

На правах рукописи

АЙРАПЕТЯН ЭММА ЭДУАРДОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОЛЫНИ
МЕТЕЛЬЧАТОЙ (*ARTEMISIA SCOPARIA* Waldest. et Kit.)**

3.4.2 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук**

Пятигорск - 2022

Диссертационная работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук,
профессор

Коновалов Дмитрий Алексеевич

Официальные оппоненты:

Хасанова Светлана Рашитовна – доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Турышев Алексей Юрьевич – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений"

Защита состоится «___» _____ 2022 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.05 при ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ПМФИ – филиале ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11) и на сайте <https://www.pmedpharm.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Ремезова Ирина Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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» (<http://www.nti2035.ru/markets/healthnet>). Все большую ценность представляют «естественные биорегуляторы – традиционные растительные лекарственные средства с исторически доказанной эффективностью и безопасностью» (<http://www.nti2035.ru/markets/healthnet>). Важной задачей, стоящей на уровне государства, является «создание научно-образовательных агротехнопарков и развитие отрасли лекарственного растениеводства». Для возрождения отрасли необходима «разработка новых биорегуляторов, выведения их на уровень, соответствующим мировым стандартам» (Козко А.А., Цицилин А.Н., 2018).

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 (B. Koul et al., 2018). Особое внимание привлекает полынь метельчатая (*Artemisia scoparia* Waldest. 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 (Cho Y. et al., 2015; Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005).

Степень разработанности темы. Исследования по изучению дикорастущей полыни метельчатой проводились отечественными и зарубежными учеными. Был изучен химический состав надземной части и эфирного масла. Доказано наличие полиацетиленовых соединений, веществ фенольной природы (Коновалов Д.А., 2000; Коновалов Д.А., 1991; Коновалова О.А. и др., 1989; Шаропов Ф.С., 2011; Xie T. et al., 2005; Singh D., et al., 2006). 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» (Адгина В.В., 1990).

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 ее в качестве источника потенциального сырья для разработки лекарственных средств, обладающих противовоспалительным действием.

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 (полиацетиленов, флавоноидов, кумаринов) и валидировать их.
6. Провести предварительное изучение острой токсичности сухого экстракта полыни метельчатой и противовоспалительной активности стоматологического геля с экстрактом полыни метельчатой в опытах на животных.

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 (полиацетиленов, флавоноидов, кумаринов), проведена их валидация. Установлены показатели и нормы качества на Полыни метельчатой траву и эфирное масло полыни метельчатой. Получен

стоматологический гель с сухим экстрактом полыни метельчатой на основе карбопола. Проведено изучение его острой токсичности и противовоспалительной активности.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость. Теоретическая значимость заключается в существенном расширении сведений о комплексе биологически активных веществ 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 эффективных лекарственных средств.

Практическая значимость. Разработаны методики, позволяющие стандартизовать Полыни метельчатой траву и её эфирное масло по основным группам действующих веществ (эфирное масло, полиацетиленовые и фенольные соединения). Экспериментально определены оптимальные сроки заготовки сырья и получения эфирного масла, предложены показатели для подтверждения их подлинности и оценки качества.

Предварительные фармакологические экспериментальные данные показывают целесообразность дальнейшего изучения эфирного масла и экстрактов 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 данных 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-спектрофотометрия, ЯМР- и масс-спектроскопии). Фармакологический скрининг осуществляли с использованием стандартных методик.

Основные положения диссертационной работы, выносимые на защиту:

- результаты фитохимического изучения основных групп БАВ полыни метельчатой;
- результаты морфолого-анатомического исследования надземной части полыни метельчатой;
- методики анализа, показатели и нормы качества на Полыни метельчатой траву и эфирное масло полыни метельчатой;
- результаты фармакологических исследований стоматологического геля с экстрактом полыни метельчатой.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности полученных данных определяется значительным объемом экспериментальных исследований, проведенных с использованием современных химических, физико-химических, морфолого-анатомических и фармакологических методов исследования.

