (а) и углового коэффициента (b) определяли методом наименьших квадратов. Зависимость площадей пиков от содержания капиллина в аналитической области методики (от 10 до 60 мкг в пробе) оказалась линейной. Уравнение регрессии имеет вид: $S = 1,21 \times 10^3 m$ (Рисунок 18) [8, 29].

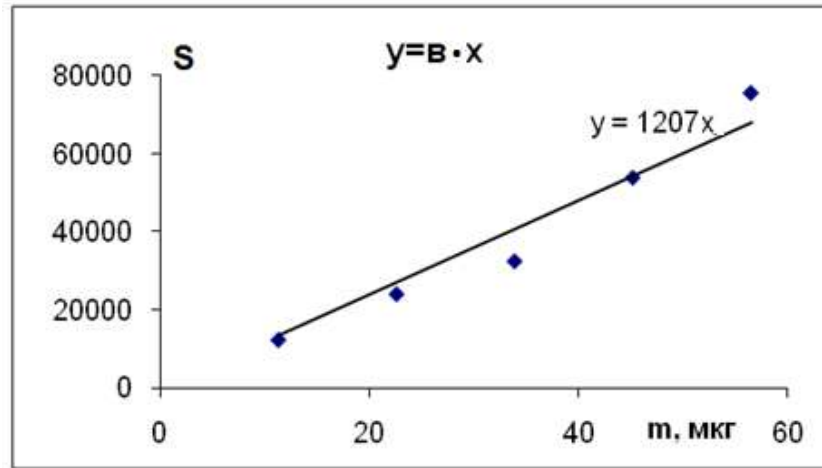


Рисунок 18 – Градуировочный график СО капиллина

Свободный член «а» значимо не отличается от нуля. Коэффициент корреляции $r = 0,993$.

Линейная зависимость также установлена между различными объемами эфирного масла (0,5-2,0 мкл), наносимого на пластинку (аналита), и величиной аналитического сигнала (Рисунок 19) [8, 29].

Уравнение регрессии имеет вид: $S = 1,03 \times 10^4 V$.

Коэффициент корреляции $r = 0,997$.

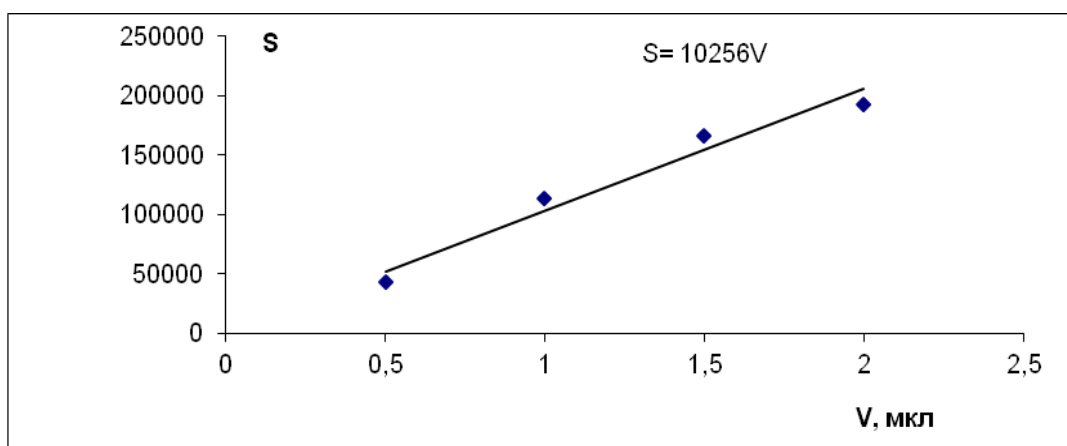


Рисунок 19 – Зависимость аналитического сигнала от количества аналита

Правильность методики определяли методом «введено-найдено».

Содержание капиллина на 5-и уровнях концентраций СО рассчитывали по уравнению градуировочного графика и определяли метрологические характеристики ($x_{\text{ср.}} = 103,7\%$; $\Delta x = 9,1\%$; $\text{RSD}\% = 9,9\%$; $E = 8,8\%$) [8, 29].

С использованием данной методики определили количественное содержание капиллина в эфирном масле из надземной части полыни метельчатой. Результаты представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Результаты количественного определения капиллина в эфирном масле из травы полыни метельчатой [8, 29]

Содержание, г/100 г эфирного масла	Метрологические характеристики
9,5	$x_{\text{ср.}} = 9,65$ $\text{RSD}\% = 9,93\%$ $\Delta x = 1,00$ $E = 10,43\%$
9,5	
9,3	
10,1	
8,3	
11,2	

Разработка данной методики важна с точки зрения определения качества эфирного масла полыни метельчатой [8, 29].

Определение содержания компонентов эфирного масла

Методом внутренней нормализации определена массовая доля основных компонентов эфирного масла полыни метельчатой, выявленных в условиях эксперимента. В фазу ветвления побегов наибольшую долю составляет капиллин (Таблица14) [8, 29].

Таблица 14 – Соотношение полиацетиленовых компонентов эфирного масла полыни метельчатой сорта «Таврида» [8, 29]

Пик	R_f	Вещество	S	%S
1	0,06	Не идентиф.	10637	5,5
2	0,29	Капиллол	39424	20,6
3	0,61	Капиллин	91644	47,8
4	0,80	Капиллен	50058	26,1
Сумма			191763	

Таким образом, разработана и валидирована методика количественного определения содержания капиллина в эфирном масле из надземной части полыни метельчатой. Содержание капиллина в эфирном масле составило $9,65 \pm 1,00\%$ [8, 29]. Результаты определения количественного содержания полиацетиленовых компонентов в эфирном масле (метод внутренней нормализации) в процессе роста и развития полыни метельчатой сорта «Таврида» представлены в Таблице 15.

Таблица 15 – Динамика накопления полиацетиленов в надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» в зависимости от фазы развития (n = 3)

Фаза	Содержание в эфирном масле, %		
	капиллин	капиллен	капиллол
Ветвление	46,1-48,5	25,4-26,8	19,8-21,2
Бутонизация	8,7-10,4	60,2-62,5	14,7-15,8
Цветение	6,4-7,9	63,1-66,7	2,1-2,9
Плодоношение	1,2-1,8	11,3-13,1	< 0,1

Примечание: в изучении были использованы образцы эфирного масла (№№7-18), полученные в НБС-ННЦ РАН и ПМФИ из надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» 2017-2018 гг. сбора

Как следует из данных, представленных в Таблице 15, содержание капиллина достигает максимума в фазу ветвления, а по мере развития растения снижается. Содержание капиллена, наоборот, постепенно увеличивается с 25,4-26,8 об.% (в фазу ветвления) до 63,1-66,7 об.% (в фазу массового цветения). Затем (в фазу плодоношения) его количество в эфирном масле существенно снижается (до 11,3 об.%). Содержание капиллола в надземной части данного объекта не превышает 21,2 об.% в фазу ветвления и с развитием растений постепенно снижается, достигая минимума в период плодоношения.

3.3.4. Исследование CO₂-извлечения из надземной части полыни метельчатой, полученного с помощью сверхкритической флюидной экстракции

Сверхкритическая экстракция получила большую популярность в области

зеленой химии из-за ряда достоинств: исключается проблема остаточного растворителя в получаемом целевом продукте; обеспечиваются быстрота процесса, экологичность, низкая температура экстракции; процесс экстракции протекает без контакта с кислородом воздуха, что позволяет экстрагировать оксилабильные соединения [4].

Исследование образцов полыни метельчатой сорта «Таврида» с использованием сверхкритической флюидной экстракции проводили в Институте физики Дагестанского научного центра Российской академии наук под руководством старшего научного сотрудника Алиева А.М. по методике, описанной во второй главе и в публикации [4]. В качестве материала для исследования использовали надземную часть полыни метельчатой сорта «Таврида», собранную в фазу начала цветения на территории коллекционного питомника Никитского ботанического сада в 2019-2020 гг.

Таблица 16 – Компонентный состав CO_2 – извлечения (метод хромато-масс-спектрометрии) [4]

№ п/п	Название соединения	Время удержания	Площадь пика, %
1.	α -пинен	8,435	0,14
2.	Бензойный альдегид	9,225	0,32
3.	β -пинен	9,652	1,01
4.	<i>n</i> -Цимен	10,774	0,17
5.	Лимонен	10,890	0,27
6.	Цинеол	10,980	0,20
7.	Нопинон	13,210	0,37
8.	Транс-пинокарвеол	13,257	0,25
9.	Камфора	13,365	0,09
10.	Пинокарвон	13,633	0,13
11.	α -терпинеол	14,184	0,09
12.	Миртенол	14,223	0,36
13.	Транс-карвеол	14,574	0,08
14.	Хавикол	15,078	0,07
15.	Бензол	15,588	0,09
16.	Перилловый спирт	15,880	0,09
17.	4-Винил гваякол	16,042	0,14
18.	1,2-циклогександиол	16,618	0,14
19.	Эвгенол	16,708	2,60

Продолжение Таблицы 16

20.	Геранилацетат	16,981	0,05
21.	Ванилин	17,473	0,13
22.	Е-кариофиллен	17,982	0,25
23.	α -куркумен	18,882	1,79
24.	1-пентадецен	18,951	0,20
25.	Капиллен	19,261	11,24
26.	Цитронеллил валерат	20,411	0,28
27.	Тумерол	20,642	0,14
28.	Спатуленол	20,829	2,62
29.	Кариофиллен оксид	20,961	1,62
30.	Капиллин	21,975	5,47
31.	Фитон	25,513	0,48
32.	n-Гексадекановая кислота	27,801	2,44
33.	Скопарон	28,170	9,01
34.	Стеариловый альдегид	28,894	0,42
35.	9,12-Октадекадиеновая кислота	30,911	2,04
36.	Пентакозан	33,727	0,69
37.	4,8,12,16-Тетраметилгептадекан-4-олид	34,580	0,43
38.	Трикозан	36,924	0,57
39.	Триаконтан	37,413	10,03
40.	Стигмастерол	43,393	5,41
41.	Триаконтан	43,802	14,43

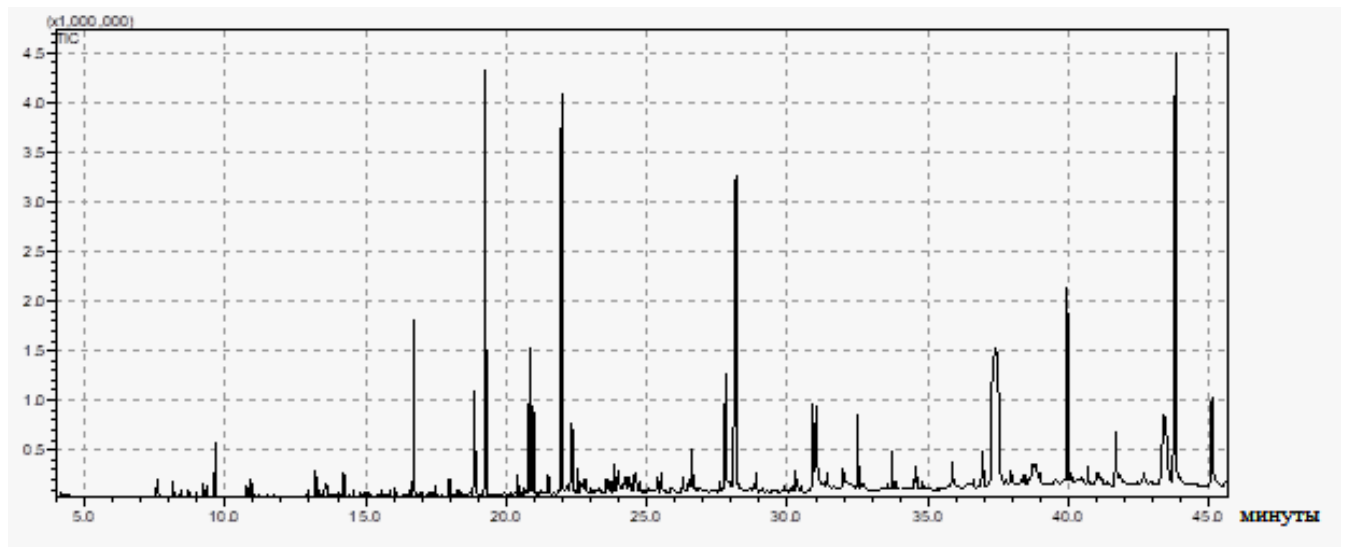


Рисунок 20 – ГЖХ-хроматограмма CO_2 -извлечения из надземной части полыни метельчатой

Исходя из экспериментальных данных, можно сделать вывод о том, что CO_2 -извлечение содержит богатый компонентный состав, в котором преобладают следующие соединения: капиллен, капиллин, скопарон, триаконтан, спатуленол и эвгенол. Однако суммарное содержание полиацетиленов, выделяемых данным методом, ниже в сравнении с их содержанием в эфирном масле [4].

3.4. Исследование аминокислотного состава полыни метельчатой травы

Анализ аминокислотного состава надземной части полыни метельчатой проводили методом жидкостной хроматографии. В качестве материала для исследования использовали надземную часть полыни метельчатой, собранную в фазу начала цветения на территории коллекционного питомника Никитского ботанического сада в 2016 году. Анализ проводили по методике указанной в разделе 2.3.6. Результаты количественного определения аминокислот в надземной части полыни метельчатой представлены на Рисунке 21 и в Таблице 17.

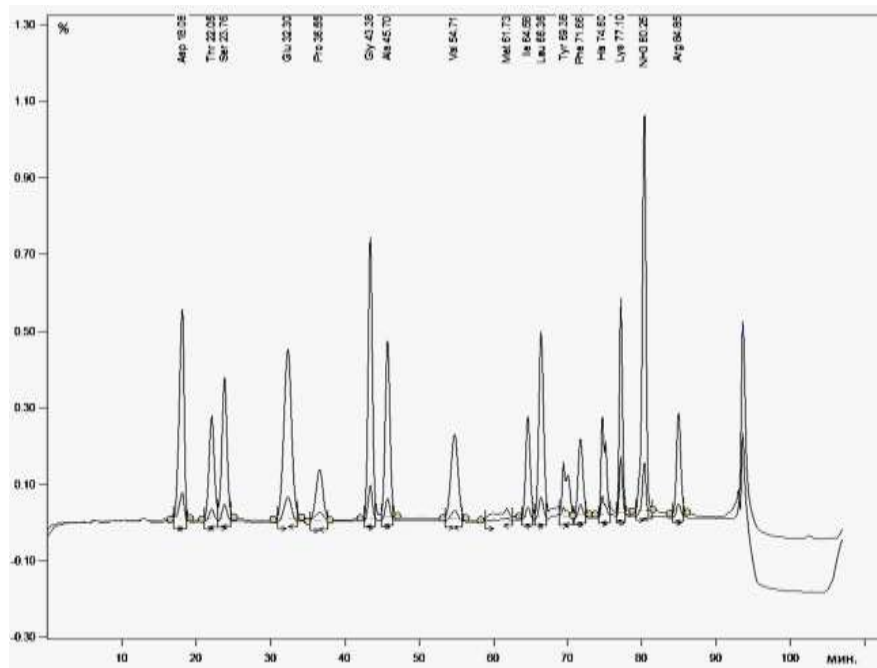


Рисунок 21 – Аминограмма надземной части полыни метельчатой

Таблица 17 – Аминокислотный состав надземной части полыни метельчатой

№	Аминокислота	Содержание, %
1	Аспарагиновая кислота	0,72
2	Треонин	0,32
3	Серин	0,36
4	Глутаминовая кислота	1,01
5	Пролин	1,03
6	Глицин	0,38
7	Аланин	0,37
8	Валин	0,37
9	Метионин	0,07
10	Изолейцин	0,30
11	Лейцин	0,53
12	Тирозин	0,31
13	Фенилаланин	0,33
14	Гистидин	0,31
15	Лизин	0,44
16	Аргинин	0,42

Согласно данным, представленным в Таблице 17, пролин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты и лейцин преобладают в составе аминокислот надземной части полыни метельчатой [3].

3.5. Исследование элементного состава надземной части полыни метельчатой

«Полуколичественный спектральный анализ золы, полученной из надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» заготовленной в фазу начала цветения в 2016 г., был проведен в Центральной испытательной лаборатории при ФГУП «Кавказгеосъемка».

Таблице 18 демонстрирует результаты анализа элементного состава исследуемого сырья.

Таблица 18 – Элементы, содержащиеся в надземной части полыни метельчатой (фаза цветения)

Элемент	Содержание в золе, %
Алюминий (Al)	0,2

Продолжение Таблицы 18

Барий (Ba)	0,02
Бериллий (Be)	0,00005
Бор (B)	0,06
Ванадий (V)	0,001
Галлий (Ga)	0,0002
Железо (Fe)	0,5
Калий (K)	≈ 30
Кальций (Ca)	≈ 20
Кобальт (Co)	0,0001
Кремний (Si)	0,5
Литий (Li)	0,002
Магний (Mg)	≈ 6
Марганец (Mn)	0,06
Медь (Cu)	0,01
Молибден (Mo)	0,0001
Натрий (Na)	≈ 1
Никель (Ni)	0,001
Олово (Sn)	0,0003
Свинец (Pb)	0,0006
Серебро (Ag)	0,00001
Стронций (Sr)	0,06
Титан (Ti)	0,06
Фосфор (P)	≈ 5
Хром (Cr)	0,0005
Цинк (Zn)	0,015
Цирконий (Zr)	0,001

Исследование А.В.Молчановой с сотрудниками показало, что по содержанию макро- и микроэлементов, тяжелых металлов в надземной части полыни метельчатой можно расположить в следующем порядке:

- макроэлементы: Na > K > Ca > P > Mg;
- микроэлементы: Fe > Se > Zn > B > Si > Cu > Li;
- тяжёлые металлы: Al > Sr > Ni > V > Cr > Pb > Cd [13].

Полученные нами экспериментальные данные позволяют расположить их в следующем порядке:

- макроэлементы: K > Ca > Mg > P > Na;
- микроэлементы: Fe > Si > B > Cu > Zn > Li;

- тяжёлые металлы: Al > Sr > Ni > V > Pb > Cr.


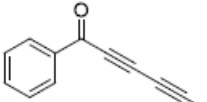
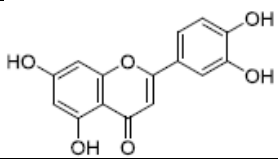
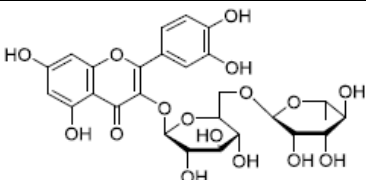
Таким образом, в ходе анализа обнаружено 27 химических элементов, среди которых преобладают калий, кальций, магний, фосфор, натрий.

3.6. Прогноз вероятных путей реализации противовоспалительной активности для основных действующих соединений из наземной части полыни метельчатой

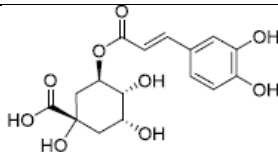
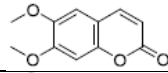
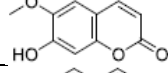
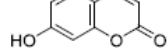
Результаты фитохимического исследования показали возможность использования полыни метельчатой в качестве источника потенциального сырья для разработки лекарственных средств, обладающих противовоспалительным действием [9].

В целях обоснования вероятности противовоспалительной активности водноспиртового извлечения (70%) из полыни метельчатой был выбран ряд, обнаруженных в нём вторичных метаболитов (Таблица 19), описанных в научной литературе в качестве основных действующих веществ наземной части этого растения [9].

Таблица 19 – Некоторые вторичные метаболиты полыни метельчатой, использованные в прогнозе вероятных путей реализации противовоспалительной активности [9]

Название	Структурная формула	Класс соединения
Капиллен		Полиацетиленовые соединения
Капиллин		Полиацетиленовые соединения
Лютеолин		Флавоноиды
Рутин		Флавоноиды

Продолжение Таблицы 19

Хлорогеновая кислота		Фенольные кислоты
Скопарон		Кумарины
Скополетин		Кумарины
Умбеллиферон		Кумарины

Среди представленных соединений выраженная противовоспалительная активность установлена у лютеолина, скопарона, скополетина и умбеллиферона. Противовоспалительная активность рутина и хлорогеновой кислоты в исследованных источниках характеризуется как незначительная или дискутируется. В связи с тем, что в статьях использовали разные фармакологические модели и активность выражали в разных единицах измерения, количественные результаты не приводятся. В Таблице 20 показана лишь качественная оценка возможного вклада вторичных метаболитов в противовоспалительную активность извлечения из надземной части полыни метельчатой, выраженная в числе публикаций [9].

