Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»

На правах рукописи

ПРЕЛОВСКАЯ САЯНА ЗОРИКТОЕВНА

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *ARTEMISIA SUBVISCOSA* TURCZ. EX BESS. И *ARTEMISIA SANTOLINIFOLIA* TURCZ. EX BESS. И РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ИХ ОСНОВЕ

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук,
профессор
Раднаева Лариса Доржиевна

Улан-Удэ – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение……..4
Глава 1. Обзор литературы……...11
1.1. Ботаническая характеристика *Artemisia* subviscosa Turcz. ex Bess. и *Artemisia santolinifolia* Turcz. ex Bess. ..... ……..11
1.2. Химический состав растений подсекций *Obtusilobae* Ledeb. и *Abrotanum* Bess. рода *Artemisia* L……..……....17
1.3. Применение в медицине растений рода *Artemisia* L……21
1.4. Лекарственная форма – настойки……..26
Выводы к главе 1……...……28
Глава 2. Объекты и методы исследований……..29
2.1. Объекты исследований ..... .29
2.2. Методы исследования..... 30
Глава 3. Фитохимическое изучение *Artemisia subviscosa* и *Artemisia santolinifolia* ……..41
3.1. Химический состав *Artemisia subviscosa* 41
3.1.1. Исследование качественного состава БАВ с использованием качественных реакций, ТСХ и ВЭЖХ-УФ..... 41
3.1.2. Получение и исследование компонентного состава эфирных масел 44
3.1.3. Исследование жирнокислотного состава…….52
3.1.4. Получение и исследование углеводного состава..... 55
3.1.5. Количественное определение основных БАВ..... 55
3.1.6. Исследование элементного состава..... 58
3.2. Химический состав *Artemisia santolinifolia* 61
3.2.1. Исследование качественного состава БАВ с использованием качественных реакций, ТСХ и ВЭЖХ-УФ……..61
3.2.2. Получение и исследование компонентного состава эфирных масел 63
3.2.3. Исследование жирнокислотного состава…….……69
3.2.4. Получение и исследование углеводного состава..... 71
3.2.5. Количественное определение основных БАВ..... 72
3.2.6. Исследование элементного состава..... 75
3.3. Фитохимическое изучение интродуцированного сырья и шрота *Artemisia subviscosae herba* и *Artemisia santolinifoliae herba* 76
Выводы к главе 3……77
Глава 4. Определение запасов сырья, стандартизация и разработка нормативной документации на сырье «*Artemisiae subviscosae herba*» и настойку *Artemisiae subviscosae herba*……...79
4.1. Определение запасов и интродукция сырья..... 79
4.2. Разработка показателей подлинности *Artemisiae subviscosae herba*..... 81
4.2.1. Внешние и микроскопические признаки..... 81
4.3. Испытания для определения доброкачественности сырья 84
4.3.1. Разработка методики определения содержания эфирного масла в *A. subviscosae herba*..... 85

4.3.2. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в *A. subviscosae herba* 88
4.3.3. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов 94
4.3.4. Показатели доброкачественности сырья 99
4.4. Разработка способа получения настойки *A. subviscosae herba*..... 101
Выводы к главе 4……..109
Глава 5. Определение запасов сырья, стандартизация и разработка нормативной документации на сырье «*Artemisiae santolinifoliae herba» и* настойку *Artemisiae santolinifoliae herba*……..111
5.1. Определение запасов и интродукция сырья..... 111
5.2. Разработка показателей подлинности *A. santolinifoliae herba*..... 112
5.2.1. Внешние и микроскопические признаки..... 112
5.3. Испытания для определения доброкачественности сырья 117
5.3.1. Разработка методики определения содержания эфирного масла в *A. santolinifoliae herba* 117
5.3.2. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в *A. santolinifoliae herba* 120
5.3.3. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов 126
5.3.4. Показатели доброкачественности сырья 131
5.4. Разработка способа получения настойки *A. santolinifoliae herba*..... 133
Выводы к главе 5……..140
Общие выводы……142
Список сокращений……..…142
Список литературы……..145
Приложение 1……...165
Приложение 2……...194
Приложение 3……...196
Приложение 4……...200

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Природные соединения, содержащиеся в растениях, обладают широким спектром фармакотерапевтической активности, малой токсичностью или отсутствием таковой, а мягкость воздействия определяет возможность их длительного применения. Особого внимания заслуживают растения, содержащие эфирные и жирные масла, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, терпеноиды. Богатым источником фенольных и терпеновых соединений являются растения рода *Artemisia* L., широко применяемые в народной и традиционной медицине разных стран в качестве противовоспалительных, капилляроукрепляющих, желчегонных, противоопухолевых, и антиоксидантных средств [6, 11, 19, 22, 57, 112]. Официнальным сырьем является полынь горькая – *Artemisia absinthium* L. Качество травы регламентируется фармакопейной статьей – ФС.2.5.0033.15. Сырье и лекарственные средства из полыни горькой, выпускаемые отечественной фармацевтической промышленностью, применяются в качестве средства для повышения аппетита и улучшения функции органов желудочно-кишечного тракта.