Результаты научно-исследовательской работы были представлены на конференциях:

1. III Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (21 мая-27 мая 2017 год, Краснодар);
2. XXV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (9-12 апреля 2018 года, Москва);
3. Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (19 марта 2021 года, ПМФИ,

Пятигорск);

4. IV международном симпозиуме «Инженерные науки и науки о Земле: прикладные и фундаментальные исследования» (20 марта 2021 года, г. Грозный);

5. Международной научно-практической конференции «Ароматные и лекарственные растения: интродукция, селекция, агротехника, биологически активные вещества, влияние на человека» (21-25 июня 2021 год, Ялта);

6. Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (18-19 марта 2022 года, ПМФИ, Пятигорск).

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 3 в журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ.

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

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, а также участвовал в фармакологических исследованиях. Диссертация и автореферат написаны лично автором.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 181 странице компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, главы «Объекты и методы исследований», трёх глав экспериментальной части, заключения, списка литературы, приложений. Иллюстрирована 47 таблицами и 43 рисунками. Список литературы включает 155 источников, из них 123 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлась полынь метельчатая сорта «Таврида», собранная в различные фазы роста и развития (ветвление, бутонизация, цветение, созревание семян) в период 2016-2020 гг. на территории коллекционного питомника Никитского ботанического сада – Национального научного центра РАН.

В качестве сырья использовали надземную часть растения, срезанную

на высоте 20-30 см над поверхностью почвы.

Сбор образцов сырья, их сушку и хранение проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы Herbae» и ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XIV издания.

БАВ надземной части полыни метельчатой изучали, используя качественные химические реакции, тонкослойную хроматографию, высокоэффективную жидкостную хроматографию с УФ- и масс-детекторами (ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС), УФ-спектрофотометрию.

Морфолого-анатомическое исследование проводили в соответствии с методиками ОФС.1.5.3.0003.15 ГФ РФ XIV издания. При микроскопическом изучении использовали образцы воздушно-сухой надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида», собранные в фазу цветения.

Фармакологический скрининг осуществляли с использованием стандартных методик. Исследование включало изучение «острой токсичности» экстракта полыни метельчатой, противовоспалительной активности стоматологического геля с экстрактом полыни метельчатой в опытах на животных (Pozdnyakov D.I. et al., 2022).

Результаты опытов обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0» (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows) и Microsoft Excel 10-й версии. Вычисляли среднее значение и стандартную ошибку среднего значения. Данные выражали в виде $M \pm SEM$. Сравнение групп средних производили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с пост-тестом Ньюмена-Кейсла при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Изучение биологически активных соединений надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида»

Обзор данных научной литературы и первичное фитохимическое

изучение надземной части полыни метельчатой с помощью качественных реакций и тонкослойной хроматографии позволили предположить присутствие в исследуемых образцах надземной части фенольных соединений (включая кумарины, флавоноиды, фенольные кислоты, дубильные вещества), эфирного масла, полиацетиленовых соединений (капиллина, капиллена), аминокислот.

Качественный анализ компонентов спиртового извлечения из полыни метельчатой травы методами ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС с использованием стандартных образцов показал присутствие флавоноидов (лютеолин 6,8-ди-С-глюкозид; рутин; гиперозид; кемпферол-О-рутинозид, лютеолин), фенольных кислот (хлорогеновая, 3,5-, 3,4- и 4,5-дикофеилхинные кислоты) и кумаринов (скополетин, скопарон, умбеллиферон). Результаты представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