Таблица 20 – Источники литературы с указанием противовоспалительной активности выбранных вторичных метаболитов надземной части полыни метельчатой из базы данных ChEMBL [9]

Вещество	Ссылка на литературный источник
Капиллен	-
Капиллин	-
Лютеолин	[47, 60, 84, 133, 134, 144]
Рутин	[159]
Хлорогеновая кислота	[45]
Скопарон	[42, 53, 62, 105, 109]
Скополетин	[44, 62, 87]
Умбеллиферон	[46, 50, 118]

Предварительный поиск литературных данных о противовоспалительной

активности отдельных вторичных метаболитов с использованием открытой базы данных ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) показал, что для большинства исследуемой выборки соединений эти результаты опубликованы (Таблица 20) [9].

На следующем этапе проводили прогноз мишеней для каждого из метаболитов, указанных в Таблице 19. Данный фрагмент работы осуществлялся при участии к.ф.н., доцента кафедры токсикологической и аналитической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Золотых Д.С. Для установления вероятных белков-мишеней использовали бесплатный сервис Швейцарского института биоинформатики SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>). Полученные результаты представляли собой перечень мишеней с указанием вероятности, выраженной в долях единицы. В расчет принимались все мишени с вероятностью отличной от нуля [9].

Среди всех исследованных метаболитов из Таблицы 19 только для капиллена не обнаружено ни одной мишени. После удаления повторов совокупное число мишеней для всех метаболитов составило 231.

Для установления тех мишеней, которые связаны с процессом воспаления, была использована база данных белков и генов человека GeneCards (<https://www.genecards.org/>). В поиске использовали запрос «inflammation». В результате был получен перечень из 2696 генов. Дополнительно использовали бесплатную открытую базу данных DisGeNet (<https://www.disgenet.org/>) для дополнения и уточнения списка генов человека, ассоциированных с заболеваниями, вызванными воспалением. В результате было получено 467 генов.

Для определения возможных мишеней, связанных с процессом воспаления, на основании исследуемых баз данных была построена диаграмма Венна (Venny 2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)) (Рисунок 22).

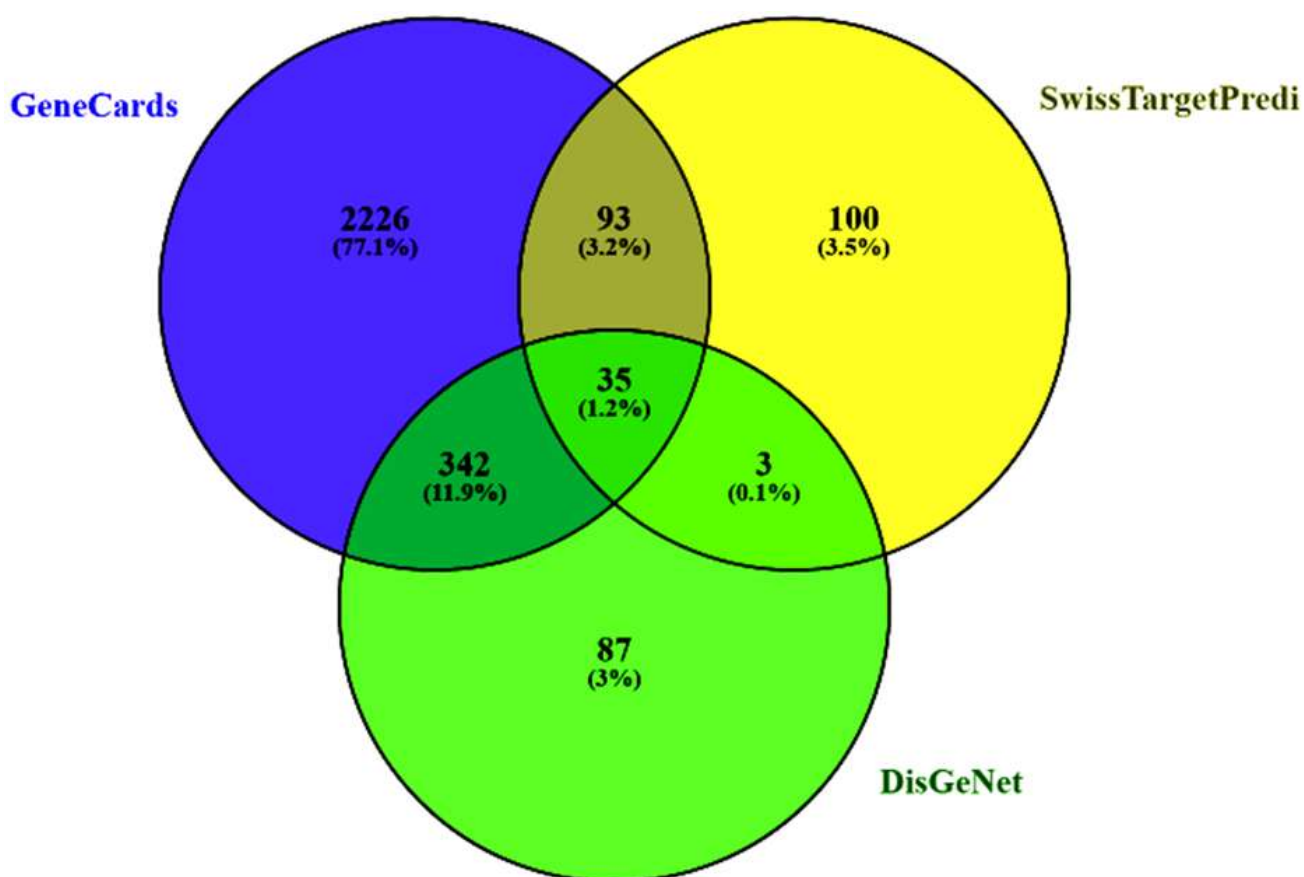


Рисунок 22 – Диаграмма Венна для трёх наборов мишеней (жёлтый цвет – прогнозируемые мишени с помощью сервиса SwissTargetPrediction, фиолетовый цвет – мишени, связанные с процессом воспаления по данным базы GeneCards, зелёный цвет – мишени, связанные с процессом воспаления по данным базы DisGeNet) [9]

На диаграмме показано перекрывание множеств генов. Для трёх множеств имеются общие мишени, составляющие 1,2%, в числовом выражении – 35 мишеней. Для выявления межбелковых взаимодействий для этих (35) мишеней использовали сетевой on-line сервис STRING (<https://string-db.org/>). Полученная прогнозируемая сеть взаимодействующих мишеней представлена на Рисунке 23 [9].

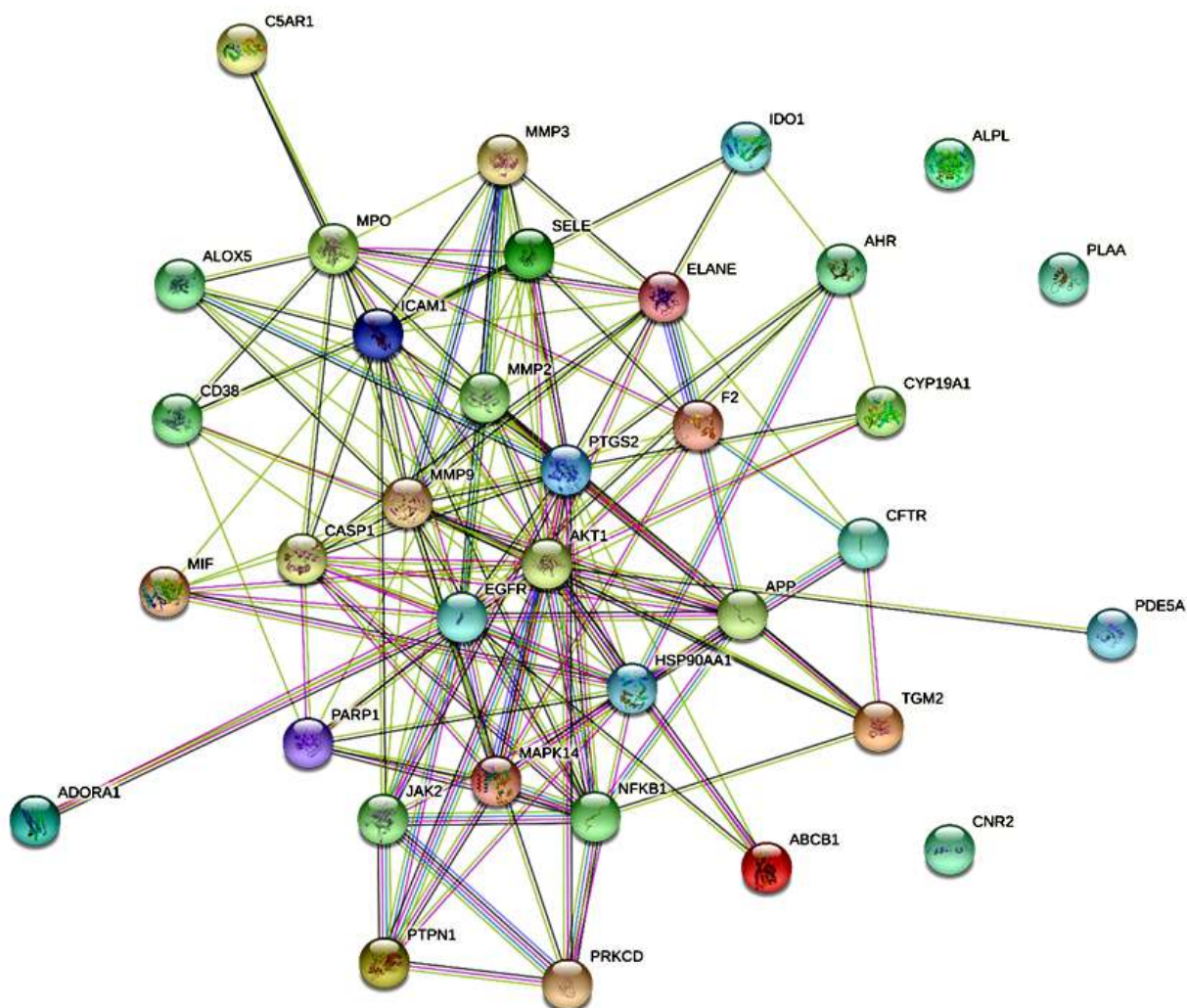


Рисунок 23 – Сеть белок-белковых взаимодействий выбранных мишеней [9]

Сеть представляла собой граф, в узлах которого располагаются отдельные белки-мишени. При этом число связей, идущих к каждому узлу, показывает его значимость в общей сети. К сожалению, сервис STRING не позволяет в достаточной степени провести количественную оценку построенной сети. Эту задачу вполне возможно реализовать с помощью другой программы Cytoscape (<https://cytoscape.org/>). Для этого данные сети, построенной с помощью сервиса STRING, импортировали в программу Cytoscape для последующего построения сети и её анализа [9].

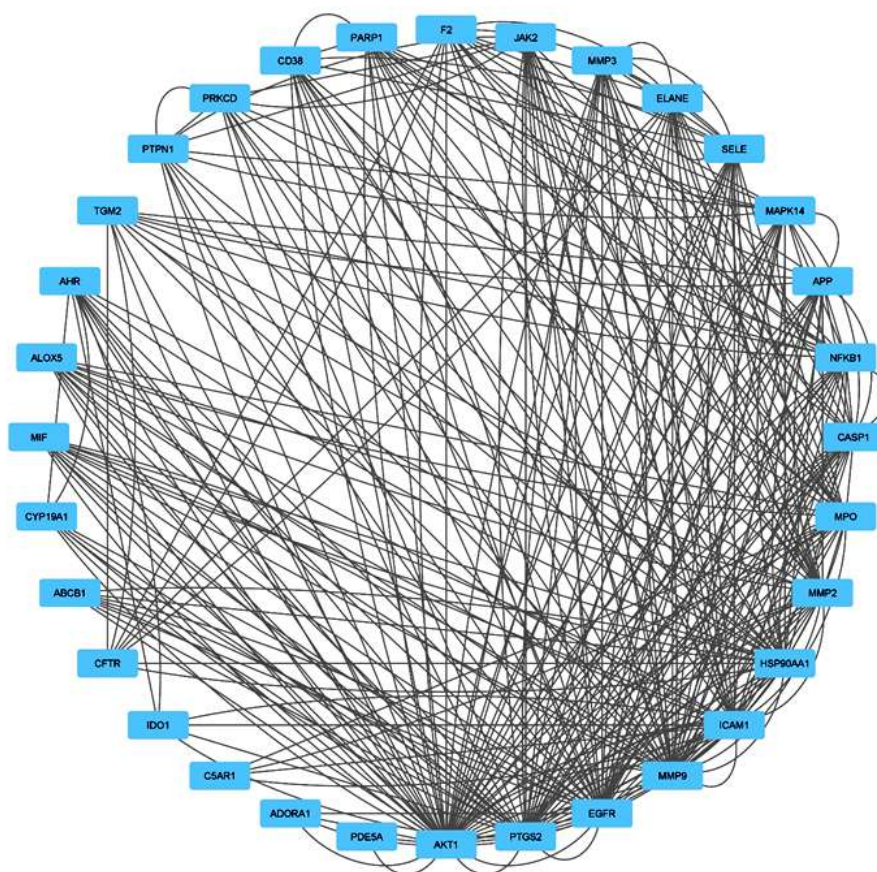


Рисунок 24 – Сеть белок-белковых взаимодействий в программе Cytoscape [9]

На Рисунке 24 показана сеть белок-белковых взаимодействий, построенная в программе Cytoscape. По кругу приводятся взаимодействующие белки-мишени в виде синих прямоугольников с соответствующими названиями. Каждый прямоугольник связан к другим мишеням. Прямоугольники располагаются по кругу по принципу увеличения числа связей, связывающих их друг с другом. Количественная оценка данной сети представлена в Таблице 21 [9].

Таблица 21 – Оценка числа связей для мишеней сети белок-белковых взаимодействий [9]

Число связей	Код белка-мишени
52	AKT1*
42	EGFR
42	PTGS2*
42	MMP9*
34	ICAM1

Продолжение Таблицы 21

32	HSP90AA1
30	MMP2*
26	MPO
24	NFKB1
24	CASP1
22	MAPK14
22	APP
22	SELE
20	ELANE
18	MMP3*
18	JAK2
16	F2
16	PARP1
14	CD38
12	AHR
12	MIF
12	TGM2
12	PTPN1
12	ALOX5
12	PRKCD
8	ABCB1
8	CYP19A1
8	CFTR
6	IDO1
4	ADORA1
4	C5AR1
2	PDE5A
Примечание: наиболее значимые белки-мишени, связанные с противовоспалительной активностью	

В Таблице 21 представлены белки-мишени по мере уменьшения числа связей. Звездочкой отмечены те, которые представляют наибольший интерес с точки зрения противовоспалительной активности. Из этих данных следует, что наибольшее число связей (52) приходится на внутриклеточный фермент АКТ1 семейства протеинкиназ. Он участвует в сигнальном пути фосфатидилинозитол-3-киназа/АКТ и в обязательной степени вовлекается в процесс воспаления [9].

Матриксные металлопротеиназы (MMPs) – это ферменты, способные к разрушению всех типов белков внеклеточного матрикса. Они относятся к

семейству ферментов из класса гидролаз, способных разрушать пептидную связь между аминокислотами в белках. Было отмечено, что при возникновении воспалительного процесса экспрессия MMPs увеличивается, и они играют значимую роль в развитии процесса воспаления. По этой причине активно проводятся поиски ингибиторов MMPs. В Таблице 21 показано, что среди прогнозируемых белков-мишеней встречается три типа матричных металлопротеиназ, MMP9, MMP3, MMP2. Также одной из самых популярных мишеней противовоспалительных препаратов является циклооксигеназа-2 (PTGS2), на которую приходится 42 связи в сети [9].

Таким образом, можно прогнозировать, что противовоспалительное действие исследуемых соединений, описанных в качестве основных действующих веществ из надземной части полыни метельчатой, вероятно может реализовываться как через хорошо известные вторичные мессенджеры (АКТ1), первичные мишени (ЦОГ-2), так и посредством перспективных мишеней (MMP2, MMP3 и MMP9) [9]. Последующие исследования подтвердили наличие противовоспалительной активности у эфирного масла полыни метельчатой сорта «Таврида» [111].

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 3

1. В результате фитохимического изучения надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида», заготовленной в фазу цветения установлено, что наибольшее количество полиацетиленовых соединений в эфирном масле накапливается в период начала цветения. При этом преобладающим компонентом является полиацетилен капиллен. В период массового цветения, а особенно в конце цветения содержание капиллена существенно снижается.

2. Методом хроматографии в тонком слое сорбента качественно подтверждено присутствие полиацетиленов капиллена, капиллина и капиллола и кумарина скопарона. Предложенный способ визуализации позволяет отказаться от агрессивных реагентов.

3. Определено количественное содержание капиллина в эфирном масле шести образцов полыни метельчатой травы методом тонкослойной хроматографии. Разработанная методика валидирована (по характеристикам - чувствительность, специфичность, линейность, предел количественного определения, правильность и прецизионность). Изучена динамика накопления основных полиацетиленовых соединений (капиллена, капиллина и капиллола) в эфирном масле полыни метельчатой сорта «Таврида» в основные фазы её роста и развития.

4. С помощью планарной хроматографии определено содержание кумарина скопарона в надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида», культивируемого на южном берегу Крыма. Разработанная методика валидирована.

5. Методами ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС в надземной части исследуемого сорта определено присутствие следующих фенольных соединений: флавоноиды – лютеолин 6,8-ди-С-глюкозид; рутин; гиперозид; кемпферол-О-рутинозид и лютеолин; фенольные кислоты – хлорогеновая кислота, 3,5-, 3,4- и 4,5-дикофеилхинные кислоты; кумарины – скопарон, скополетин, умбеллиферон.

6. Разработана и валидирована методика количественного определения

суммы флавоноидов в надземной части полыни метельчатой с помощью дифференциальной спектрофотометрии. Содержание флавоноидов в фазу цветения составило $1,95 \pm 0,05\%$ в пересчёте на рутин и абсолютно сухое сырьё.

7. С помощью сверхкритической флюидной экстракции получено CO_2 -извлечение из надземной части полыни метельчатой. ГЖХ-МС анализ показал, что капиллен, капиллин, скопарон, триаконтан, спатуленол и эвгенол являются основными его компонентами.

8. В надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида» обнаружен богатый состав аминокислот, а также макро- и микроэлементов, среди которых преобладают калий, кальций, магний, фосфор, натрий.

9. Прогноз вероятных путей реализации противовоспалительной активности основных действующих соединений из надземной части полыни метельчатой показал, что в этом процессе могут участвовать как хорошо известные вторичные мессенджеры (АКТ1), первичные мишени (ЦОГ-2), так и матричные металлопротеиназы (ММР2, ММР3 и ММР9).

ГЛАВА 4. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ, РАЗРАБОТКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И НОРМ КАЧЕСТВА СЫРЬЯ «ПОЛЫНИ МЕТЕЛЬЧАТОЙ ТРАВА» И ЭФИРНОГО МАСЛА НА ЕГО ОСНОВЕ

4.1. Морфолого-анатомическое исследование надземной части полыни метельчатой

Для морфолого-анатомического изучения взяты образцы надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида», собранные в фазу цветения в Никитском ботаническом саду в 2019 году. Внешние и микроскопические признаки определяли и описывали в соответствии с требованиями общих фармакопейных статей, указанных в разделе 2.2.

Внешние признаки. Высушенная надземная часть растения (Рисунок 25), срезанная на высоте 25-30 см над поверхностью почвы, состоит из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей [4].