Ранее рядом исследователей проводился фармакогностический анализ широкоареальных видов полыней флоры Бурятии [55, 118, 137], но для некоторых эндемичных видов, таких как *Artemisia subviscosa* Turcz. ex Bess. и *Artemisia santolinifolia* Turcz. ex Bess., имеются данные только по компонентному составу эфирного масла, а в отношении других групп БАВ полностью отсутствуют [23, 68, 152]. Являясь популярным растением народной и тибетской медицины, *A. santolinifolia* широко используется при сердечных заболеваниях в виде настойки, а также при сибирской язве как сильное жаропонижающее, противоопухолевое и противовоспалительное средство [106, 171]. Установлено, что этанольный экстракт *A. santolinifolia* обладает гепатопротекторной и антиоксидантной активностями, а эфирные масла – бактерицидной активностью [66].

Учитывая малоизученность данных растений, высокую биологическую активность, распространение на территории Бурятии как эндемиков, так и редких видов растений, а также возможность введения плантационного разведения, актуальным является их фармакогностическое исследование с целью внедрения их в отечественную медицину. Поэтому, несмотря на значительные успехи в области синтеза лекарственных препаратов, используемых в современной медицине, интерес к лекарственным средствам растительного происхождения остается на высоком уровне.

Степень разработанности темы исследования. Исследованию компонентного состава эфирного масла *A. subviscosae* посвящены работы Бодоева Н. В. [152], Жигжитжаповой С. В. [58]. Исследованы образцы *A. santolinifolia* флоры Казахстана, Монголии, России. Состав эфирного масла *A. santolinifolia* изучен Халиловым Л. М., масло обладает бактерицидной активностью [170]. Надземная часть *A. santolinifolia* содержит фенольные соединения (кумарины, флавоноиды, дубильные вещества), полиизопреноиды, аминокислоты [114, 146, 154, 162, 167]. Прибытковой Л. Н. изучен химический состав корней *A. santolinifolia*, определена антиоксидантная и гепатопротекторная активности спиртового извлечения [66]. Фармакогностическое исследование *A. subviscosa* и *A. santolinifolia,* произрастающих в Республике Бурятия и разработка лекарственных средств на их основе ранее не проводились.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является фармакогностическая характеристика *A. subviscosae herba, A. santolinifoliae herba* и разработка лекарственных средств на их основе.

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

1. установить макро- и микроскопические признаки, дикорастущего и интродуцированного сырья (*A. subviscosa, A. santolinifolia)* и определить их запасы;

2. изучить химический состав основных групп биологически активных веществ *A. subviscosa и A. santolinifolia;*

3. установить особенности распределения компонентов эфирного масла по частям и фазам развития в зависимости от места, года сбора *A. subviscosa* и *A. santolinifolia* и определить оптимальные условия выделения эфирного масла;

4. разработать методики количественного определения суммы флавоноидов и проекты нормативной документации в *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba;*

5. разработать способ получения и показатели качества настойки *A. subviscosae tinctura*, *A. santolinifoliae tinctura*, подготовить проекты нормативной документации.

Научная новизна. Впервые проведен фармакогностический анализ *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* флоры Бурятии. Установлены основные макро- и микроскопические признаки *A. subviscosae herba*: слабоизвилистые стенки клеток верхнего эпидермиса, сильноизвилистые – нижнего, устьичный аппарат аномоцитного типа, эфирномасличные железки овальной формы, состоящие из 8 выделительных клеток, расположенных ярусами, Т-образные волоски; *A. santolinifoliae herba*: слабоизвилистые стенки клеток верхнего эпидермиса, сильноизвилистые – нижнего, устьичный аппарат аномоцитного типа, эфирномасличные железки овальной формы, состоящие из 8 выделительных клеток, расположенных ярусами, Т-образные, железистые и головчатые волоски.

Определены объемы ежегодных заготовок *A. subviscosa* на конкретных зарослях в Баргузинском районе (92,18 кг) и для популяции *A. santolinifolia* в Окинском районе (34,08 кг).