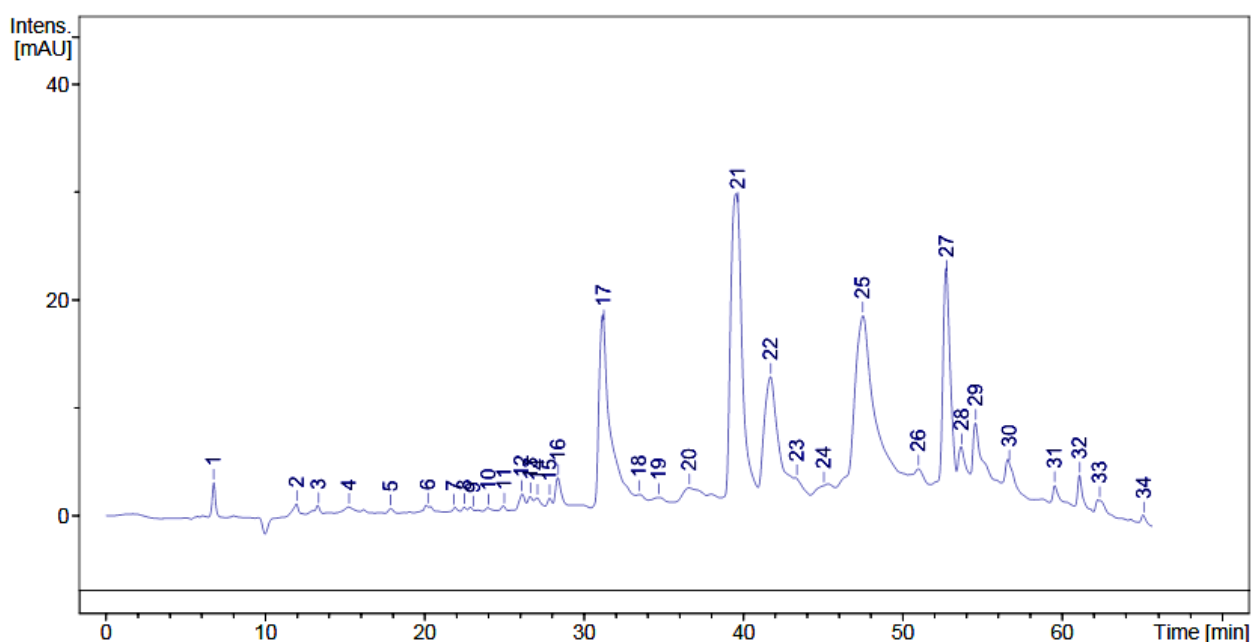


Рисунок 1 – Хроматографический профиль спиртового извлечения (70%) полыни метельчатой травы (УФ-детекция, 254 нм)

Таблица 1 – Фенольные соединения спиртового извлечения полыни метельчатой травы

№ пика	Соединение	Время удерживания	m/z прекурсор	MS ² -фрагментация
1	Лютеолин 6,8-ди-С-глюкозид	27,83	609	489, 369
2	Скополетин	28,38	399	353, 191, 176
3	Хлорогеновая кислота	31,24	353	191,179
4	Рутин	39,66	609	301, 271, 255, 179, 343
5	Гиперозид	41,72	463	301, 179, 271, 151
6	Кемпферол-О-рутинозид	43,36	593	285
7	3,5-Дикофеилхинная кислота	47,50	515	353, 191, 173
8	3,4-Дикофеилхинная кислота	52,77	515	353, 203, 173, 299
9	4,5-Дикофеилхинная кислота	54,58	515	353, 255, 173, 203
10	Лютеолин	56,70	285	241, 257, 199

Идентификацию и количественное определение в эфирном масле капиллина в фазу ветвления побегов полыни метельчатой проводили методом планарной хроматографии (рисунок 2).

Валидационные характеристики разработанной методики представлены в таблице 2.

Результаты фитохимического изучения надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида», культивируемого в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре РАН (таблица 3) позволяют сделать вывод о присутствии в её составе следующих групп биологически активных веществ: фенольные соединения (включая кумарины, флавоноиды, фенольные кислоты, дубильные вещества), полиацетиленовые соединения и аминокислоты.