Стебель круглый, остроконечный, бороздчатый, прямой, одиночный, в средней и верхней частях сильноветвистый, вначале опушённый, но во второй половине вегетационного сезона голый. Прикорневые и нижние стеблевые листья черешковые дважды или трижды перисторассеченные на линейные, острые дольки во время цветения опадающие. Имеют сетчатое жилкование. Средние стеблевые листья сидячие с нитевидными дольками. Черешок листа – крылатый. Корзинки округло-овальные или продолговато-яйцевидные, длиной 1,5-2 мм, состоят из шести цветков. Листочки обертки голые. Собраны на ветвях односторонними кистями, образующими пирамидальную метелку. Соцветие – мелкая головка, располагающаяся на кистеобразной ветви главного стебля. Наружная часть головки состоит из прицветников. Двуполые цветки располагаются в центре, а женские цветки расположены по направлению к периферии. Соцветия окружены неровными обвернутыми прицветниками. Прицветники неопушенные и овально-продолговатые, имеют широкие пленчатые края желтовато-зелёного цвета [4].

Женские цветки – фертильные и имеют актиноморфный венчик. Завязь нижняя и овальная. Длинное вилкообразное (раздвоенное) рыльце. Многоклеточные железистые волоски, сходные с волосками листа. Двуполые цветки расположены в центре корзинки. Венчик намного больше, чем у женских цветков, актиноморфный. Плод – яйцевидная, плосковатая, нитевидно-ребристая, бурая семянка длиной 0,6 мм. Цвет сырья жёлто-зелёный, вкус пряно-горький, запах сильный, ароматный [4].



Рисунок 25 – Внешний вид надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида»

Микроскопические признаки

Стебель. Эпидермис сильно кутинизирован и состоит из прямоугольных клеток. Кутикула имеет гладкую поверхность. Трихомы многоклеточные и Т – образные.

Кора хлоренхиматозная, 3-4 слойная. Клинообразные колленхиматозные механические ткани направлены от края к центру стебля.

Эндодерма хорошо выражена и состоит из бочкообразных клеток с заметными утолщениями на латеральных стенках. Перицикл состоит из склеренхиматозных клеток от 5 до 10 слоев.

Флоэма не очень хорошо развита и встречается местами. Ксилема хорошо выражена и состоит из сосудов, трахеид, ксилемного волокна и ксилемной паренхимы.

Сердцевина большая и образована круглыми колленхиматозными клетками. Ромбовидные кристаллы оксалата кальция обнаруживаются часто в центре клеток.

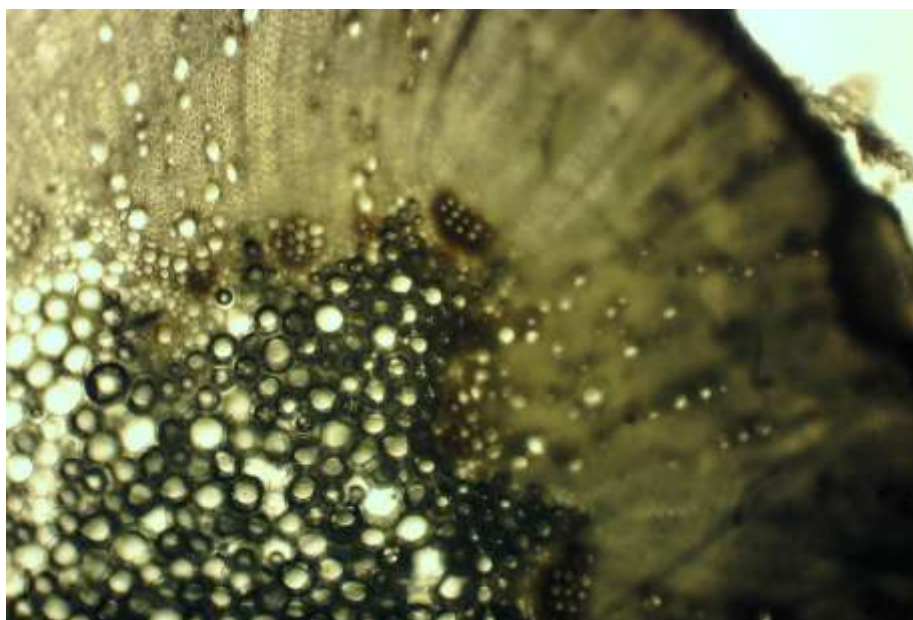
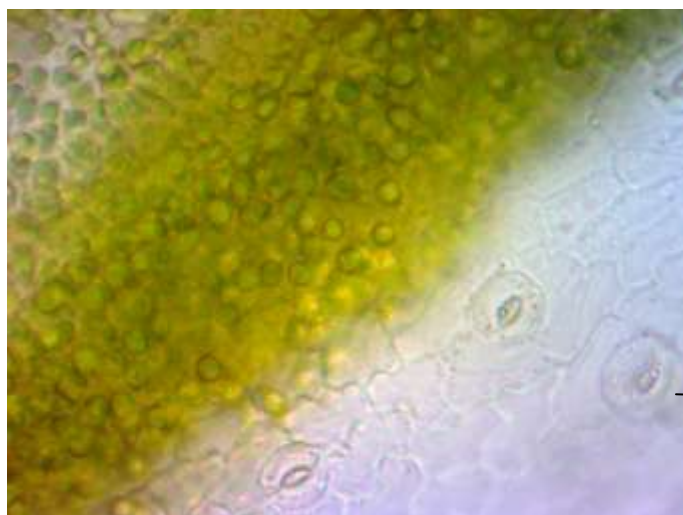


Рисунок 26 – Поперечный срез стебля полыни метельчатой (10×10)



Рисунок 27 – Поперечный срез стебля полыни метельчатой после реакции на одревесневшие элементы (реактив – раствор флороглюцина и серной кислоты раствор 25%) (10×4)

Лист. Эпидермис сильно кутинизирован. Нижние ткани паренхиматозные. Склеренхима присутствует на дорзальной и вентральной стороне сосудов. Ксилема и флоэма хорошо выражены. Смоляные каналы обычно обнаруживаются в составе сосудистых пучков. На поверхности прикорневых и стеблевых листьев редко встречаются желёзки по типу астровых, заполненные жёлтым маслом, и Т-образные волоски. Устьичный аппарат обычно аномоцитного типа, редко встречается анизоцитный тип устьичного аппарата. Эпидермис от края образован крупными клетками с сильно утолщенными клеточными стенками.



1

A

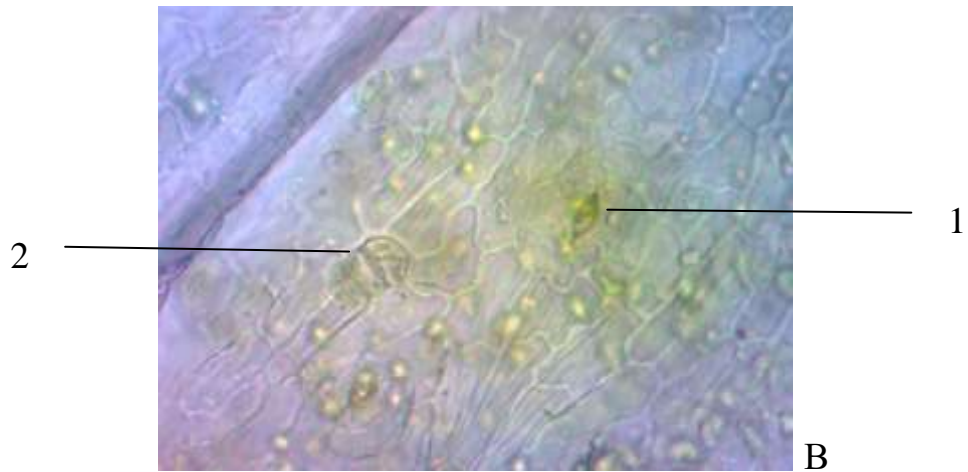


Рисунок 28 – Препарат с верхней (А) и нижней (В) поверхности листа
 полыни метельчатой (10×40)

- 1 – аномоцитный тип устьичного аппарата;
- 2 – эфиромасличные желёзки по типу астровых.



Рисунок 29 – Т-образный волосок (А), извилистостенный эпидермис и
 аномоцитный тип устьичного аппарата (В) с поверхности листа полыни
 метельчатой (10×40)

Цветок

Соцветие. Головка мелкая и располагается на кистеобразной ветви главного стебля. Наружная часть головки состоит из прицветников. Двуполые цветки располагаются в центре, а женские цветки расположены по направлению к периферии.



Рисунок 30 – Трубчатые и язычковые цветки в соцветиях полыни метельчатой (10×4)



Рисунок 31 – Трубчатый цветок полыни метельчатой (10×10)

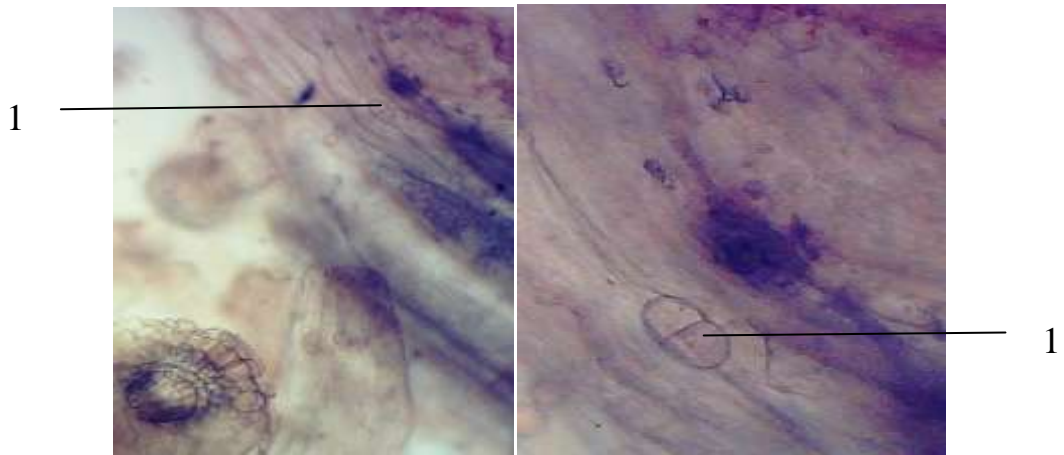


Рисунок 32 – Эфиромасличные желёзки по типу астровых на поверхности лепестков язычкового цветка (10×10, 10×40, соответственно).

1 – эфиромасличные желёзки по типу астровых.

Прицветники состоят из длинных вытянутых клеток расположенных неравномерно. Эфиромасличные желёзки встречаются редко. Поверхность женских цветков и венчик обоеполых цветков покрыт эфиромасличными желёзками. Пыльцевые зерна обычно сплюснутые, шаровидные, удлинённые в направлении линии, соединяющей полюсы, 3-х бороздчатые. Поверхность гладкая.

4.2. Разработка некоторых показателей и норм качества сырья «Полыни метельчатой трава»

Изучение проводили с использованием образцов надземной части полыни метельчатой, заготовленных в фазу начала цветения в коллекционном питомнике Никитского ботанического сада в 2018-2020 гг.

4.2.1. Подлинность сырья «Полыни метельчатой трава»

Внешние признаки сырья: *Цельное сырье.* «Цельные или частично измельченные верхушки цветоносных стеблей длиной до 100 см. Стебель цилиндрический, часто ветвистый, диаметром 2-8 мм. Внешне бледно-пурпурный

или пурпурный, продольно-полосатый, опушенный; текстура лёгкая по весу и хрупкая, излом беловатого цвета. Стебель прямой, одиночный, в средней и верхней частях сильноветвистый, вначале опушенный, но во второй половине вегетационного сезона голый. Стеблевые листья сидячие с нитевидными дольками. Корзинки округло-овальные или продолговато-яйцевидные, длиной 1,5-2 мм, состоят из шести цветков. Листочки обертки голые. Собраны на ветвях односторонними кистями, образующими пирамидальную метелку. Плод – яйцевидная, плосковатая, нитевидно-ребристая, бурая семянка длиной около 0,6 мм. Цвет сырья желто-зелёный, запах сильный, ароматный, вкус водного извлечения пряно-горький» [4].

Измельченное сырьё. «Смесь кусочков стеблей, листьев, соцветий и цветков, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм. Цвет зеленовато-жёлтый с вкраплением кусочков стеблей пурпурного цвета, вкус пряно-горький, запах ароматный» [4].



Рисунок 33 – Измельченное высушенное сырьё полыни метельчатой

Микроскопические признаки сырья

Цельное сырьё, измельчённое сырьё. На поверхности листьев обнаруживаются аномоцитные устьица, слегка выступающие над поверхностью;

эпидермальные клетки с волнистыми, изогнутыми антиклинальными стенками и диаметром 30–100 мкм. Иногда видны желёзки по типу астровых, заполненные жёлтым маслом, Т-образные волоски. Поперечная клетка Т-образного волоска расположена перпендикулярно клетка основания волоска (1-2 клетки) или имеет V-образную форму в точке перехода к основанию. Две ветви разной длины (общая длина 600-1000 мкм).

В связи с совпадением ареалов произрастания полынь метельчатая может рассматриваться как возможная примесь к сырью полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.). При разработке нормативной документации на сырьё полыни метельчатой возможен и обратный вариант. В результате проведенного сравнительного морфолого-анатомического изучения, в Таблице 22 приведены отличительные диагностические признаки изучаемого сырья.

Таблица 22 – Отличительные диагностические признаки полыни метельчатой от полыни горькой

	<i>Полынь метельчатая</i>	<i>Полынь горькая</i>
Стебель	прямой, одиночный, часто ветвистый, высотой до 40 см	цилиндрический, слегка ребристый, иногда ветвистый, высотой не более 25 см
Листья	жёлто-зелёные, небольшие, длиной до 4 см	серебристо-серые, большие, длиной до 20 см
Соцветия	широкояйцевидные, отклоненные	шаровидные, поникающие
Прицветники	неопушенные, овально-продолговатые, широкие пленчатые края желтовато-зеленого цвета	выпуклые, узкие пленчатые края желтого цвета
Прикорневые листья	дважды-перисторассечённые	трижды-перисторассечённые
Т-образные волоски	состоят из длинной извилистой лентовидной клетки с заостренными краями и одноклеточной ножкой, расположенной по центру; покрывают все растение, включая цветки	состоят из прямой лентовидной клетки с тупыми краями и нескольких мелких клеток, расположенных в ряд и образующих ножку

Продолжение таблицы 22

Строение клеток эпидермиса	на нижнем эпидермисе клетки имеют сильно извилистые стенки	одинаковое строение клеток верхнего и нижнего эпидермиса
----------------------------	--	--

Таким образом, отличительными морфологическими признаками полыни метельчатой от соответствующих признаков фармакопейного сырья – «Полыни горькой трава» следует считать размер и окраску стеблевых листьев, характер соцветий; анатомическими – строение Т-образных волосков и клеток эпидермиса.

4.3. Определение показателей качества сырья

Определение показателей качества проводилось в соответствии с требованиями ОФС ГФ РФ XIV [14].

В исследовании были использованы образцы сырья, собранные в фазу цветения на территории коллекционного питомника НБС-ННЦ РАН в 2019, 2020 годах.

Испытания сырья проводили согласно требованиям ГФ XIV. Результаты представлены в Таблицах 23-30.

Таблица 23 – Определение влажности полыни метельчатой травы

Влажность, %	Метрологические характеристики
5,60	$n = 6$ $x_{\text{ср.}} = 6,00$ $S = 0,3464$ $Sx_{\text{ср.}} = 0,1414$ $\Delta x = 0,3267$ $E(\%) = 5,44$
6,30	
6,00	
5,70	
6,50	
5,90	

Таблица 24 – Определение содержания золы общей в полыни метельчатой траве

Зола общая, %	Метрологические характеристики
7,00	$n = 6$ $x_{\text{ср.}} = 7,30$ $S = 0,3688$ $Sx_{\text{ср.}} = 0,1506$ $\Delta x = 0,3478$ $E (\%) = 4,76$
6,80	
7,20	
7,50	
7,80	
7,50	

Таблица 25 – Определение содержания золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте в полыни метельчатой траве

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, %	Метрологические характеристики
0,50	$n = 6$ $x_{\text{ср.}} = 0,50$ $S = 0,1075$ $Sx_{\text{ср.}} = 0,0439$ $\Delta x = 0,1014$ $E (\%) = 2,15$
0,40	
0,52	
0,65	
0,55	

Таблица 26 – Определение содержания экстрактивных веществ в полыни метельчатой траве (экстрагент вода очищенная)

Содержание экстрактивных веществ, %	Метрологические характеристики
11,60	$n = 6$ $x_{\text{ср.}} = 12,60$ $S = 0,6356$ $Sx_{\text{ср.}} = 0,2595$ $\Delta x = 0,5994$ $E (\%) = 4,76$
13,50	
12,50	
12,40	
12,60	
13,00	

Таблица 27 – Определение содержания экстрактивных веществ в полыни метельчатой траве (экстрагент спирт этиловый 40%)

Содержание экстрактивных веществ, %	Метрологические характеристики
12,50	$n = 6$ $x_{\text{ср.}} = 13,49$ $S = 0,8309$ $Sx_{\text{ср.}} = 0,3392$
13,50	
12,50	
14,50	$\Delta x = 0,7836$ $E (\%) = 5,81$
13,95	
14,00	

Таблица 28 – Определение содержания экстрактивных веществ в полыни метельчатой траве (экстрагент спирт этиловый 70%)

Содержание экстрактивных веществ, %	Метрологические характеристики
22,00	$n = 6$ $x_{cp.} = 22,19$ $S = 1,5907$ $Sx_{cp.} = 0,6494$ $\Delta x = 1,5001$ $E (\%) = 6,76$
19,50	
23,50	
22,50	
21,65	
24,00	

Таблица 29 – Определение содержания экстрактивных веществ в полыни метельчатой траве (экстрагент спирт этиловый 95%)

Содержание экстрактивных веществ, %	Метрологические характеристики
9,50	$n = 6$ $x_{cp.} = 10,13$ $S = 1,2295$ $Sx_{cp.} = 0,5020$ $\Delta x = 1,1595$ $E (\%) = 5,67$
11,30	
10,50	
9,30	
11,65	
8,50	

Таблица 30 – Показатели качества сырья полыни метельчатой травы

Показатель	Норма
Влажность	не более 7%
Зола общая	не более 8%
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте 10%	не более 1%
Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70%	не менее 19%
Содержание эфирного масла	не менее 1%

Полученные экспериментальные данные показывают, что в качестве норм качества сырья «Полыни метельчатой трава» могут быть установлены: влажность – не более 7%, золы общей – не более 8%, золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты – не более 1%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70% - не менее 19%, содержание эфирного масла – не менее 1% [11].

4.4. Нормы качества эфирного масла Полыни метельчатой травы сорта «Таврида»

Для разработки проекта Технических условий на эфирное масло из сырья (травы) полыни метельчатой сорта «Таврида», нами было наработано методом гидродистилляции (метод 2 ГФ XIV [14]) шесть образцов эфирного масла из сырья, заготовленного в 2018-2020 гг. в коллекционном питомнике Никитского ботанического сада (г. Ялта, Крым) в фазу начала цветения.

Внешний вид. Эфирное масло полыни метельчатой сорта «Таврида» представляет собой подвижную жидкость светло-жёлтого цвета (сразу после перегонки с водяным паром), которая затем постепенно темнеет, приобретая примерно через месяц красно-коричневую окраску.

Растворимость. Эфирное масло легко растворимо в спирте этиловом 95%, хлороформе и ацетоне. Растворимо в гексане и петролейном эфире, нерастворимо в воде.

Подлинность. Подлинность эфирного масла полыни метельчатой проверяют методом ТСХ. Оптимальное разделение компонентов наблюдают в системе растворителей гексан – этилацетат (9:1). После того, как фронт растворителя пройдёт ~9 см, хроматограмму высушивают и проявляют в УФ-свете в течение 5 минут (Рисунок 34). На хроматограмме обнаруживаются 3 светло-оранжевых зоны адсорбции в области R_f 0,25-0,35 (капиллол); R_f 0,55-0,65 (капиллин); R_f 0,75-0,85 (капиллен).