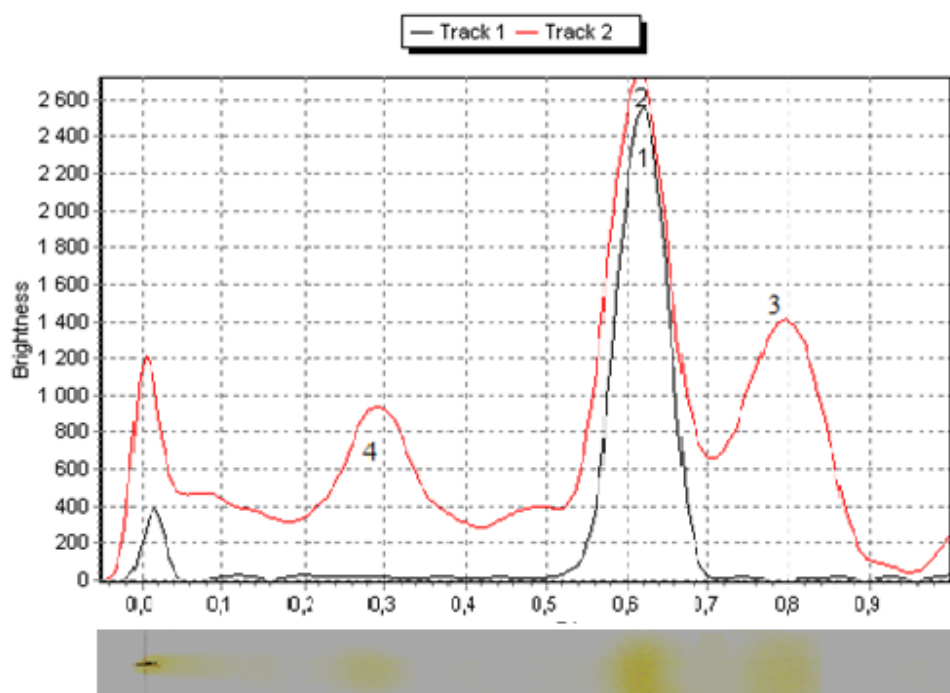


Рисунок 2 – Оцифрованная хроматограмма СО капиллина (1) и полиацетиленов эфирного масла полыни метельчатой: капиллина (2), капиллена (3), капиллола (4)

Таблица 2 – Валидация методики количественного определения капиллина в эфирном масле полыни метельчатой

Показатель валидации	Результат
Специфичность	Специфична
Предел обнаружения	13,7 мкг
Предел количественного определения	41,6 мкг
Линейность	$S = 1,1 \cdot 10^3 \text{ m}$
Правильность	$X_{\text{cp}} = 103,7\%$; $X = 9,1\%$; $RSD\% = 9,9\%$; $E = 8,8\%$
Прецизионность	$X_{\text{cp}} = 9,65\%$; $X = 1,00\%$; $RSD\% = 9,9\%$; $E = 10,4\%$

Таблица 3 – Результаты фитохимического исследования надземной части полыни метельчатой

Группа БАВ	Метод	Результат
Фенольные соединения	ВЭЖХ-УФ	Идентифицированы кумарины: скопарон, скополетин, умбеллиферон; фенольная кислота – хлорогеновая

Группа БАВ	Метод	Результат
	ВЭЖХ-МС	Идентифицированы 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
	Спектрофотометрия в видимой области после реакции комплексообразования с алюминия хлоридом при длине волны 410 нм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырьё в фазу цветения составило $1,95 \pm 0,05\%$
Эфирное масло	ГЖХ-МС	Идентифицированы компоненты эфирного масла в образцах полыни метельчатой травы сорта «Таврида». В период цветения в эфирном масле преобладает полиацетиленовое соединение – капиллен
	ТСХ	Количественно определены ацетиленовые соединения: капиллол, капиллин, капиллен; кумарин – скопарон
СО ₂ - экстракт	ГЖХ-МС	В период начала цветения в СО ₂ -экстракте преобладают капиллен, капиллин, скопарон и триаконтан
Аминокислоты	Ионообменная хроматография с пост-колоночной дериватизацией нингидрином	Суммарное содержание аминокислот – 7,27%. Доминирующими аминокислотами являются пролин (1,03%), глутаминовая кислота (1,01%), аспарагиновая кислота (0,72%), лейцин (0,53%)