Показатели качества образцов эфирного масла полыни метельчатой сорта «Таврида» представлены в Таблице 31.

Таблица 31 – Основные показатели качества эфирного масла полыни метельчатой сорта «Таврида», установленные на 6 образцах на различных сроках хранения

№ п/п*	Плотность	Показатель преломления	Кислотное число
18	0,9101	1,5080	2,3
19	0,9124	1,5002	3,8
26	0,9520	1,5020	0

Продолжение таблицы 31

27	0,9300	1,5050	1,0
32	0,9105	1,5032	6,7
33	0,9688	1,5085	9,1
Примечание: номера образцов даны в соответствии с Таблицей 4 (глава 2)			

Показатель преломления. От 1,500 до 1,510 в соответствии с требованиями ОФС 1.2.1.0017.15 «Рефрактометрия» (ГФ РФ XIV) [14]. *Кислотное число.* Не более 10,0 в соответствии с требованиями ОФС 1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» (ГФ РФ XIV) [14]. *Спирт.* В соответствии с ОФС 1.5.2.0001.15 (ГФ РФ XIV) [14]. *Жирные и минеральные масла.* Должны отсутствовать в соответствии с ОФС «Эфирные масла» (ГФ РФ XIV) [14]. *Вода.* В соответствии с ОФС 1.5.2.0001.15 «Эфирные масла» (ГФ РФ XIV) [14].

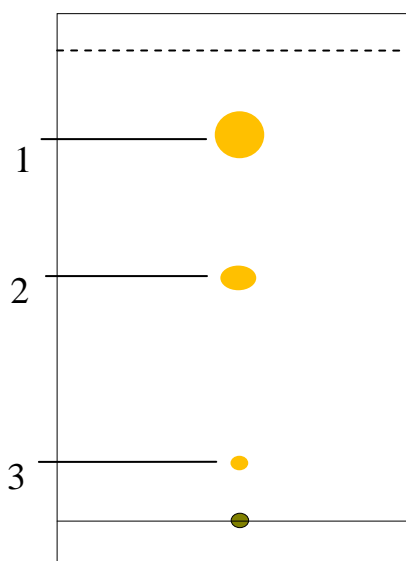


Рисунок 34 – Схема хроматограммы эфирного масла надземной части полыни метельчатой (после 5 минут облучения УФ-светом); 1 – капиллен, 2 – капиллин, 3 – капиллол

Плотность. От 0,9100 до 0,9700 в соответствии с требованиями метода 1 ОФС 1.2.1.0014.15 «Плотность» (ГФ XIV издания). *Угол вращения.* Измеряли в соответствии с требованиями ОФС «Поляриметрия» 1.2.1.0018.15 (ГФ XIV издания). Угол вращения определить не удалось, поскольку эфирное масло имеет

красно-коричневую окраску и не даёт чётких границ раздела между светлыми и тёмными частями рабочего поля. После этого готовили спиртовые растворы всех 6-ти исследуемых образцов эфирного масла и определяли удельное вращение полученных растворов. Удельное вращение всех испытуемых растворов составило 0° , т.е. все шесть образцов эфирного масла были оптически неактивными.

Установленные нормы качества эфирного масла полыни метельчатой сорта «Таврида» были использованы при разработке проекта Технических условий на эфирное масло полыни метельчатой сорта «Таврида» [6].

4.5. Разработка и валидация методики количественного определения кислоты хлорогеновой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Для количественного определения кислоты хлорогеновой в полыни метельчатой траве сорта «Таврида» использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию.

Водноспиртовые извлечения (70%) из образцов сырья полыни метельчатой, собранных в фазу начала цветения в Никитском ботаническом саду в 2017-2019 гг., получали ранее описанным методом (глава 3) и анализировали по разработанной нами методике (глава 2). Валидность данной методики оценивали по её специфичности, линейности, прецизионности и правильности.

Для характеристики первого параметра соотносили значения времени удерживания пика хлорогеновой кислоты в анализируемых извлечениях с аналогичным показателем стандартного образца.

Кроме этого, для подтверждения специфичности предложенной методики использовали метод добавок. Исследование показало, что профили пиков и параметры асимметричности оставались стабильными.

4.5.1. Линейность методики

Линейность методики подтверждали путем анализа растворов кислоты хлорогеновой на 5 различных уровнях концентрации (Таблица 32).

Выражение данной зависимости представлено на Рисунке 35.

Таблица 32– Концентрации измеряемых растворов СО кислоты хлорогеновой и соответствующие им средние значения площадей пиков

Концентрация раствора СО кислоты хлорогеновой, %	Площадь пика кислоты хлорогеновой (среднее из двух вводов), mV·сек
0,1	5236
0,25	12726
0,5	25746
0,75	38258
1,0	51685

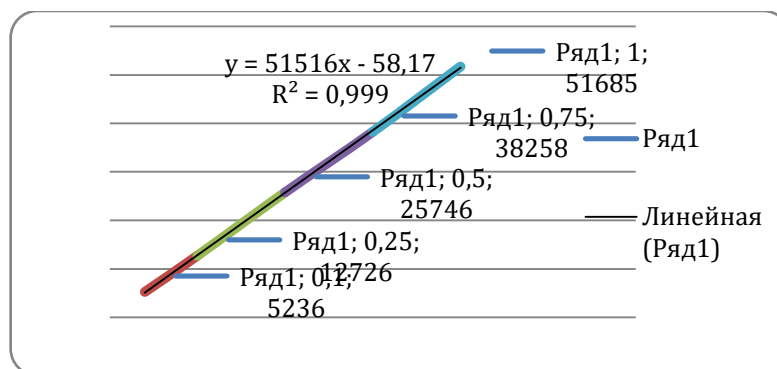


Рисунок 35 – Градуировочный график зависимости площадей хроматографических пиков от концентрации кислоты хлорогеновой в стандартном образце

В указанном диапазоне концентраций график характеризовался линейной зависимостью, а обработка экспериментальных данных методом наименьших квадратов с использованием линейной модели позволила получить следующее уравнение: $y = 51516x - 58,17$. При этом значение коэффициента корреляции (r) составило $0,999$, что отвечает необходимым требованиям ($r \geq 0,99$) к данному валидационному показателю.

4.5.2. Прецизионность методики

Результаты определения прецизионности методики при использовании извлечений из надземной части растений 2017-2019 гг. сбора представлены в Таблицах 33-35.

Таблица 33 – Результаты определения прецизионности методики количественного определения кислоты хлорогеновой в извлечении полыни метельчатой 2017 г.

№ п/п	Навеска, г	Площадь пика	X, %	SD	RSD,%
1	6,2501	4868,25	0,1003	0,0034	3,4
2	6,2504	4739,24	0,0977		
3	6,2500	4916,78	0,1013		
4	6,2504	4776,54	0,0984		
5	6,2498	4934,65	0,1017		
6	6,2497	4839,12	0,0997		
			X _{ср.} = 0,0999		

Таблица 34 – Результаты определения прецизионности методики количественного определения кислоты хлорогеновой в извлечении полыни метельчатой 2018 г.

№п/п	Навеска, г	Площадь пика	X, %	SD	RSD,%
1	6,2508	10572,11	0,2179	0,0066	3,05
2	6,2510	10298,54	0,2123		
3	6,2501	10458,32	0,2156		
4	6,2500	10674,54	0,2200		
5	6,2496	10336,47	0,2130		
6	6,2497	10574,23	0,2179		
			X _{ср.} = 0,2161		

Таблица 35 – Результаты определения прецизионности методики количественного определения кислоты хлорогеновой в извлечении полыни метельчатой 2019 г.

№п/п	Навеска, г	Площадь пика	X, %	SD	RSD,%
1	6,2504	28559,02	0,5886	0,0166	2,82
2	6,2508	28148,36	0,5801		
3	6,2506	28896,45	0,5956		
4	6,2500	28074,69	0,5780		
5	6,2498	28574,61	0,5889		
6	6,2494	29056,97	0,5989		
			X _{ср.} = 0,5884		

Результаты установления правильности (открываемости) методики представлены в таблицах 36-38.

Таблица 36 – Результаты определения правильности методики количественного определения хлорогеновой кислоты в извлечении полыни метельчатой 2019 г.

№ П/П	Уровень	Содержание кислоты хлорогеновой, %	Количество кислоты хлорогеновой, добавленной к навеске сырья, %	Теоретическое количество хлорогеновой кислоты в пробе, %	Найденное количество хлорогеновой кислоты в пробе, %	Открываемость (R), %	
1	1	0,588	0,472	1,060	1,024	96,6	R _{ср.} = 100,0%; RSD = 5,7%;
2	1	0,588	0,472	1,060	1,074	101,3	
3	1	0,588	0,472	1,060	1,026	96,8	
4	2	0,588	0,590	1,178	1,204	102,2	
5	2	0,588	0,590	1,178	1,194	101,4	
6	2	0,588	0,590	1,178	1,174	99,7	
7	3	0,588	0,708	1,296	1,315	101,5	
8	3	0,588	0,708	1,296	1,318	101,7	
9	3	0,588	0,708	1,296	1,280	98,8	

Таблица 37 – Результаты определения правильности методики количественного определения хлорогеновой кислоты в извлечении полыни метельчатой 2018 г.

№ П/П	Уровень	Содержание кислоты хлорогеновой, %	Количество кислоты хлорогеновой, добавленной к навеске сырья, %	Теоретическое количество хлорогеновой кислоты в пробе, %	Найденное количество хлорогеновой кислоты в пробе, %	Открываемость, %	
1	1	0,2160	0,1720	0,3880	0,3720	95,9	

Продолжение таблицы 37

2	1	0,2160	0,1720	0,3880	0,3840	99,0	Rcp.= 99,7%; RSD= 4,8%
3	1	0,2160	0,1720	0,3880	0,3960	102,1	
4	2	0,2160	0,2150	0,4310	0,4270	99,1	
5	2	0,2160	0,2150	0,4310	0,4220	97,9	
6	2	0,2160	0,2150	0,4310	0,4410	102,3	
7	3	0,2160	0,2580	0,4740	0,4750	100,2	
8	3	0,2160	0,2580	0,4740	0,4680	98,7	
9	3	0,2160	0,2580	0,4740	0,4820	101,7	

Таблица 38 – Результаты определения правильности методики количественного определения хлорогеновой кислоты в извлечении полыни метельчатой 2017 г.

№ п/п	Уровень	Содержание кислоты хлорогеновой, %	Количество кислоты хлорогеновой, добавленной к навеске сырья, %	Теоретическое количество хлорогеновой кислоты в пробе, %	Найденное количество хлорогеновой кислоты в пробе, %	Открываемость, %	
1	1	0,1000	0,0800	0,1800	0,1756	97,6	Rcp= 99,3%; RSD= 3,9%
2	1	0,1000	0,0800	0,1800	0,1814	100,8	
3	1	0,1000	0,0800	0,1800	0,1784	99,3	
4	2	0,1000	0,1000	0,2000	0,2020	101,0	
5	2	0,1000	0,1000	0,2000	0,1985	99,3	
6	2	0,1000	0,1000	0,2000	0,1974	98,7	
7	3	0,1000	0,1200	0,2200	0,2118	96,3	
8	3	0,1000	0,1200	0,2200	0,2217	100,8	
9	3	0,1000	0,1200	0,2200	0,2205	100,2	

Данные, представленные в таблицах, показывают, что значения открываемости для всех определяемых веществ при применении метода добавок с проведением девяти испытаний с использованием трёх разных уровней концентрации находятся в допустимых пределах 98-102%.

Выполненные исследования подтвердили валидность методики и позволяют рекомендовать её для оценки количественного содержания кислоты хлорогеновой в сырье *Artemisiae scorariae herba*. В качестве нормы содержания кислоты хлорогеновой в Полыни метельчатой траве рекомендуется показатель – не менее 0,1% в пересчёте на абсолютно сухое сырьё.

4.6. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в Полыни метельчатой траве и её валидация

Определение оптимальных параметров осуществления методики проводили, исследуя влияние степени измельченности сырья, времени экстракции, используемого экстрагента, соотношения сырья и экстрагента на результат количественного определения суммы флавоноидов с помощью спектрофотометрического метода (Таблица 39) [10].

Таблица 39 – Количественное содержание суммы флавоноидов в сырье полыни метельчатой сорта «Таврида» в зависимости от степени его измельчения, времени экстракции, применяемого экстрагента, соотношения сырья и экстрагента [10]

Показатель	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, % и абсолютно сухое сырьё
Степень измельченности сырья, мм	
0,5	1,82±0,08
1	1,89±0,07
2	1,77±0,08
Время экстракции, мин	
30	1,14±0,05
60	1,93±0,08
90	1,92±0,09
Экстрагент	
Спирт этиловый 95%	0,85±0,11
Спирт этиловый 70%	1,95±0,05
Спирт этиловый 40%	1,15±0,11
Соотношение сырье:экстрагент	
1:50	1,18±0,06
1:60	1,90±0,07
1:70	1,88±0,10

На основании полученных в ходе исследований данных предлагается использовать «измельчённое до величины частиц, проходящей через сито с отверстиями размером 1 мм. 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл спирта 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. После охлаждения фильтр промывают 40 мл спирта 70%, объем извлечения в колбе доводят до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора)» [10].

«2 мл раствора А испытуемого раствора, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30%, доводят объем раствора в колбе спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 30 минут на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора и 1 капли уксусной кислоты разведенной 30% доведенной спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл» [10].

«Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А СО рутина, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл [10].

Приготовление раствора СО рутина

«0,05 г (точная навеска) рутина, предварительно высушенного при 130-135 °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют при нагревании на водяной бане в 85 мл спирта 96%, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутина)» [10].

«1,0 мл раствора А СО рутина, 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2% и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30% помещают в мерную колбу

вместимостью 25 мл и доводят спиртом 96% до метки (раствор Б СО рутина)» [10].

«Содержание суммы флавоноидов (X %) в пересчете на рутин с учетом влажности сырья вычисляют по формуле» [10]:

$$X = \frac{A_x \times a_0 \times V_{a_0} \times W_{1_x} \times W_{2_x} \times 100 \times 100}{A_0 \times W_{1_0} \times W_{2_0} \times a_x \times V_{a_x} \times (100 - w)}$$

где A_x – значение оптической плотности в испытуемом растворе;

A_0 – значение оптической плотности раствора СО рутина;

W_{1_x}, W_{2_x} – мерные колбы, использованные для получения испытуемого раствора, мл;

W_{1_0}, W_{2_0} – мерные колбы, использованные для получения раствора СО рутина, мл;

a_x и a_0 – навески сырья и СО рутина соответственно, г;

V_{a_x} и V_{a_0} – аликвоты полученного извлечения из сырья и раствора СО рутина соответственно, мл;

w – потеря в массе при высушивании сырья, % [10].

4.6.1. Валидность методики количественного определения суммы флавоноидов в Полыни метельчатой траве

Специфичность методики подтверждали сравнением спектров поглощения комплексов образовавшихся в результате взаимодействия флавоноидов в извлечениях из сырья полыни метельчатой и стандартного образца рутина с ионами алюминия [10].

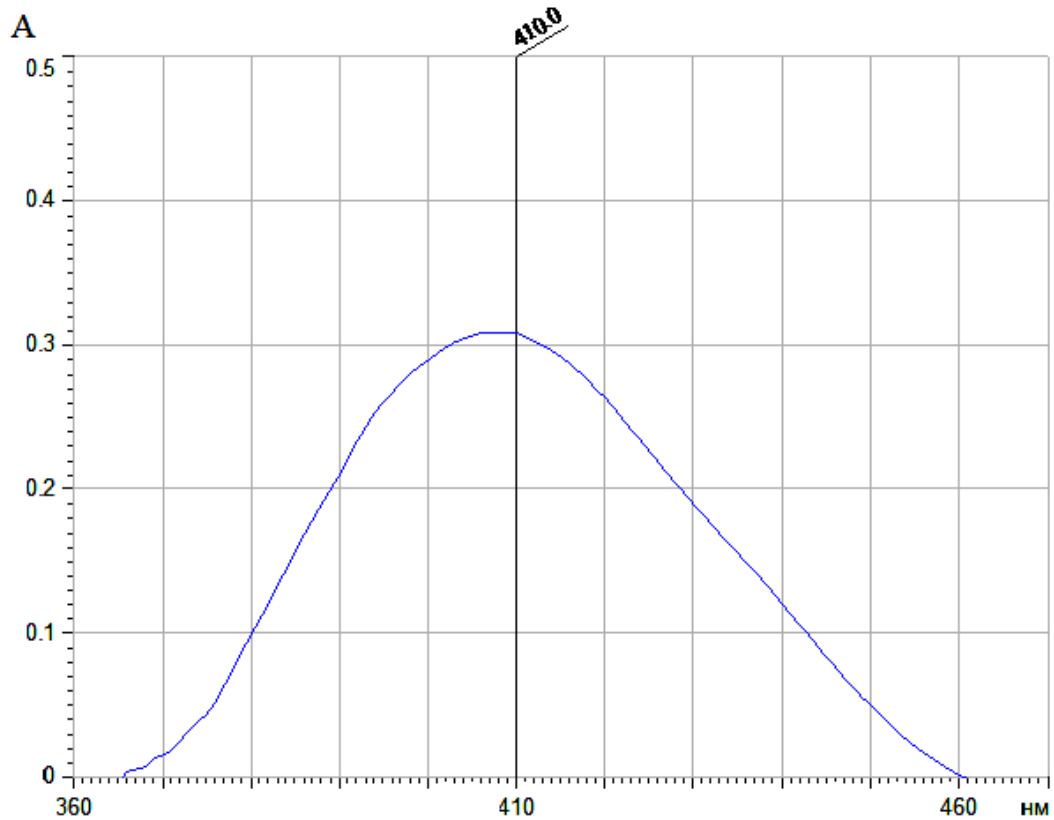


Рисунок 36 – Фрагмент спектра поглощения продукта реакции суммы флавоноидов (70%) извлечения полыни метельчатой травы с алюминия хлоридом [10]

Как следует из представленных Рисунков 36 и 37, максимум поглощения продукта реакции с алюминия хлоридом в растворе стандартного образца рутина совпадают с максимумом поглощения спиртового (70%) извлечения полыни метельчатой травы с алюминия хлоридом [10].

Максимумы поглощения находятся при длине волны 410 нм. Следовательно, предлагаемая нами методика количественного определения суммы флавоноидов в полыни метельчатой в пересчете на рутин является специфичной [10].

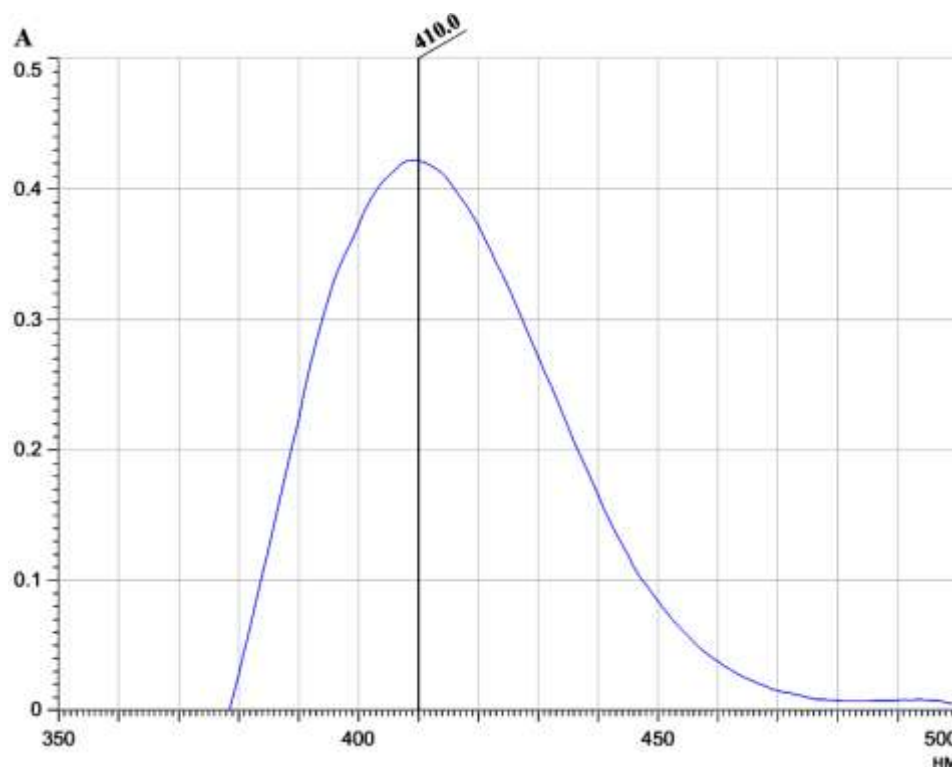


Рисунок 37 – Фрагмент спектра поглощения раствора продукта реакции СО рутин с алюминия хлоридом 2% [10]

По результатам изучения линейности методики был построен градуировочный график» (Рисунок 38).