Группа БАВ	Метод	Результат
Минеральный состав	Полуколичественный спектральный анализ	Обнаружено 27 химических элементов, среди которых преобладали калий, кальций, магний, фосфор, натрий.

Морфолого-анатомическое исследование

Высушенная надземная часть растения, срезанная на высоте 25-30 см над поверхностью почвы, состоит из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей.

Стебель прямой, одиночный, в средней и верхней частях сильноветвистый, вначале опушенный, 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. Средние стеблевые листья сидячие с нитевидно-линейными 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 0,6 мм. Цвет сырья желто-зеленый, вкус пряно-горький, запах сильный, ароматный.

В результате микроскопического исследования установлены диагностически значимые признаки.

1. Эпидермис верхней стороны листа слабо извилистостенный; с нижней стороны извилистостенный. Эпидермис цветков имеет длинные вытянутые клетки, расположенные неравномерно. Эпидермис стебля состоит из прямостенных клеток.

2. Устьичный аппарат аномоцитного типа, расположен с обеих сторон листа.

3. Эфиромасличные железки многочисленные, овальные, по типу астровых, окрашиваемые реактивом судан III в желто-оранжевый цвет.

4. Наличие Т-образных волосков, у которых поперечная клетка Т-

образного волоска расположена перпендикулярно клетки основания волоска или имеет V-образную форму в точке перехода к основанию. Длины ветвей Т-образного волоска разной длины.

Разработка показателей качества

Для стандартизации надземной части полыни метельчатой были установлены некоторые показатели качества (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты разработки некоторых показателей и норм качества сырья «Полыни метельчатой трава»

Показатели качества	Метод анализа	Нормы
Влажность	Согласно ОФС ГФ РФ XIV издания	Не более 7,0%
Зола общая		Не более 8,0%
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте		Не более 1%
Экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70%		Не менее 19%
Количественное определение хлорогеновой кислоты	ВЭЖХ	Не менее 0,1%
Количественное определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин	Спектрофотометрия	Не менее 1,5%

Для количественного определения суммы флавоноидов полыни метельчатой использовали методом УФ-спектрофотометрии. В качестве стандартного образца (СО) использовали рутин.

Результаты показывают, что максимальное содержание суммы флавоноидов достигается при использовании в качестве экстрагента спирта этилового 70%, степени измельченности сырья – 1 мм, времени экстракции – 60 минут, соотношении сырьё : экстрагент – 1 : 60. УФ-спектры комплексов спиртового извлечения и спиртового раствора СО рутина с 2%-ным раствором алюминия хлорида показали батохромный сдвиг в область 410 нм (рисунок 3).

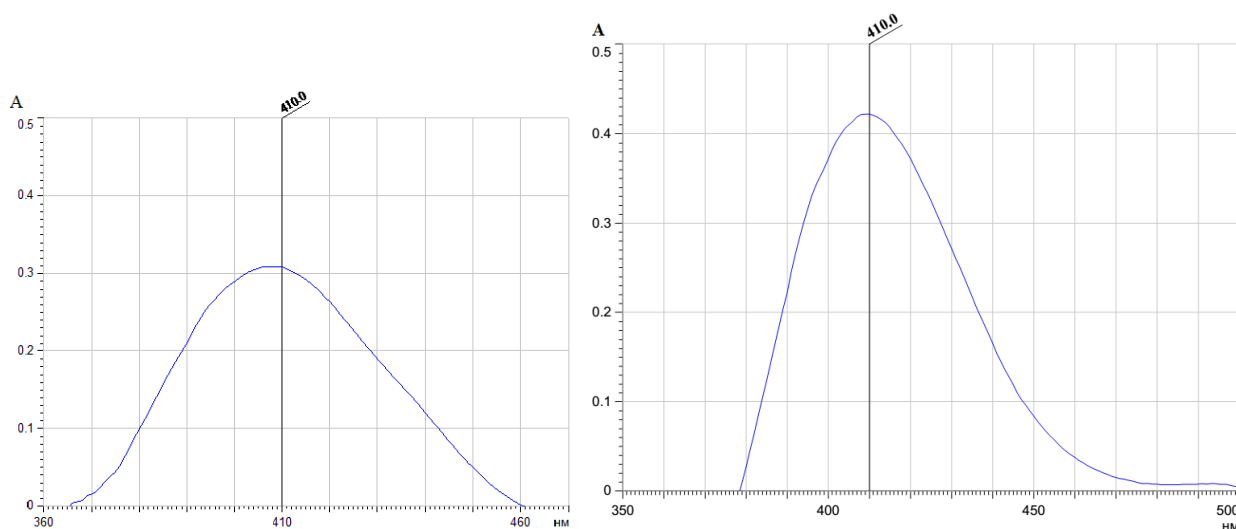


Рисунок 3 – Фрагменты спектров поглощения комплексов спиртового (70%) извлечения полыни метельчатой травы и СО рутина с алюминия хлоридом 2%

Разработанная методика являлась линейной в пределах аналитической области от 0,1718 мг/мл до 0,7305 мг/мл суммы флавоноидов в пересчете на рутин ($y = 0,7692x + 0,0085$; $R = 0,999$), специфичной, правильной ($RSD = 1,79\%$) и воспроизводимой ($\epsilon = 2,73\%$). Как следует из полученных результатов, содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в исследуемом сырье составило $1,95 \pm 0,05\%$, а относительная погрешность определения не превысила 3%. При оценке качества «Полыни метельчатой травы» нормой содержания суммы флавоноидов в пересчёте на рутин рекомендовано значение – не менее 1,5% в пересчёте на абсолютно сухое сырьё.

Для количественного определения кислоты хлорогеновой в полыни метельчатой траве сорта «Таврида» использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию в режиме ступенчатого градиента с использованием подвижной фазы следующего состава: ацетонитрил – муравьиной кислоты водный раствор 0,1%. Детектирование осуществляли при длине волны 280 нм. Скорость потока – 0,7 мл/мин. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Температура колонки 25 °С. Разработанная методика валидирована по основным показателям, что подтверждает возможность её использования для стандартизации сырья «Полыни метельчатой трава». В

качестве нормы содержания кислоты хлорогеновой в данном сырье рекомендуется показатель – не менее 0,1% в пересчёте на абсолютно сухое сырьё.

Фармакологический скрининг

Опираясь на данные фитохимического анализа, был проведен фармакологический скрининг полученного нами стоматологического геля с использованием экстракта полыни метельчатой на основе карбопола. Результаты исследования представлены в таблице 5.

Терапевтическая доза геля с экстрактом полыни метельчатой равна 100 мг, что соответствует терапевтической дозе препарата сравнения.

Таблица 5 – Результаты фармакологического скрининга стоматологического геля с использованием экстракта полыни метельчатой

Вид активности	Метод исследования	Установленный параметр	Референт-ный препарат
Острая токсичность	Процедура «Вверх-вниз»	LD ₅₀ >5000 мг/кг, 5-й класс химической опасности	-
Противовоспалительная	Периодонтит, вызванный механической травмой	Снижение интенсивности воспалительной реакции	Камистад® (Штада Арцнаймит-тель АГ, Германия)
• Содержание лейкоцитов в крови	Система автоматического гематологического анализатора Mindray BC-2800 vet	Уменьшение концентрации лейкоцитов в крови практически с восстановлением лейкоформулы до значений физиологической нормы	
• Содержание С-реактивного белка	Полуколичественный метод латекс-	Снижение концентрации С-	