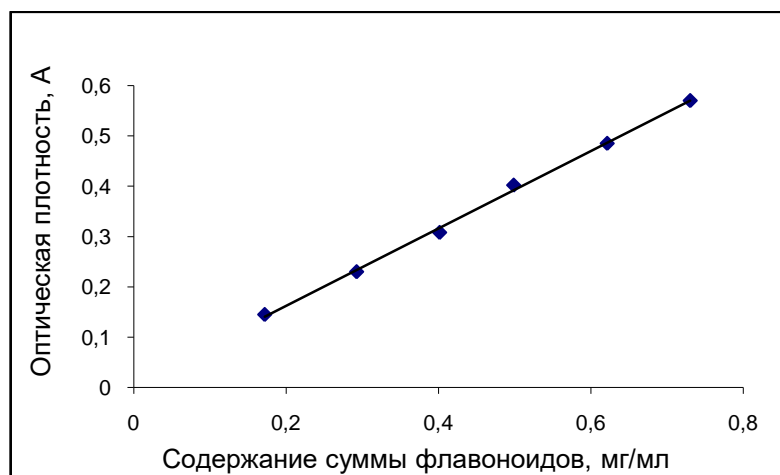


Рисунок 38 – Оптическая плотность (при 410 нм) растворов извлечения из сырья *Artemisiae scorariae herba* в зависимости от содержания суммы флавоноидов в пересчёте на рутин [10]

Как следует из Рисунка 38 «зависимость величины оптической плотности от

количества суммы флавоноидов в пересчете на рутин в 1 мл раствора аппроксимируется в виде прямой линии в пределах аналитической области (0,1718 – 0,7305 мг / мл), что позволяет для оценки этой зависимости использовать регрессионный анализ» [10, 14].

Методом наименьших квадратов в Excel нами рассчитан коэффициент корреляции, коэффициенты b и a для уравнения линейной зависимости. Уравнение линейной зависимости имеет вид: $y = 0,7692x + 0,0085$. Коэффициент корреляции (расчетное значение – 0,999) максимально близок к единице [10].

Таким образом, очевидна линейная зависимость между значениями максимума оптической плотности (410 нм) дифференциальных спектров извлечений от содержания в них суммы флавоноидов в пересчёте на рутин» [10].

Таблица 40 – Результаты определений значений оптической плотности извлечения из сырья полыни метельчатой и определяемое содержание в нём суммы флавоноидов в пересчете на рутин [10]

Суммарное содержание флавоноидов, мг/мл	Оптическая плотность, А	Характеристики зависимости
0,1718	0,145	$b=0,7692$
0,2925	0,230	$Sb =0,0244$
0,4015	0,308	$\Delta b=0,0678$
0,4987	0,402	$a=0,0085$
0,6215	0,485	$Sa=0,0104$
0,7305	0,570	$\Delta a=0,0289; r=0,9989$

Таким образом, методика линейна в пределах изученной аналитической области (Рисунок 38). Результаты изучения внутрилабораторной воспроизводимости представлены в Таблицах 41 и 42 [10].

Таблица 41 – Повторяемость (сходимость): содержание суммы флавоноидов в траве полыни метельчатой [10]

($a_0 = 0,0503$ г; $A_0 = 0,4220$; $B = 7\%$)

Масса навески, г	Оптическая плотность $A_x, \lambda = 410$ нм	Содержание суммы флавоноидов, % (в пересчёте на рутин)	Метрологические характеристики
1,0015	0,3032	1,94	

Продолжение таблицы 41

0,9502	0,2921	1,97	$\bar{X} = 1,95$ $S_{\bar{x}} = 0,019167$ $\Delta x = 0,0533$ $\bar{x} \pm \Delta x =$ $1,95 \pm 0,05$ $\varepsilon = 2,73\%$
1,0147	0,3056	1,93	
0,9949	0,3136	2,02	
1,0250	0,3103	1,94	
0,9951	0,2966	1,91	

Таблица 42 – Результаты определения суммы флавоноидов в траве полыни метельчатой (в пересчете на рутин) двумя исполнителями [10]

Исполнитель 1		Исполнитель 2	
Количественное содержание флавоноидов, %	Метрологические характеристики	Количественное содержание флавоноидов, %	Метрологические характеристики
1,92	$\bar{X} = 1,95$ $S_{\bar{x}} = 0,018185$ $\Delta x = 0,0506$ $\bar{x} \pm \Delta x = 1,95 \pm$ $0,05$ $\varepsilon = 2,59\%$	1,96	$\bar{X} = 1,95$ $S_{\bar{x}} = 0,018166$ $\Delta x = 0,0505$ $\bar{x} \pm \Delta x = 1,95 \pm$ $0,06$ $\varepsilon = 2,58\%$
1,93		1,93	
2,02		1,99	
1,94		1,92	
1,93		1,89	
1,97		2,01	

Таким образом, содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в исследуемом сырье составило $1,95 \pm 0,05\%$, при относительной погрешности определения менее 3% [10].

Для подтверждения правильности разработанной методики был получен модельный препарат с содержанием суммы флавоноидов на верхнем пределе линейности – 0,7305 мг/мл [10].

Кроме этого препарата в исследованиях были использованы три его разведения, полученные с помощью спирта этилового 70%.

Для каждого из полученных образцов определяли содержание флавоноидов в пересчете на рутин, рассчитывали открываемость и оценивали правильность методики [10].

Результаты представлены в Таблице 43.

Таблица 43 – Оценка правильности методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сырье полыни метельчатой [10]

Степень разведения модельного препарата	Содержание суммы флавоноидов, мг/мл		Открываемость, R, %	Метрологические характеристики
	Теоретическое	Экспериментально установленное		
1: 0,5	0,4870	0,4869	99,98	$\bar{X} = 99,417$ $S_{\bar{x}} = 0,564268$ $\Delta x = 1,275245$ $\bar{x} \pm \Delta x = 99,42 \pm 1,28$ $\varepsilon = 1,28\%$ $SD = 1,7843$
		0,4805	98,66	
		0,4730	97,12	
1: 1	0,3653	0,3604	98,65	
		0,3664	100,30	
		0,3752	102,70	

Продолжение таблицы 43

1: 2	0,2435	0,2459	100,97	$RSD = 1,79\%$ $t_{\text{выч}} = 0,98$
		0,2362	97,02	
		0,2395	98,34	
			100,43	

Результаты, представленные в Таблице 43, демонстрируют, что содержание суммы флавоноидов во всех проанализированных образцах близко к теоретически рассчитанному.

При этом значение относительного стандартного отклонения соответствует величине RSD, оптимальной для данного метода анализа.

Валидационные характеристики разработанной методики представлены в Таблице 44.

Таблица 44 – Валидационные характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в сырье полыни метельчатой [10]

Валидационная характеристика		Результат
Специфичность		Специфична
Линейность	Коэффициент корреляции	$r = 0,99$
Правильность		$RSD = 1,79\%$
Воспроизводимость		$\varepsilon = 2,73\%$

Таким образом, для стандартизации растительного сырья «Полыни метельчатой травы» можно использовать спектрофотометрическую методику количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин методом дифференциальной спектрофотометрии и норму качества по количественному содержанию суммы флавоноидов в пересчете на рутин – $\geq 1,5\%$ [10].

ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ 4

1. Исследованы внешние и микроскопические признаки надземной части (травы) полыни метельчатой сорта «Таврида». В качестве диагностических морфологических признаков полыни метельчатой следует считать окраску стеблей, размер и окраску стеблевых листьев, характер соцветий; анатомических – строение Т-образных волосков и клеток эпидермиса.

2. Разработаны показатели подлинности и некоторые нормы качества сырья «Полыни метельчатой трава»:

- в качестве отличительных морфологических признаков полыни метельчатой следует считать окраску стеблей, размер и окраску стеблевых листьев, характер соцветий; анатомических – строение Т-образных волосков и клеток эпидермиса;

- влажность – не более 7%, золы общей – не более 8%, золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты – не более 1%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70% - не менее 19%; содержание эфирного масла – не менее 1%; содержание кислоты хлорогеновой – не менее 0,1%; содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин – не менее 1,5%.

3. Для эфирного масла полыни метельчатой сорта «Таврида» разработаны показатели: внешний вид, растворимость, подлинность, показатель преломления, кислотное число, плотность, угол вращения, содержание примесей (спирта этилового, жирных и минеральных масел, воды). Установленные нормы качества были использованы при разработке проекта Технических условий на эфирное масло полыни метельчатой сорта «Таврида».

4. Разработана и валидирована методика количественного определения методом ВЭЖХ одного из действующих соединений полыни метельчатой травы кислоты хлорогеновой. Предложена норма её содержания в сырье Полыни метельчатой траве – не менее 0,1%.

5. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в Полыни метельчатой траве. Валидность разработанной

методики оценивали по показателям специфичность, линейность, воспроизводимость и правильность. В результате была подтверждена возможность использования разработанной методики для количественного определения суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) в Полыни метельчатой траве методом дифференциальной спектрофотометрии. Определена норма количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 1,5%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненных комплексных фармакогностических исследований был разработан новый вид лекарственного растительного сырья «Полыни метельчатой трава».

Основные результаты экспериментального исследования Полыни метельчатой травы отражены в следующих выводах:

1. Анализ доступной научной литературы по изучению надземной части полыни метельчатой показал, что исследователями, в основном, достаточно хорошо изучено эфирное масло. Вариабельность состава, которого определяется многими факторами, в том числе географическим местом произрастания, фазой роста и развития, экологическими и некоторыми другими факторами. Другие группы биологически активных веществ растения мало изучены. Для дикорастущих популяций полыни метельчатой характерна высокая степень полиморфизма. Для эфирного масла, полиацетиленовых и фенольных соединений из надземной части полыни метельчатой в научной литературе описаны разнообразные биологические и фармакологические эффекты.

2. Проведено фитохимическое изучение полыни метельчатой травы сорта «Таврида», культивируемого в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре РАН. В ходе анализа подтверждено наличие в извлечениях из надземной части фенольных (кумарины, флавоноиды, фенольные кислоты, дубильные вещества) и полиацетиленовых соединений; изучен состав аминокислот. Установлен качественный состав и количественное содержание компонентов эфирного масла. В надземной части полыни метельчатой с помощью хроматографических методов (препаративная ТСХ) и на основании спектральных данных (УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектров) идентифицированы полиацетиленовые соединения: капиллин, капиллен и капиллол; методами ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС идентифицированы флавоноиды – лютеолин 6,8-ди-С-глюкозид; рутин; гиперозид; кемпферол-О-рутинозид и лютеолин; фенольные кислоты – хлорогеновая кислота, 3,5-, 3,4- и 4,5-дикофеилхинные кислоты; кумарины –

скопарон, скополетин, умбеллиферон.

3. Проведено морфолого-анатомическое изучение надземной части полыни метельчатой. В качестве диагностических морфологических признаков Полыни метельчатой травы следует считать окраску стеблей, размер и окраску стеблевых листьев, характер соцветий; анатомических – строение Т-образных волосков и клеток эпидермиса.

4. Установлены показатели и нормы качества на Полыни метельчатой траву: влажность – не более 7%, золы общей – не более 8%, золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты – не более 1%; экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70% – не менее 19%; содержание эфирного масла – не менее 1%; содержание кислоты хлорогеновой – не менее 0,1%; содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин – не менее 1,5%. Разработаны нормы качества на эфирное масло полыни метельчатой сорта «Гаврида».

5. Разработаны и валидированы методики количественного определения кислоты хлорогеновой методом ВЭЖХ и количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в сырье «Полыни метельчатой трава».

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные в результате комплексного фармакогностического исследования данные позволяют рекомендовать полыни метельчатой траву для дальнейшего более глубокого фармакологического изучения. Практическое внедрение результатов проведённого в рамках направления подготовки «Фармация» диссертационного исследования в образовательную и научно-исследовательскую деятельность позволит расширить перспективы дальнейшего изучения и использования нового вида лекарственного растительного сырья – «Полыни метельчатой трава»..

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Как новый вид лекарственного растительного сырья «Полыни метельчатой трава» требует дальнейшего всестороннего и более глубокого изучения. Расширение спектра фармакологических исследований, получение более полных данных о токсичности и побочных действиях извлечений и возможных фармацевтических субстанций на основе этого сырья позволит разработать новые эффективные и безопасные лекарственные средства, обладающие актуальными для современной медицины фармакологическими свойствами. Перспектива изучения одной из основных групп действующих соединений предлагаемого сырья – полиацетиленовых соединений позволит существенно расширить знания и возможности дальнейшего практического применения этого и других видов уже используемого лекарственного растительного сырья.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ТКМ	– традиционная китайская медицина
БАВ	– биологически активные вещества
ТСХ	– тонкослойная хроматография
ГЖХ-МС	– газожидкостная хромато-масс-спектрометрия
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ЭМ	– эфирное масло
НБС-ННЦ РАН	– Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН
НИИ ВИЛАР	– Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений
УФ	– ультрафиолетовый
СО	– стандартный образец
ЛРС	– лекарственное растительное сырьё
ЮБК	– Южный берег Крыма

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адгина, В.В. Антимикробные свойства эфирного масла и его компонентов из *Artemisia scoraria* Waldst. et Kit. / В.В. Адгина, С.А. Вичканова, Б.В. Белякова // Материалы конференции «Фитонциды. Бактериальные болезни растений», Львов, 11-13 сент. 1990 г. – 24 с.
2. Айзенман, Б.Е. Фитонциды и антибиотики высших растений. / Б.Е. Айзенман, В.В. Смирнов, А.С. Бондаренко – Киев, 1984.
3. Айрапетян, Э.Э. Аминокислотный состав травы полыни метельчатой (*Artemisia scoraria* Waldst. et Kit.) / Э.Э. Айрапетян, О.М. Шевчук, Л.А. Логвиненко // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 66, № 2. – С. 122-124.
4. Айрапетян, Э.Э. ГХ/МС анализ CO₂-экстракта на основе надземной части полыни метельчатой / Э.Э. Айрапетян, А.М. Алиев, Д.А. Коновалов // Вестник Южно-Казахстанской медицинской академии. – 2022. – № 4-2(98). – С. 33-37.
5. Айрапетян, Э.Э. Идентификация фенольных соединений в траве полыни метельчатой / Э.Э. Айрапетян, М.В. Ларский, Д.А. Коновалов // Фармация. – 2024. – Т. 73, № 4. – С. 14-17.
6. Айрапетян, Э.Э. Изучение некоторых показателей подлинности и качества эфирного масла полыни метельчатой / Э.Э. Айрапетян // Молодая наука: материалы научно-практической конференции. – Пятигорск, 2016. – С. 6-8.
7. Айрапетян, Э.Э. Изучение эфирного масла и фенольных соединений полыни метельчатой селекции Никитского ботанического сада / Э.Э. Айрапетян, Л.А. Логвиненко, Д.А. Коновалов // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2023. – № 147. – С. 28-36.
8. Айрапетян, Э.Э. Использование ТСХ для количественного определения полиацетиленов в эфирном масле полыни метельчатой / Э.Э. Айрапетян, Т.Д. Мезенова, Д.А. Коновалов // Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез: материалы III Всероссийской конференции». – Краснодар, 2017. – С. 83.

9. Айрапетян, Э.Э. Прогноз противовоспалительной активности основных компонентов полыни метельчатой методами сетевой фармакологии / Э.Э. Айрапетян, Д.С. Золотых, Д.А. Коновалов // Современная наука и инновации. – 2023. – № 3(43). – С. 283-292.
10. Айрапетян, Э.Э. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в полыни метельчатой траве / Э.Э. Айрапетян, В.Н. Леонова, Д.А. Коновалов // Человек и его здоровье. – 2022. – Т. 25, № 2. - С. 105–112.
11. Айрапетян, Э.Э. Разработка показателей и норм качества на лекарственное сырьё *Artemisiae scopariae herba* / Э.Э. Айрапетян, Д.А. Коновалов // Ароматические и лекарственные растения: интродукция, селекция, агротехника, биологически активные вещества, влияние на человека: тезисы международной научно-практической конференции. – Симферополь, 2021. – 32 с.
12. Айрапетян, Э.Э. Фитохимический анализ и стандартизация травы полыни метельчатой / Э.Э. Айрапетян, Д.А. Коновалов // Человек и лекарство: сборник материалов XXV Российского национального конгресса. Тезисы докладов. – М., 2018. – 95 с.
13. Аккумуляция макро- и микроэлементов различными видами полыни / А.В. Молчанова, Л.А. Логвиненко, Н.А. Голубкина, О.М. Шевчук // Биогеохимия. – 2019. – Т. 1. – С. 188-192.
14. Государственная фармакопея Российской Федерации: [Электронный ресурс]. – 14 изд. – Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 11.09.2022).
15. «Дзейцхар Мигчжан» – памятник тибетской медицины / глав. ред. Б.Д.Б. Бадараев. – М.: Наука, 1985. – 90 с.
16. Жигжитжапова, С.В. Компонентный состав эфирного масла полыни метельчатой (*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.), произрастающей в Бурятии и Монголии / С.В. Жигжитжапова, Т.Э. Рандалова, Л.Д. Раднаева // Химия растительного сырья. – 2015. – №1. – С. 69-75.

17. Изменения состава эфирного масла полыни метельчатой (*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.) в разные фенофазы / С.В. Жигжитжапова [и др.] // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. – 2018. – № 2. – С. 159-165.
18. Интродукция и селекция ароматических и лекарственных культур. Методологические и методические аспекты / В.П. Исиков [и др.] – Ялта: НБС–ННЦ, 2009. – 110 с.
19. Козко, А.А. Перспективы и проблемы возрождения лекарственного растениеводства в России / А.А. Козко, А.Н. Цицилин // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. - 2018. - Т. 146, с. 18-24.
20. Коновалов, Д.А. О химическом составе эфирного масла *Artemisia scoparia* / Д.А. Коновалов, О.А. Коновалова, В.А. Челомбитько // Химия природных соединений. – 1992. – №1. – С. 142-143.
21. Коновалов, Д.А. Разработка методов хемотаксономического прогнозирования поиска биологически активных веществ в растениях сем. астровые: автореф. дис. ... д-ра. фармац. наук: 15.00.02 / Д.А. Коновалов – Пятигорск, 2000.
22. Коновалов, Д.А. Фитохимическое изучение полыни метельчатой и тысячелистника обыкновенного и использование их при создании противогрибкового препарата: автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02 / Д.А. Коновалов – Пятигорск, 1991.
23. Логвиненко, Л. А. Особенности развития и компонентного состава эфирного масла *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. в условиях Южного берега Крыма / Л.А. Логвиненко, О.М. Шевчук // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2018. – № 129. – С. 84-92.
24. Логвиненко, Л.А. Итоги интродукции и перспективы использования *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. на Южном берегу Крыма / Л.А. Логвиненко, О.М. Шевчук // Материалы международной научной конференции «Экология и география растений и растительных сообществ», Екатеринбург, 2018 г. – С. 504-509.

25. Малая энциклопедия Забайкалья: Природное наследие / глав. ред. Р. Ф. Гениатулин. – М.: Наука, 2009. – 698 с.
26. Намзалов, Б.Б. Этноботанические исследования: справочник растений бурятской народной медицины / Б.Б. Намзалов, Т.Г. Басхаева – Улан-Удэ, 2008.
27. Национальная технологическая инициатива HealthNet. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.nti2035.ru/markets/healthnet> (дата обращения 03.09.2021).
28. Поляков, П.П. Род *Artemisia* / П.П. Поляков // Флора СССР. – 1961. – Т. 26. – С. 425-631
29. Разработка и валидация методики определения капиллина в эфирном масле полыни метельчатой / Э.Э. Айрапетян [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2020. – Т. 1, № 73. – С. 173-176.
30. Рыбалко, К. С. Природные сесквитерпеновые лактоны / К. С. Рыбалко. – М.: Медицина, 1978. – 320 с.
31. Состав эфирного масла *Artemisia scoraria* Waldst. et Kit. / О.А. Коновалова [и др.] // Растительные ресурсы. – 1989. – Т. 25, № 3. – С. 404-410.
32. Состав эфирного масла полыни метельчатой (*Artemisia scoraria* Waldst. et Kit.), произрастающей в Забайкалье / С.В. Жигжитжапова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2018. – №1. – С. 67–74.
33. Состав эфирного масла полыни метельчатой (*Artemisia scoraria* Waldst. et Kit.), произрастающей в Таджикистане / Ф.С. Шаропов, В.А. Сулаймонова, И.С. Гулмуродов, М.Н. Холмадов // Химия природных соединений. – 2011. – Т. 54, №10. – С. 841-844.
34. Ткачев, А. В. Исследование летучих веществ растений. – Новосибирск: «Офсет», 2008. – 969 с.
35. Химический анализ лекарственных растений / под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич – М.: Высш. шк. 1983. – 176 с.

36. Шалдаева, Т.М. Содержание флавоноидов в некоторых сибирских видах рода *Artemisia* L. – полынь / Т.М. Шалдаева // Теоретические и практические аспекты изучения лекарственных растений – 1996. – С. 19–21.
37. A convenient synthesis of 6-demethoxycapillarisin / Y.F. Tong, S. Chen, Y.H. Cheng, S. Wu // Chin. Chem. Lett. – 2007. – Vol. 18, №4. – P. 407–408.
38. Acetylenes and flavonoids from *Artemisia scoparia* / T. Xie [et al.] // Chinese Journal of Natural Medicines. – 2005. – Vol. 3, № 2. – P. 86–89.
39. Ali, M. Volatile oil constituents of *Artemisia scoparia* leaves / M. Ali, A. Chaudhary, R. Ramachandram // J. Med. Arom. Plant. Sci. – 2000. – Vol. 22. – P. 366–369.
40. Ali, M.S. Structural distinction between sabandins A and B from *Artemisia scoparia* waldst. (Asteraceae) / M.S. Ali, M. Jahangir, M.J.N.P.R. Saleem // Nat. Prod. Res. – 2003. – Vol. 17, №1. – P.1–4.
41. Al-Khathlan, H.Z. Sesquiterpene Lactones from *Artemisia* Species / H.Z. Al-Khathlan, A.A. Mousa, H.M.G. Al-Hazimi // Jour. Chem. Soc. Pak. – 1992. – Vol. 14, № 2. – P. 151–165.
42. Amides and benzenoids from *Zanthoxylum ailanthoides* with inhibitory activity on superoxide generation and elastase release by neutrophils / J.J. Chen, C.Y. Chung, T.L. Hwang, J.F. Chen // Journal of Natural Products. – 2009. – Vol. 72, Is. 1. – P. 107-111.
43. Antihypertensive effects of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. in spontaneously hypertensive rats and identification of angiotensin I converting enzyme inhibitors / J. Y. Cho [et al.] // Molecules. – 2015. – Vol. 20, № 11. – P. 19789–19804.
44. Antiinflammatory activity of coumarins from *Santolina oblongifolia* / A.M. Silván [et al.] // Journal of natural products. – 1996. – Vol. 59, Is. 12. – P. 1183-1185.
45. Anti-inflammatory components of *Chrysanthemum indicum* flowers / B.T.T. Luyen [et al.] // Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2015. – Vol. 25, Is. 2. – P. 266-269.

46. Anti-inflammatory effects of *Artemisia scoparia* and its active constituent, 3, 5-dicaffeoyl-epi-quinic acid against activated mast cells / S.Y. Nam [et al.] // *Immunopharmacology and immunotoxicology*. – 2018. – Vol. 40, № 1. – P. 52-58.
47. Anti-inflammatory flavanones and flavones from *Tephrosia linearis* / R.O. Owor [et al.] // *Journal of natural products*. – 2020. – Vol. 83, Is. 4. – P. 996-1004.
48. *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:180092-1#distribution-map> (дата обращения: 11.09.2022).
49. *Artemisia scoparia*: A review / D. Singh [et al.] // *Pharmacognosy Magazine*. – 2006. – Vol. 2, № 5. – P. 27-30.
50. *Artemisia scoparia*: A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties / Y.D. Boakye [et al.] // *International Journal of Chemical and Biochemical Science*. – 2017. – № 12. – P. 92-97.
51. Artepillin C isoprenomics: design and synthesis of artepillin C isoprene analogues as lipid peroxidation inhibitor having low mitochondrial toxicity / Y. Uto [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 14, № 16. – P. 5721–5728.
52. Benabadii, N. Contribution a ybe etude bioclima – tique de la steppe a *Artemisia herba – alba* Assoc. dans l'Ora – nies (Algerie occidentala) / N. Benabadii, M. Bouazza // *Secheresse*. – 2000. – Vol. 11. – P. 117 – 123.
53. Benzophenone derivatives from the fruits of *Garcinia multiflora* and their anti-inflammatory activity / J.J. Chen, C.W. Ting, T.L. Hwang, I.S. Chen // *Journal of natural products*. – 2009. – Vol. 72, Is. 2. – P. 253-258.
54. Bioactive compounds and health benefits of *Artemisia* species / M. Nigam [et al.] // *Natural Product Communications*. – 2019. – Vol. 14, №7. – P. 1934578X19850354.
55. Carvalho, I.S. Fatty acids profile of selected *Artemisia* spp. plants / I.S. Carvalho, M.C. Teixeira, M. Brodelius // *Health promotion, LWT. Food Science and Technology*. – 2011. – Vol. 44. – P. 293 –298.
56. Chandrasekharan, I. Flavonoids from *Artemisia scoparia* / I. Chandrasekharan, H. Khan, A. Ghanim // *Planta Med.* – 1981. – Vol. 43, № 11. – P. 310-311.

57. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from three *Artemisia* species against *Alternaria solani* / X. Huang [et al.] // *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. – 2020. – Vol. 22, № 6. – P. 1581–1592.
58. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia scoparia* and *A. capillaries* / J.D. Cha [et al.] // *Planta Med.* – 2005. – Vol. 71. – P. 186–190.
59. Chemical constituents from *Artemisia scoparia* / Q. Luo [et al.] // *J. Shenyang Pharm. Univ.* – 2006. – Vol. 23, № 8. – P. 492–494.
60. Chemical constituents from the aerial parts of *Agastache rugosa* and their inhibitory activities on prostaglandin E2 production in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 macrophages / Y.H. Seo [et al.] // *Journal of natural products*. – 2019. – Vol. 82, Is. 12. – P. 3379-3385.
61. Chemical study on *Artemisia scoparia* / T. Xie J. [et al.] // *China Pharm. Univ.* – 2004. – Vol. 35, № 5. – P. 401–403.
62. Chen, J.J. Neolignans, a coumarinolignan, lignan derivatives, and a chromene: anti-inflammatory constituents from *Zanthoxylum avicennae* / J.J. Chen, T.Y. Wang, T.L. Hwang // *Journal of natural products*. – 2008. – Vol. 71, Is. 2. – P. 212-217.
63. Chen, X.T. Clinical Study of Qingre Lishi Forfula in Treating Chronic Hepatitis B / X.T. Chen // *Zhongguo Zhongyao Zazhi*. – 2011. – Vol. 26. – P. 207-208.
64. Chen, Y. Clinical Analysis of Yinzhihuang Injection and Bifid-Triple Viable Capsule Combine with Light Therapy Treating for Neonatal Jaundice / Y. Chen, Y.N. Zheng // *Shiyong Erke Linchuang Zazhi*. – 2012. – Vol.15. – P. 2480-2483.
65. Cirsimaritin inhibits influenza A virus replication by downregulating the NF- κ B signal transduction pathway / H. Yan [et al.] // *Virology J.* – 2018. – Vol. 15, № 1. – P. 1-9.
66. Clifford, M.N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS(n) / M.N. Clifford, S. Knight, N. Kuhnert // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – Vol. 53. – P. 3821–3832.

67. Constituents of Turkish artemisia scoparia / B. Cubukcu, A.H. Mericli, N. Guner, N. Ozhatay // *Fitoterapia*. – 1990. – Vol. 61, № 4. – P. 377–378.
68. Determination and pharmacokinetics of 6,7-dimethoxycoumarin in rat plasma after intragastric administration of different decoctions of yinchenhao tang / Z.G. Yu [et al.] // *J. Chromatogr Sci.* – 2007. – Vol. 45. – P. 544-548.
69. Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Realgar-Indigo naturalis as an effective treatment for promyelocytic leukemia. / L. Wang [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2008. – Vol. 105, № 12. – P. 4826-4831.
70. Effect of the herbal medicine Inchin-Ko-To for serum bilirubin in hepatectomized patients / T. Kaiho [et al.] // *Hepatogastroenterology*. – 2008. – Vol. 55. – P. 150-154.
71. Effects of the total flavone of Artemisia scoparia on influenza A virus in vivo and in vitro / Y. Hua [et al.] // *Northwest Pharmaceutical Journal*. – 2018. – Vol. 33, № 2. – P. 193–196.
72. Enhanced therapeutic effect of Yinchenhao decoction supplemented to plasma exchange in the treatment of severe chronic hepatitis B patients / J.L. Cao, C.M. Wu, X.Q. Zhu, Y.Q. Ou // *Zhongguo Bingduxue Zazhi*. – 2012. – Vol. 2. – P. 142-144.
73. Essential oils of some Artemisia species from central Asia / K. H. Basher [et al.] // *Chemistry of Natural Compounds*. – 1997. – Vol. 33. – P. 293–295.
74. Fang, Y. Pharmacokinetics of a novel anti-asthmatic, scoparone, in the rabbit serum assessed by a simple HPLC method / Y. Fang, Z. Li, Y. Watanabe // *Journal of ethnopharmacology*. – 2003. – Vol. 86, № 1. – P. 127-130.
75. Feng, J. Clinical research of Traditional Chinese Medicine Combine with Duodenoscopy Treating for Choledocholithiasis / J. Feng, D. Kong // *Shizhen Guoyi Guoyao*. – 2011. – Vol. 22. – P. 1533-1534.
76. Gan, L.M. Clinical Observation of Modified Yin-Chen-Hao Decoction combine with Transmetil Treating for hyperbilirubinemia induced by viral hepatitis / L.M. Gan, P. Li // *XinZhong Yi*. – 2009. – Vol. 41. – P. 20-21.

77. Gao, X.C. Clinical Observation of Yinzhihuang Injection Treating for Pathological Jaundice of Newborn / X.C. Gao, J.H. Shen, Yh.Y.H. Ni // *Zhongguo Yaofang*. – 2011. – Vol. 22. – P. 1872-1873.
78. Gilani, A.H. Hepatoprotective effects of artemisia scoparia against carbon tetrachloride: an environmental contaminant / A.H. Gilani, K.H. Janbaz // *J. Pakistan Med. Assoc.* – 1994. – Vol. 44, № 3. – P. 65–68.
79. Habib, M. Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities of Artemisia scoparia hydromethanolic extract / M. Habib, I. Waheed // *J. Ethnopharmacol.* – 2013. – Vol. 145, №1. – P. 18–24.
80. He, C. Toxicology studies of compound xiongdan Yinchen granules / C. He // *World Latest Medicine Information*. – 2018. – Vol. 18, № 92. – 182 p.
81. Herbological study on Yin-chen / J. Xie [et al.] // *Chin. Med. Mater.* – 1988. – Vol. 11, №2. – P. 51-53.
82. Hu, R. Studies on the cholagogic constituents of Artemisia scoparia I. the water soluble part of the extract / R. Hu, B. Li, M. Chen // *Acta Pharm. Sin.* – 1965. – №5.
83. Huh, K. Effect of scoparone on the hepatic microsomal UDP glucuronyltransferase activity in mice / K. Huh, S.I. Lee, J.M. Park // *Archives of Pharm. Res.* – 1987. – Vol. 10, № 3. – P. 165–168.
84. Identification and structure activity relationship of novel flavone derivatives that inhibit the production of nitric oxide and PGE2 in LPS-induced RAW 264.7 cells / J.Y. An [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2017. – Vol. 27, Is. 11. – P. 2613-2616.
85. In vitro screening of essential oil from young and mature leaves of Artemisia scoparia compared to its major constituents for free radical scavenging activity / H. P. Singh [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2010. – Vol. 48, № 4. – P.1040–1044.
86. Inhibitory effect of chemical constituents from Artemisia scoparia Waldst. et Kit. on triglyceride accumulation in 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW 264.7 cells / T. Yahagi, N. Yakura, K. Matsuzaki, S. Kitanaka // *J. Nat. Med.* – 2014. – Vol. 68, №2. – P. 414–420.

87. Inhibitory effect of macabarlerin, a polyoxygenated ellagitannin from *Macaranga barteri*, on human neutrophil respiratory burst activity / R.M. Ngoumfo [et al.] // *Journal of natural products*. – 2008. – Vol. 71, Is. 11. – P. 1906-1910.
88. Inhibitory effect of scoparone on inflammatory mediator in asthmatic Guinea pig model / L.Z. Fan Ying, Tian-yan Chi, Jin-sheng Zhao, Y.U. Xiu-hua // *J. China Med. Univ.* – 2006. – Vol. 35, № 2. – P. 132–133.
89. Inhibitory effect of the alkyl side chain of caffeic acid analogues on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophages / K. Uwai [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 16, № 16. – P. 7795–7803.
90. Janbaz, K.H. Protective effect of rutin on paracetamol and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents / K.H. Janbaz, S.A. Saeed, A.H. Gilani // *Fitoterapia*. – 2002. – Vol. 73, № 7–8. – P. 557–563.
91. Jin, H. Lidan Xiaohuang Decoction and Acupuncture Treatment of Obstructive Jaundice Postoperative Persistent Jaundice of 35 cases / H. Jin, Y.F. Zhao, X.H. Dai // *Shiyong Zhongyi Neike Zazhi*. – 2011. – Vol. 25. – P. 52-53.
92. Jin, Z. A pharmacodynamic study of Xiongdan-yinchen oral liquid / Z. Jin, C. Li // *China Science and Technology Information*. – 2005. – Vol. 1. – P. 110–111.
93. Khodakov, G.V. Component composition of essential oil from *Artemisia annua* and *A. scoparia* / G.V. Khodakov, I.V. Kotikov // *Chem. Nat. Compd.* – 2009. – Vol. 45, №6. – P. 909–912.
94. Kiso, Y. Antihepatotoxic principles of *Artemisia capillaris* buds / Y. Kiso, S. Ogasawara, K. Hirota // *Planta Med.* – 1980. – Vol. 50, № 1. – P. 81–85.
95. Komiya, T. Studies on “Inchinko”. II. Studies on the compounds related to capillarisin and flavonoids (author’s transl) / T. Komiya, Y. Naruse, H. Oshio // *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. – 1976. – Vol. 96, № 7. – P. 855–862.
96. Li, L. The contents of three active components in Yin Chen were determined simultaneously by RP-HPLC / L. Li, Y. Sun, B. Wang // *Chin. J. Exp. Formulae*. – 2013. – Vol. 19, № 05. – P. 136–138.

97. Li, S.Z. Tarragon Decoction Treat Jaundice Virus Hepatitis / S.Z. Li, F.M. Xu, S.B. Li // *Zhejiang Zhongyiyao Daxue Xuebao.* – 2012. – Vol. 36. – P. 267-269.
98. Li, X. Modified Yinchenhao Decoction in the treatment of 30 cases of neonatal hyperbilirubinemia / X. Li, J.L. Zhu // *Zhongguo Erke Xuebao.* – 2013. – Vol. 9. – P. 42-43.
99. McLachlan, D. Structure-function relationships in the phototoxicity of acetylenes from the Asteraceae / D. McLachlan, T. Arnason, J. Lam // *Biochemical systematics and ecology.* – 1986. – Vol. 14, №1. – P. 17-23.
100. Mechanisms of artemisia scoparia's anti-inflammatory activity in cultured adipocytes, macrophages, and pancreatic β -cells / A. Boudreau [et al.] // *Obesity.* – 2020. – Vol. 28, № 9. – P. 1726-1735.
101. Moulaie, S. Antibacterial and anticancer activities of silver nanoparticles fabricated by the Artemisia scoparia extract against lung cancer cell line (A549) / S. Moulaie, A. Mirzaie, E. Aliasgari // *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences.* – 2018. – Vol. 22, № 5. – P. 487-496.
102. Mu, Y. P. Evolution and Modern Research of Yinchenhao Decoction / Y. P. Mu, P. Liu, L. Wang // *Zhongguo Shiyan Fangjixue.* – 2006. – Vol. 12. – P. 67-71.
103. Negahban, M. Chemical Composition and Insecticidal Activity of Artemisia scoparia Essential Oil against Three Coleopteran Stored-Product Insects / M. Negahban, S. Moharramipour, F. Sefidkon // *J. Asia-Pacific Entomology.* – 2006. – Vol. 9, № 4. – P. 381-388.
104. Nesmelova, E.F. Lactones of artemisia scoparia / E.F. Nesmelova, G.P. Sidyakin // *J. Chemistry of Natural Compounds.* – 1971. – Vol. 7, № 3. – P. 355-355.
105. New phenylpropenoids, bis (1-phenylethyl) phenols, bisquinolinone alkaloid, and anti-inflammatory constituents from Zanthoxylum integrifoliolum / J.J. Chen [et al.] // *Journal of natural products.* – 2007. – Vol. 70, Is. 9. – P. 1444-1448.
106. Parihar, D.B. Chemical examination of Artemisia scoparia Waldst and Kit. Isolation of an essential oil and lactone / D.B. Parihar, S. Dutt // *Proc. Indian Acad. Sci.* – 1947. – Vol. 25, № 2. – P. 153–158.

107. Pen, H. Observation of curative effect of yinzhihuang injection for Infantile infantile hepatitis syndrome / H. Pen, G.Q. Dong, Y.H. Ni // J. Zhongyaocai. – 2003. – Vol. 26. – P. 534-535.
108. Pharmacopoeia of the People's Republic of China – Vol. I. – English Edition, 2005.
109. Phthalides from *Pittosporum illicioides* var. *illicioides* with inhibitory activity on superoxide generation and elastase release by neutrophils / T.H. Chou [et al.] // Journal of natural products. – 2008. – Vol. 71, Is. 10. – P. 1692-1695.
110. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide / Sh. Kaur [et al.] // Industrial Crops and Products. – 2010. – Vol. 32. – P. 54–61.
111. Pozdnyakov, D.I. The study of the anti-inflammatory activity of a stomatological gel based on an extract of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. / D.I. Pozdnyakov, E.E. Ayrapetyan, D.A Konovalov // Journal of Research in Pharmacy. – 2022. – Vol. 26, № 1. – P. 189-197.
112. Prenylated coumarates from *Artemisia xanthochroa* / J. Jakupovic [et al.] // Phytochemistry. – 1990. – Vol. 29, № 11. – P. 3683–3685.
113. Production of choleric substances in the capitulum, leaf and stem of *Artemisia capillaris* during the plant growth cycle / T. Ikenaga, M. Hizako, M. Tajima, K. Nakashima // Biol. Pharm. Bull. – 1994. – Vol. 17, №1. – P. 150–151.
114. Protective effects of coumarin and coumarin derivatives against carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats / H. Murat Bilgin [et al.] // Exp. Toxicol. Pathol. – 2011. – Vol. 63, №4. – P. 325–330.
115. Quantification of scoparone in wormwood grass using thin-layer chromatography / E.E. Ayrapetyan, T.D. Mezenova, I.D. Konovalova, D.A.Konovalov // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – Vol.867. – P. 012169.
116. Ranjbar, M. Chemical composition of the essential oils of *Artemisia* species from Iran: a comparative study using multivariate statistical analysis / M. Ranjbar, M. R. Naghavi, H. Alizadeh // Journal of Essential Oil Research. – 2020. – Vol. 32, № 4. – P. 361-371.