Вид активности	Метод исследования	Установленный параметр	Референтный препарат
	агглютинации	реактивного белка в сыворотке крови	

На основании изменения макроскопической картины раневого дефекта, концентрации лейкоцитов в крови и содержания С-реактивного белка в сыворотке крови, можно предположить, что изучаемый объект – гель с экстрактом полыни метельчатой оказывает местное противовоспалительное действие, сопоставимое с таковым у референтного препарата - Камистад.

Заключение

1. Проведено фитохимическое изучение полыни метельчатой травы сорта «Таврида», культивируемого в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре РАН. В ходе анализа обнаружены следующие группы биологически активных веществ: фенольные соединения, включая кумарины, флавоноиды, фенольные кислоты, дубильные вещества; эфирное масло; полиацетиленовые соединения; аминокислоты.

2. Проведено изучение образцов эфирного масла из надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида», установлен качественный состав и количественное содержание его компонентов. В надземной части полыни метельчатой с помощью хроматографических методов (препаратовая 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. Получен СО₂ – экстракт из травы полыни метельчатой путем сверхкритической флюидной экстракции и изучен его компонентный состав

методом хромато-масс-спектрометрии. Доминирующими компонентами являются капиллен, капиллин, скопарон и триаконтан. Установлен аминокислотный и минеральный состав полыни метельчатой травы.

4. Проведено морфолого-анатомическое изучение надземной части полыни метельчатой. 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.

5. Разработаны и валидированы методики: количественного определения кислоты хлорогеновой методом ВЭЖХ и количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в надземной части полыни метельчатой сорта «Таврида».

6. 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 «Таврида».

7. Получен стоматологический гель с сухим экстрактом полыни метельчатой на основе карбопола и проведено изучение острой токсичности сухого экстракта из полыни метельчатой травы и противовоспалительной активности стоматологического геля на его основе в опытах на животных.

Практические рекомендации

Результаты, полученные в процессе диссертационного исследования, позволяют рекомендовать полыни метельчатой траву для дальнейшего более глубокого фармакологического изучения. Данные, полученные автором, требуют дальнейшего внедрения в образовательный и научно-исследовательский процесс в рамках направления подготовки «Фармация».

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведённое диссертационное исследование позволяет рассматривать «Полыни метельчатой траву» в качестве нового вида лекарственного растительного сырья, обладающего актуальными видами фармакологической активности. Поэтому требуются дальнейшие его исследования для внедрения лекарственных средств на его основе в медицинскую практику. Кроме того, востребованы дальнейшие исследования полиацетиленовых соединений как важной группы биологически активных компонентов лекарственных растений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Quantification of scoparon in wormwood grass using thin-layer chromatography / E.E. Ayrapetyan, T.D. Mezenova, I.D. Konovalova, D.A. Konovalov // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2021. – 012169 p.
2. 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.
3. Айрапетян, Э.Э. Аминокислотный состав травы полыни метельчатой / Э.Э. Айрапетян, О.М. Шевчук, Л.А. Логвиненко // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 2, №66. – С. 122-125.
4. 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.
5. 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.
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. 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.

8. 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.
9. 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.

АЙРАПЕТЯН ЭММА ЭДУАРДОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОЛЫНИ
МЕТЕЛЬЧАТОЙ (*ARTEMISIA SCOPARIA WALDST. ET KIT.*)**

3.4.2 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук**

Подписано в печать
Формат 60×84/16. Бумага офсетная. Печать оперативная
Объем 1,39 усл. печ. л. Тираж 100 экз. Заказ №
Отпечатано в типографии
ООО «Рекламно-информационное агентство на КМВ»,
г. Пятигорск, ул. Козлова, 19.
Тел. (879-3) 33-36-56, тел./факс (879-3) 39-09-03.