117. Rational daily administration times of yinchenhao decoction in rats with jaundice based on PD/PK / L.V. Jun-lan [et al.] // *Chinese Herbal Medicines*. – 2012. – Vol. 4, № 2. – P. 150-156.
118. Recent progress in the study of *Artemisiae Scopariae Herba* (Yin Chen), a promising medicinal herb for liver diseases / Y. Cai [et al.] // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. – 2020. – Vol. 130. – P. 110513.
119. Sang, Y. 32 cases of Modified Yin-Chen-Hao Decoction Treating for Children Bronchial Asthma / Y. Sang, P. Zhang // *Zhongyi Zazhi*. – 2012. – Vol. 53. – P. 876-877.
120. Scoparone improves hepatic inflammation and autophagy in mice with nonalcoholic steatohepatitis by regulating the ROS/P38/Nrf2 axis and PI3K/AKT/mTOR pathway in macrophages / B. Liu [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2020. – Vol. 125. – 109895 p.
121. Scopoletin suppresses IL-6 production from fibroblast-like synoviocytes of adjuvant arthritis rats induced by IL-1beta stimulation / Y. Dou [et al.] // *Int. Immunopharm.* – 2013. – Vol. 17, № 4. – P. 1037–1043.
122. Scopoletin suppresses pro-inflammatory cytokines and PGE2 from LPS-stimulated cell line, RAW 264.7 cells/ H.J. Kim [et al.] // *Fitoterapia*. – 2004. – Vol. 75, № 3–4. – P. 261–266.
123. Sesquiterpene lactones and scopoletins from *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. and their angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities / J.Y. Cho [et al.] // *Food Sci Biotechnol.* – 2016. – Vol. 25, № 6. – P. 1701–1708.
124. Severe acute cholestatic hepatitis of unknown etiology successfully treated with the Chinese herbal medicine Inchinko-to (TJ-135) / S. Ohwada [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15. – P. 2927-2929.
125. Simultaneous determination of 13 bioactive compounds in *Herba Artemisiae Scopariae* (Yin Chen) from different harvest seasons by HPLC-DAD / X. J. Tan [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2008. – Vol. 47, № 4–5. – P. 847–853.

126. Simultaneous determination of chlorogenic acid, hyperoside, 3, 5-dicaffeoylquinic acid, 4, 5-dicaffeoylquinic acid in *Artemisia Scopariae Herba* by HPLC/ S. Yan [et al.] // *J. Shenyang Pharm. Univ.* – 2014. – Vol. 31, № 1. – P. 45–50.
127. Stalin, T. A study on the spectroscopy and photophysics of 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid in different solvents, pH and β -cyclodextrin / T. Stalin, N. Rajendiran // *J. Mol. Struct.* – 2006. – Vol. 794, № 1. – P. 35–45.
128. Studies on Chemical Constituents from *Artemisia Scoparia Waldst et Kit.* / L. Wang [et al.] // *Chin. J. Ethnomed. Ethnopharmacy.* – 2017. – Vol. 26, № 14. – P. 15–16.
129. Studies on chemical constituents in bud of *Artemisia scoparia* (III) / S. Lin [et al.] // *Chinese Journal of Chinese Materia Medica.* – 2004. – Vol. 29, № 5. – P. 429–431.
130. Studies on chemical constituents in buds of *Artemisia scoparia* / Q. Zhang [et al.] // *China J. Chin. Mater. Med.* – 2002. – Vol. 27, № 3. – P. 202–203.
131. Studies on chemical constituents of *Artemisia scoparia* / T. Xie [et al.] // *China J. Chin. Mater. Med.* – 2005. – Vol. 30, № 17. – P. 1390–1391.
132. Sun, J.G. Effect of Modified Yinchenhao Decoction Medicated by Retention Enema on Endotoxin and Blood Ammonia of Chronic Severe Hepatitis Patients / J.G. Sun // *Sichuan Zhongyiyao Zazhi.* – 2013. – Vol. 31. – P. 75-77.
133. Synthesis of a novel series of diphenolic chromone derivatives as inhibitors of NO production in LPS-activated RAW264. 7 macrophages / G.B. Liu [et al.] // *Bioorganic & medicinal chemistry.* – 2010. – Vol. 18, Is. 8. – P. 2864-2871.
134. Terpenoids isolated from Chinese liverworts *Lepidozia reptans* and their anti-inflammatory activity / S. Li [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* – 2018. – Vol. 26, Is. 9. – P. 2392-2400.
135. Thakur, B.S. Scoparone: isolation from *Artemisia scoparia* Waldst & Kit and synthesis / B.S. Thakur, M.P. Jain, P.R. Rao // *Research and industry.* – 1975. – Vol. 20. – P. 129–131.

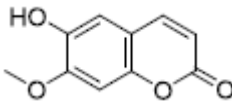
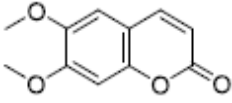
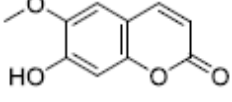
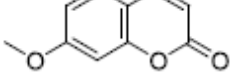
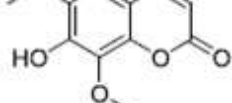
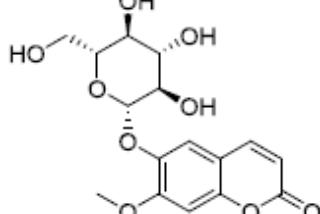
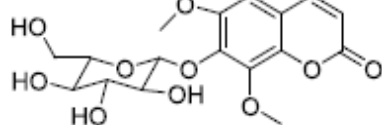
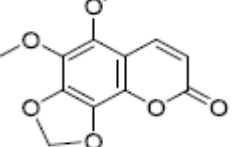
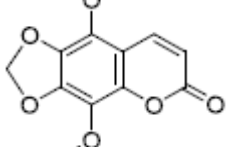
136. The Adjuvant Therapeutic Effect of Yinzhihuang Injection Before or After Biliary Atresia Surgery in Children / L. Huang, J.X. Feng, M.F. Wei, M.J. Li // *Shiyong Erke Linchuang Zazhi*. – 2007. – Vol. 11. – P. 811-812.
137. The Artemisia Genus: A Review on Traditional Uses, Phytochemical Constituents, Pharmacological Properties and Germplasm Conservation / B. Koul [et al.] // *J. Glycomics Lipidomics*. – 2018. – Vol. 7. – P. 1-7. doi: 10.4172/2153-0637.1000142.
138. The content determination of effective components of flavonoids in different harvest period of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit / M. Wang [et al.] // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 2007. – Vol. 23. – P. 2547–2548.
139. Therapeutic Effect of Modified Compound Yinchen Recipe for Chronic Severe Hepatitis / X.Y. Ai [et al.] // *Guangzhou Zhongyiyao Daxue Xuebao*. – 2013. – Vol. 30. – P. 145-148.
140. Therapeutic mechanism of Yīn-Chén-Hāo decoction in hepatic diseases / J.Y. Li [et al.] // *World J Gastroenterol*. – 2017. – Vol. 23, №7. – P. 1125-1138.
141. Three new anti-HBVactive constituents from the traditional Chinese herb of Yin-Chen (*Artemisia scoparia*) / C.A Geng [et al.] // *J. Ethnopharmacol*. – 2015. – Vol. 176. – P. 109-117.
142. Three new decenynol glucosides from *Artemisia scoparia* (Asteraceae) / J. Y. Cho [et al.] // *Journal of Asian natural products research*. – 2020. – Vol. 22, № 9. – P. 795-802.
143. Tian, M. Separation of four bioactive compounds from *herba artemisiae scopariae* by HPLC with ionic liquid-based silica column / M. Tian, K. Row // *J. Anal. Chem*. – 2011. – Vol. 66. – P. 580–585.
144. Triterpenoids and flavonoids from celery (*Apium graveolens*) / K. Zhou [et al.] // *Journal of natural products*. – 2009. – Vol. 72, Is. 9. – P. 1563-1567.
145. Xie, T. Research progress of *artemisia scoparia* and *Artemisia capillaris* on chemical constituents and pharmacological effect / T. Xie, J. Liang, J. Liu // *Strait Pharmaceutical Journal*. – 2004. – Vol. 16, № 1. – P. 8–13.

146. Xu, B.H. 81 cases of Modified Yin-Chen-Hao Decoction Treating for Maternal-fetal ABO Incompatibility / B.H. Xu, M.Q. Li // *Zhongyi Zazhi*. – 2011. – P. 1418-1419.
147. Yang, F.R. Clinical Observation for 68 cases of Modified Yin-Chen-Hao Decoction combine with conventional western treatment Treating treating for pathological jaundice of newborn / F.R. Yang // *Zhongguo Shiyan Fangjixue*. – 2011. – Vol. 17. – P. 260-261.
148. Yang, Y.F. Therapeutic Effect of Yinchenhao Decoction for Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy: An Analysis of 30 Cases / Y.F. Yang, X.D. Diao, Y.Z. Zhao // *Xin Zhong Yi*. – 2013. – Vol. 45. – P. 71-74.
149. Yao, X. Simultaneous determination of p-hydroxyacetophenone, chlorogenic acid, and caffeic acid in *Herba Artemisiae Scopariae* by capillary electrophoresis with electrochemical detection / X. Yao, G. Chen // *Anal. Bioanal. Chem*. – 2007. – Vol. 388, №2. – P. 475–481.
150. Yi, X.D. Clinical Observation of Modified Yin-Chen-Hao Decoction combined with Plasma exchange Treating treating for Hepatitis B merger hyperbilirubinemia / X.D. Yi, Y.W. Luo // *Shandong Yiyao*. – 2011. – Vol. 51. – P. 63-64.
151. Yin-Chen-Hao-Tang alleviates biliary obstructive cirrhosis in rats by inhibiting biliary epithelial cell proliferation and activation / B. Wang [et al.] // *Pharmacognosy Magazine*. – 2015. – Vol. 11, № 42. – P. 417–425.
152. Zhang, C.Y. Clinical Observation for 31 Cases of Modified Yin-Chen-Hao Decoction Combine with Traditional Chinese Medicine Face Pack Treating for Acne with Gastrointestinal Dampness-Heat / C.Y. Zhang, Z. Gao // *Xin Zhong Yi*. – 2011. – Vol. 43. – P. 62-63.
153. Zhang, D. Studies on chemical constituents on *artemisia scoparia* / D. Zhang, R. Wang // *ACAD J. GCP*. – 1997. – Vol. 13, №3. – P. 144–145.
154. Zhang, H.Y. Clinical Observation of Integrated Chinese and Western Medicine Sequential Therapy for Treatment of Hp-positive Acne Rosacea / H.Y. Zhang, L. Chen, C. Yu // *Xin Zhong Yi*. – 2013. – Vol. 45. – P. 81-83.

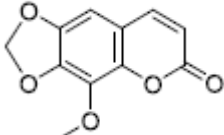
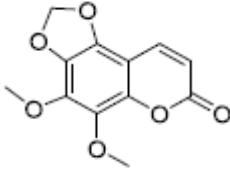
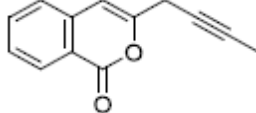
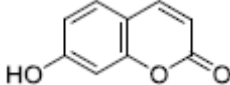
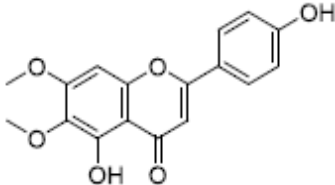
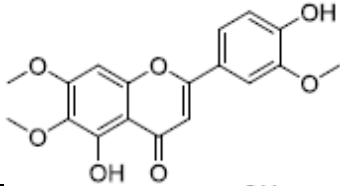
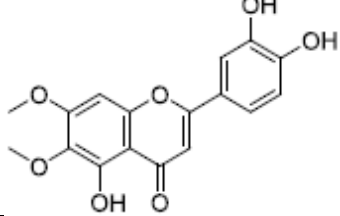
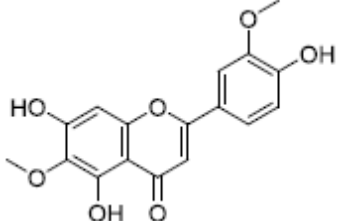
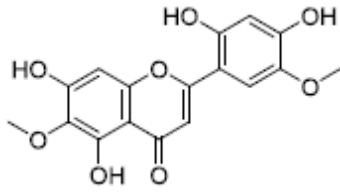
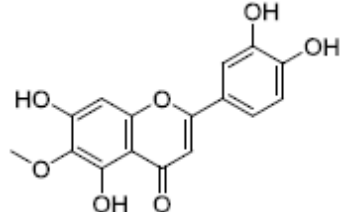
155. Zhang, Y. Effect of Traditional Chinese Medicine Treatment on Neonatal Jaundice induced by Maternal- Fetal ABO Blood Group Incompatibility / Y. Zhang, D. Song // *Zhonghua Zhongyiyao Xuekan.* – 2013. – Vol. 31. – P. 1713-1715.
156. Zhang, Y. X. Determination of cirsilineol in inflorescence of *Artemisia scoparia* collected at different times in autumn / Y.X. Zhang, Q. W. Zhang, Y. Zhang // *Chinese pharmaceutical journal.* – 2002. – Vol. 37, № 9. – P. 699-701.
157. Zheng, Y.J. Clinical efficacy of ursodeoxycholic acid combined with modified *Artemisiae Scopariae* decoction for treating 30 cases of primary biliary cirrhosis / Y.J. Zheng, H.H. Tang, J.S. He // *Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi.* – 2012. – Vol. 22. – P. 89-91.
158. Zhigzhitzhapova, S.V. Composition of essential oil of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. from Buryatia and Mongolia / S.V. Zhigzhitzhapova, T. E. Randalova, L.D. Radnaeva // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2017. – Vol. 42, №7. – P. 730–734.
159. Zhou, Z. Phenolic and iridoid glycosides from the rhizomes of *Cyperus rotundus* L. / Z. Zhou, H. Zhang // *MedicinalChemistryResearch.* – 2013. – Vol. 22, Is. 10. – P. 4830-4835.

Приложение А. Данные о вторичных метаболитах, идентифицированных в надземной части полыни метельчатой

Таблица А.1 – Вторичные метаболиты, идентифицированные в надземной части полыни метельчатой

№	Соединения	Структурная формула	Часть/орган растений
Кумарины			
1	7-метилэскулетин		соцветия; надземная часть
2	скопарон		соцветие; надземная часть
3	скополетин		соцветие; надземная часть
4	7-метоксикумарин		надземная часть
5	изофраксидин		надземная часть
6	изоскополетин-β-D-глюкозид (магнолиозид)		надземная часть; бутоны
7	изофраксидин 7-O-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
8	изосабандин		надземная часть
9	5,8 – диметокси-6,7-метилендиоксикумарин (артемикапин А)		надземная часть

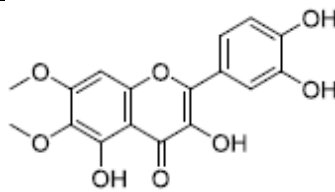
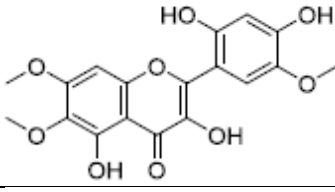
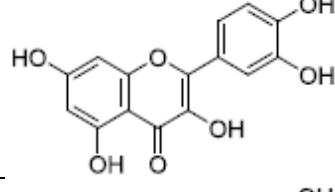
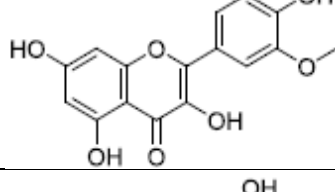
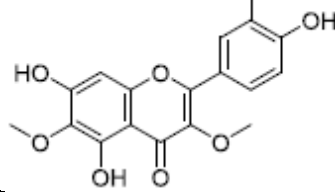
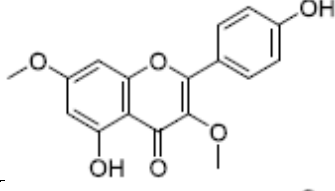
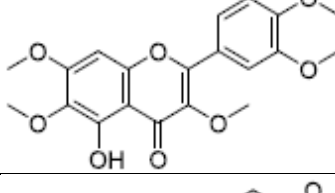
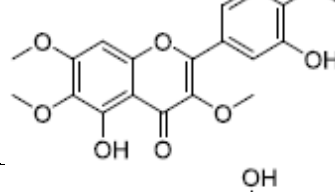
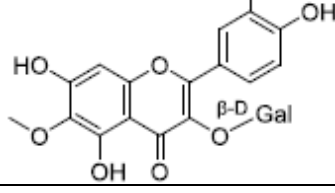
Продолжение Таблицы А.1

10	8-метокси – 6,7-метиленидиокси кумарин		надземная часть
11	сабандин В		надземная часть
12	капиллярин		соцветия
13	умбеллиферон		надземная часть
Флавоноиды			
14	цирсимаритин (5,4' – дигидрокси-6,7-диметоксифлавонон)		Соцветия и листья
15	цирсилинеол		Бутоны и листья; надземная часть
16	цирсилиол		Бутоны и листья; надземная часть
17	яцеосидин		надземная часть
18	5,7,2',4' – тетрагидрокси-6,5'-диметоксифлавонон		надземная часть; бутоны
19	эупафолин		бутоны

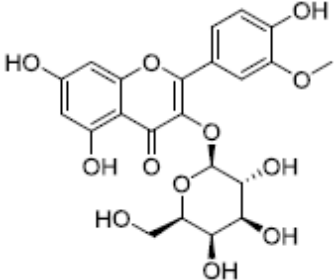
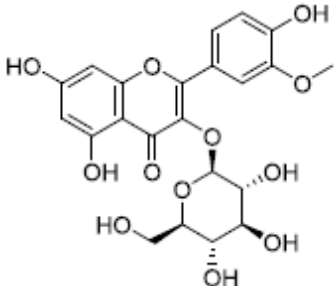
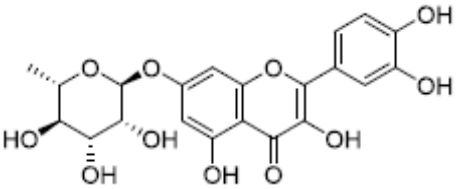
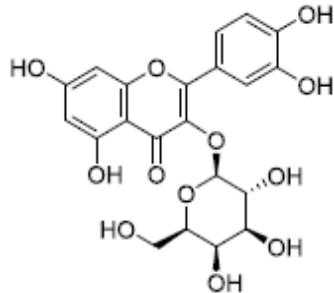
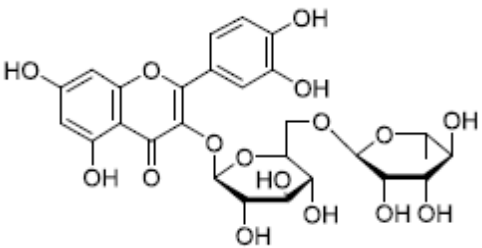
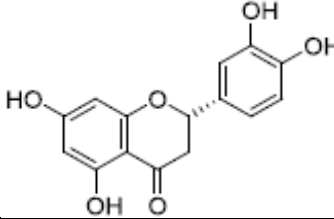
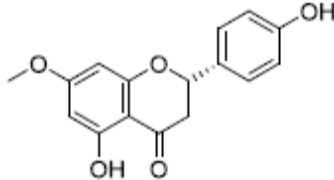
Продолжение Таблицы А.1

20	педалитин		бутоны
21	хризоериол		бутоны и листья
22	лютеолин		надземная часть
23	4'- гидроксивогонин		надземная часть
24	хризоериол -7-О-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
25	скопарин		соцветия и семена
26	рамноцитрин (3,5,4'-тригидрокси-7-метоксифлавонон)		соцветия
27	эупалитин (3,5,4-тригидрокси-6,7-диметоксифлавонон)		соцветия

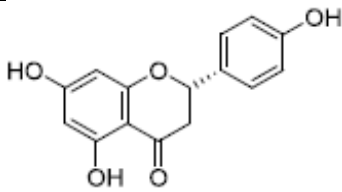
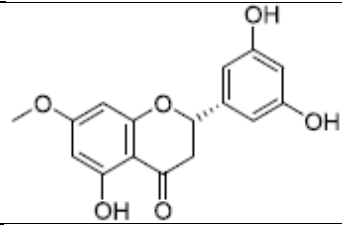
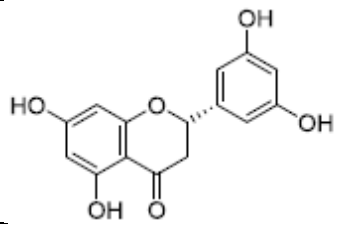
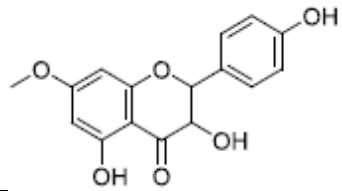
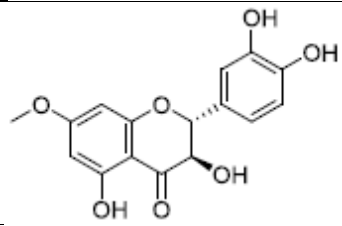
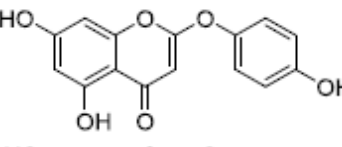
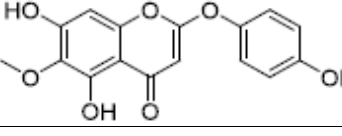
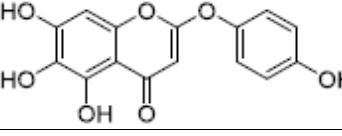
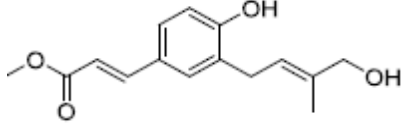
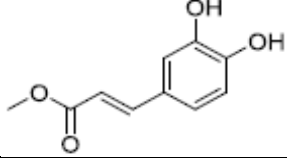
Продолжение Таблицы А.1

28	эупатолитин (3,5,3',4' – тетрагидрокси-6,7-диметоксифлавонон)		соцветия
29	аркапиллин		бутоны и листья; надземная часть
30	кверцетин		надземная часть
31	изорамнетин		надземная часть
32	аксиллярин		надземная часть
33	куматакенин		бутоны
34	артеметин		надземная часть
35	кастицин		надземная часть
36	гиперин		надземная часть; бутоны

Продолжение Таблицы А.1

37	кактицин		надземная часть
38	изорамнетин-3-О-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
39	кверцетин-7-О-α-L-рамнопиранозид		надземная часть
40	кверцетин-3-О-β-D-глюкозид		надземная часть
41	рутин		надземная часть
42	эриодиктиол		надземная часть
43	сакуранетин		надземная часть

Продолжение Таблицы А.1

44	нарингенин		надземная часть
45	блюмеатин		надземная часть
46	3',5,5',7-тетрагидроксифлаванон		надземная часть
47	7-метиларомадендрин (3,5,4-тригидрокси-7-метоксифлаванон)		соцветия
48	7-метокситаксифолин		надземная часть
49	6-деметоксикапилляризин		надземная часть
50	капилляризин		надземная часть
51	6-деметилкапилляризин		бутоны
Фенольные кислоты			
52	метил-3-[4'-гидроксипренил]кумарат		надземная часть
53	метил 1-(3',4'-дигидроксифенил)пропеноат		надземная часть

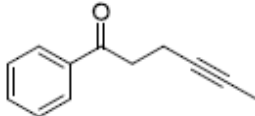

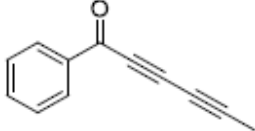
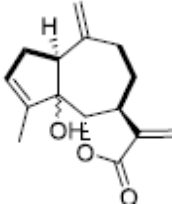
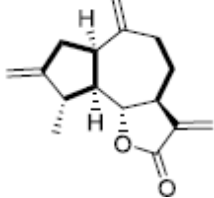
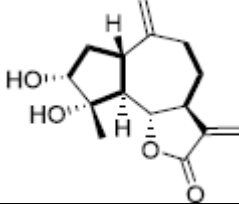
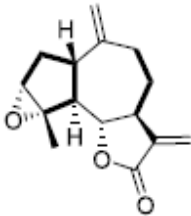
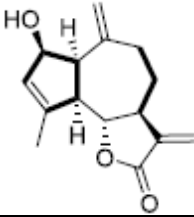
Продолжение Таблицы А.1

54	скопарияхроман		надземная часть
55	друпанин		надземная часть
56	3,4-дигидрокси-5-метоксикоричная кислота		надземная часть
57	кофейная кислота		надземная часть
58	капиллятемизин В		бутоны
59	бутиловый эфир хлорогеновой кислоты		надземная часть
60	4,5-ди-О-дикофеилхинная кислота (изохлорогеновая кислота С)		надземная часть
61	3,4-ди-О-дикофеилхинная кислота (изохлорогеновая кислота В)		надземная часть
62	3,5-ди-О-дикофеилхинная кислота		надземная часть

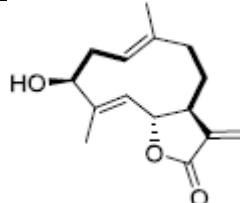
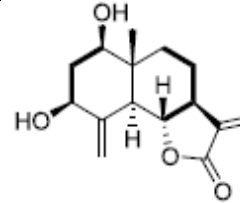
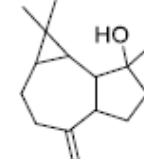
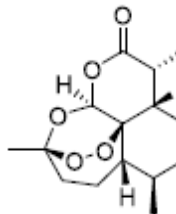
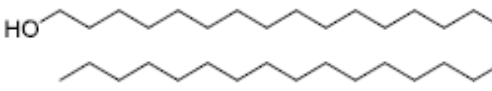
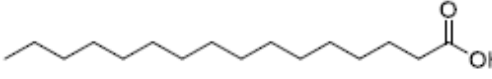
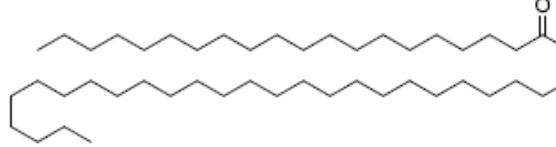
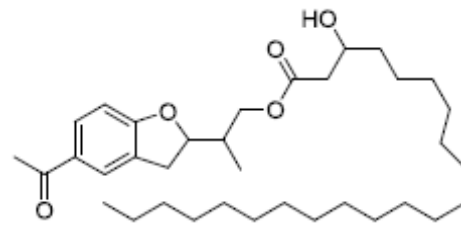
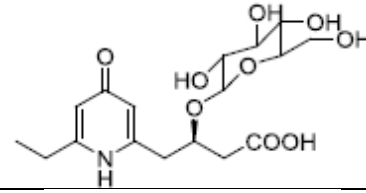
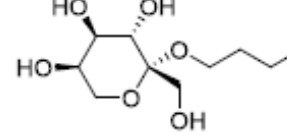
Продолжение Таблицы А.1

63	хлорогеновая кислота		надземная часть
64	ванилиновая кислота		надземная часть
65	2,4-дигидрокси-6-метокси-ацетофенон		надземная часть
66	салициловая кислота		надземная часть
67	3,4-дигидроксибейзойная кислота		надземная часть
68	4'-β-O-β-D-глюкопираноил (E)-4-гидрокси-3-метилбут-2-енилбензоат		надземная часть
Полицетилены			
69	3S, 8S-дигидроксидек-9-ен-4,6-ин 1-O-(6'-О-кофеил)-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
70	3S, 8S-дигидроксидек-9-ен-4,6-ин 1-O-(2'-О-кофеил)-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
71	6E,8Z-декадиен-4-ин-ол 1-O-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
72	6E,8E-декадиен-4-ин-ол 1-O-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
73	6E-децен-4-ин-ол 1-O-β-D-глюкопиранозид		надземная часть

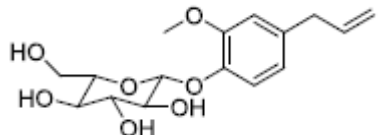
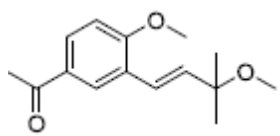
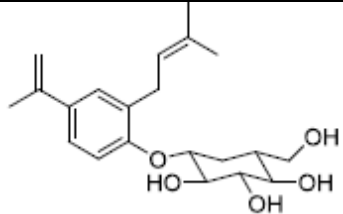
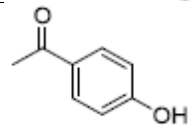
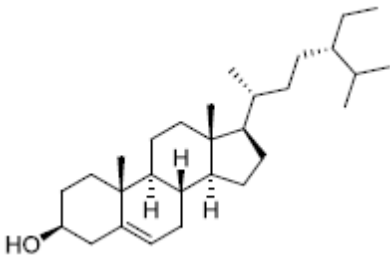
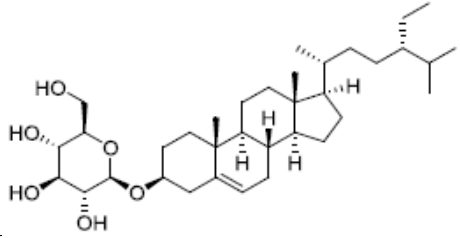
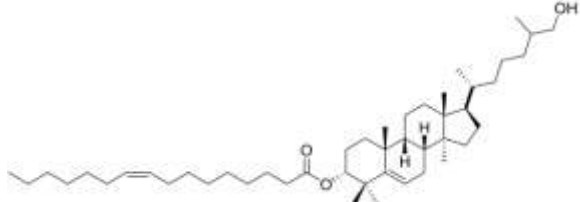
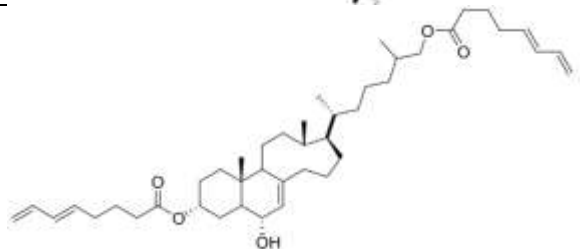
Продолжение Таблицы А.1

74	капиллон		надземная часть
75	капиллен		надземная часть
76	капиллин		надземная часть
77	капиллол		
Сесквитерпены			
78	скопаранолид (5-гидроксигвая-3(4), 11(13), 10(14)-триен-6 α , 12-олид		надземная часть
79	эстафиатон		надземная часть
80	3 β ,4 α -дигидроксигвая-11(13),10(14)-триен-6 α ,12-олид		надземная часть
81	эстафиатин		надземная часть
82	преупатундин		надземная часть

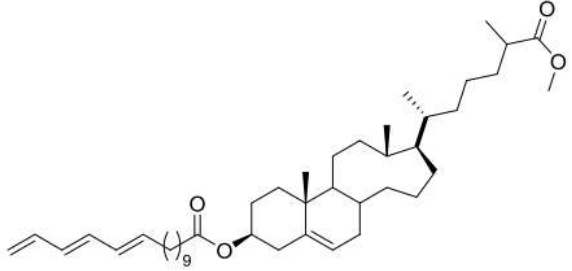
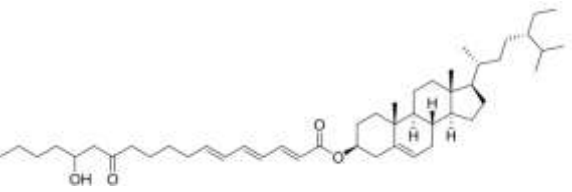
Продолжение Таблицы А.1

83	3 β - гидроксикостунолид		надземная часть
84	людовицин В		надземная часть
85	спатуленол		надземная часть
86	артемизинин		надземная часть
Другие соединения			
87	<i>n</i> -дотриаконтанол		надземная часть
88	пальмитиновая кислота		надземная часть
89	гексакозиловый эфир эйкозановой кислоты		надземная часть
90	2-(5-ацетил-2,3- дигидробензофуран-2- ил) пропиловый эфир		надземная часть
91	скопарамид А		надземная часть
92	<i>n</i> -бутил- β -D- фруктопиранозид		надземная часть

Продолжение Таблицы А.1

93	эвгенол 2-O-β-D-глюкопиранозид		надземная часть
94	2-(3'-метоксил-3'-метил-транс-бут-1'-енил)-p-метоксил ацетофенон		надземная часть
95	4-(O-β-D-глюкопираноил)-3-(3'-метил-2'-бутенил) ацетофенон		надземная часть
96	<i>n</i> -гидроксиацефенон		надземная часть
97	β-ситостерол		надземная часть, бутоны
98	β-даукостерол		надземная часть
99	9β-ланоста-5-ен-3α,27-диол 3α-пальмитолеат (ланоскопариол)		корни
100	13,14-секо-холест-7-ен-3,6α,27-триол 3,27-диокта-8',6'-диеноат (артемистерол А)		корни

Продолжение Таблицы А.1

101	13,14-секо-холест-5-ен-3 β ,27-диол 27-метаноат-3 β -гексадека-11',13',15'-триен-1'-оат (артемистерол В)		корни
102	артемистерол С (β -ситостерил-(14'-гидрокси-12'-кетоктадек)-2',4',6'-триеноат)		корни
103	скопаровая (scopoic acid) кислота (тетракопт-7(8)-29(30)-диен-15,17,20-триол-19-он-26-овая кислота)	-	корни
104	артемиланостерол (14-десметил-14-гидроксиланост-24(25)-ен-3 β -ил-11',13',15'-триенстеарат)	-	корни

**Приложение Б. Акт внедрения результатов научно-исследовательской
работы в практику научной работы Пятигорского медико-
фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава
России**

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора
Пятигорского медико-
фармацевтического
института -
филиала ФГБОУ ВО
ВолгГМУ Минздрава России
М.В. Черников

«08» августа 2021 г.



АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Предмет внедрения: Количественное определение капиллина в эфирном масле полыни метельчатой.

Кем предложен: аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России Э.Э. Айрапетян и заведующим кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России д.ф.н., профессором Д.А. Коноваловым.

Источник информации: Информационное письмо «Количественное определение капиллина в эфирном масле полыни метельчатой» разработано на кафедре фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России под руководством д.ф.н., профессора Д.А. Коновалова (материалы диссертации Айрапетян Э. Э. «Фармакогностическое изучение полыни метельчатой (*Artemisia scoraria* Waldst. et Kit.)»).

Где и кем внедрено: Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, кафедра фармацевтической химии, к.фарм.н. Ларский М.В.

Цель внедрения: Расширение методов количественного определения полнацетиленовых соединений.

Ответственные за внедрение: к.фарм.н. Ларский М.В.

Результаты внедрения: данная методика может быть использована в научно-исследовательской работе студентов, аспирантов и сотрудников кафедры фармацевтической химии Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Кроме того, в качестве информационного материала может быть использована в лекционном курсе кафедры.

Эффективность внедрения: Данная методика позволяет определить количественное содержание капиллина в эфирном масле полыни метельчатой методом тонкослойной хроматографии.

Подпись:  Ларский М.В.

Приложение В. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику учебной работы Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

УТВЕРЖДАЮ

И.о. директора
Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России
М.В. Черников
«12/12/2021 г.»

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Предмет внедрения: Изучение противовоспалительной активности стоматологического геля с экстрактом полыни метельчатой.

Кем предложен: аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России Э.Э. Айрапетян и заведующим кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России д.ф.н., профессором Д.А. Коноваловым.

Источник информации: Информационное письмо «Изучение противовоспалительной активности стоматологического геля с экстрактом полыни метельчатой» разработано на кафедре фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России под руководством д.ф.н., профессора Д.А. Коновалова (материалы диссертации Айрапетян Э. Э. «Фармакогностическое изучение полыни метельчатой (*Artemisia scoraria* Waldst. et Kit.)»).

Где и кем внедрено: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, кафедра терапевтической стоматологии и протезтики стоматологических заболеваний, профессор, д.м.н. Чижикова Т.С.

Цель внедрения: Использование данных информационного письма при изучении противовоспалительной активности гелей наружного применения.

Ответственные за внедрение: профессор, д.м.н. Чижикова Т.С.

Результаты внедрения: представленная информация может быть внедрена в качестве одного из примеров по использованию лекарственных средств природного происхождения в лекционный курс и учебный процесс на кафедре терапевтической стоматологии и протезтики стоматологических заболеваний.

Эффективность внедрения: Данная методика позволяет установить местное противовоспалительное действие геля на основе экстракта полыни метельчатой.

Подписи/  

Приложение В. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику учебной работы ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

<p align="center">УТВЕРЖДАЮ</p> <p>И.о. проректора по образовательной деятельности и общим вопросам ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России</p> <p align="center"><i>В.И. Гаврилюк</i> В.И. Гаврилюк</p> <p align="right">20 21 г.</p>	<p align="center">УТВЕРЖДАЮ</p> <p>Заместитель директора по научной работе ЦМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России</p> <p align="center"><i>Д.А. Коновалов</i> Д.А. Коновалов</p> <p align="right">20 21 г.</p>
<p>АКТ</p> <p>о внедрении результатов научной и инновационной деятельности</p>	
<p>1. Авторы (соавторы) внедрения: д.ф.н., профессор заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России <i>Коновалов Дмитрий Алексеевич</i>; аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России <i>Айрапетян Эмма Эдуардовна</i></p> <p>2. Источник предложения: материалы диссертационной работы «Фармакогнозическое изучение полыни метельчатой <i>Artemisia scoparia Waldst. et Kit.</i>».</p> <p>3. Название объекта внедрения: Информационное письмо «Количественное определение скопарона в траве полыни метельчатой».</p> <p>4. Наименование организации, где используются результаты исследования: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.</p> <p>5. Дата начала отчета внедрения: 01.09.2020 г.</p> <p>6. Заключение об эффективности внедрения: использование предложенной методики в учебном процессе (в т.ч. при выполнении курсовых и дипломных научно-исследовательских работ) у студентов фармацевтического факультета позволяет оптимизировать способы количественного определения кумаринов в лекарственном растительном сырье.</p> <p>Руководитель подразделения, из которого исходит внедрение: Коновалов Д.А., д.ф.н., профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России</p> <p>Ответственный за внедрение: Айрапетян Э.Э., аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России</p>	

Приложение Г. Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы в практику научной работы ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

<p align="center">УТВЕРЖДАЮ</p> <p align="center">Проректор по научной работе федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор</p> <p align="center"> И.Л. Давыдкин</p> <p align="center">« 29 » <u>сентября</u> 20 <u>21</u> г.</p>	<p align="center">УТВЕРЖДАЮ</p> <p align="center">Заместитель директора по научной работе ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России д.ф.н., профессор</p> <p align="center"> Д.А. Коновалов</p> <p align="center">« 29 » <u>сентября</u> 20 <u>21</u> г.</p>
<p>АКТ о внедрении результатов научной и инновационной деятельности</p>	
<p>1. Авторы (соавторы) внедрения: д.ф.н., профессор заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России <i>Коновалов Дмитрий Алексеевич</i>; аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России <i>Айрапетян Эмма Эдуардовна</i></p> <p>2. Источник предложения: материалы диссертационной работы «Фармакогностическое изучение полыни метельчатой <i>Artemisia scoparia Waldst. et Kit.</i>».</p> <p>3. Название объекта внедрения: Информационное письмо «Количественное определение скопарона, скополетина, умбеллиферона, хлорогеновой кислоты в траве полыни метельчатой».</p> <p>4. Наименование организации, где используются результаты исследования: Самарский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации.</p> <p>5. Дата начала отчета внедрения: 01.09.2021 г.</p> <p>6. Заключение об эффективности внедрения: использование в научно-исследовательской работе студентов, аспирантов.</p> <p>Руководитель подразделения, из которого исходит внедрение: Коновалов Д.А., д.ф.н., профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России </p> <p>Ответственный за внедрение: Айрапетян Э.Э., аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России </p>	