В ходе фитохимического исследования в *A. subviscosa* определено количественное содержание суммы флавоноидов (2,03±0,04%), суммы кумаринов (0,20±0,01%), суммы дубильных веществ (3,28±0,03%), суммы гидроксикоричных кислот (4,15±0,07%), аскорбиновой кислоты (1,08±0,03%); в *A. santolinifolia*

установлено количественное содержание суммы флавоноидов (2,01±0,07%), суммы кумаринов (0,05±0,01%), суммы дубильных веществ (3,72±0,11%), суммы гидроксикоричных кислот (2,55±0,08%), аскорбиновой кислоты (1,12±0,03%).

Жирнокислотный состав *A. subviscosae herba представлен* 29 жирными кислотами и *A. santolinifoliae herba* – 25 жирными кислотами: во всех образцах преобладают пальмитолеиновая, линолевая и олеиновая кислоты.

Изучена динамика накопления эфирных масел *A. subviscosa* и *A. santolinifolia* в зависимости от морфологческой части и фазы развития растения. Максимальное количество масел накапливается в обоих видах в соцветиях (0,70%) и в фазу цветения (0,74%).

Подобраны оптимальные условия выделения эфирного масла из *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba:* степень измельчения – 1 мм, экстракция в течение 4 часов.

Установлено, что после получения эфирных масел шроты *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* являются источником БАВ, таких как флавоноиды, дубильные вещества, гидроксикоричные кислоты, водорастворимые полисахариды. Интродуцированные виды сопоставимы с дикорастущими по химическому составу.

Разработаны и валидированы методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид (*A. subviscosae herba*) и суммы флавоноидов в пересчете на рутин *(A. santolinifoliae herba).* Разработаны способы получения настоек *A. subviscosae herbae tinctura* и *A. santolinifoliae herbae tinctura.*

Практическая значимость работы. На основе проведенных исследований разработаны и внедрены в учебный процесс на кафедре фармации Медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»:

– проекты фармакопейных статей (ФС) *A. subviscosae herba, A. subviscosae herbae tinctura, A. santolinifoliae herba, A. santolinifoliae herbae tinctura;*

– методические рекомендации по определению микроскопических признаков лекарственного растительного сырья; методики получения эфирного масла из *A. subviscosae herba, A. santolinifoliae herba;*

– методика количественного определения суммы флавоноидов в *A. subviscosae herba, A. santolinifoliae herba;*

– способ получения *A. subviscosae herbae tinctura*, *A. santolinifoliae herbae tinctura*.

Методология и методы исследования.

При планировании диссертационного исследования были проанализированы сведения литературы, дана оценка актуальности и степени изученности темы, а также сформулированы задачи и цель исследования. При проведении фармакогностического исследования применяли макроскопический, микроскопический и фитохимический анализы. Фитохимические исследования проводили с использованием хроматографических: высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хромато-масс-спектрометрия, тонкослойная хроматография, спектральных: УФ-спектрофотометрия, атомно-эмиссионная, атомно-абсорбционная спектрофотометрия и химического метода – титриметрии. Для обработки полученных результатов исследования применяли математические методы обработки.

Положения, выносимые на защиту:

– фитохимическая характеристика *A. subviscosa* и *A. santolinifolia*, в том числе анализ по компонентному составу эфирного масла в зависимости от морфологической части растения, фазы вегетации и года сбора;

– макроскопические и микроскопические признаки *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba;*

– стандартизация сырья *A. subviscosae herba*, способ получения настойки *A. subviscosae herbae tinctura;*

– стандартизация сырья *A. santolinifoliae herba*, способ получения настойки *A. santolinifoliae herbae tinctura.*

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке цели и задач исследований, проведении экспериментальных работ, обобщении полученных данных и их статистической обработки, оформлении и представлении научных работ.

Связь задач исследования с планами научных работ. Работа выполнена в соответствии с программой и планом научно-исследовательской работы ФГБУН Байкальский институт природопользования СО РАН (проект №0339-2016-0003 «Трансформация веществ в адаптивных реакциях организмов как индикатор антропогенного воздействия в экосистемах Азиатской России и сопредельных территорий», инновационного проекта 19-12-0502 БГУ 2019 г. «Выделение биологически активных веществ растений рода Полынь и получение лекарственных препаратов и БАД на их основе», инновационного проекта 20-06-0502 БГУ 2020 г. «Интродукция редких растений рода Полынь и возможность их использования в медицинской практике».

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности. Научные положения диссертационной работы соответствуют пунктам 3, 5, 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Апробация результатов исследования. Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на конференциях различного уровня, таких как: Международный симпозиум «Актуальные проблемы химии, биологии и технологии природных соединений» (Ташкент, 2017 г.); Всероссийская международная молодежная научная конференция «Экологобезопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы» (Улан-Удэ, 2017 г.), ежегодная научно-практическая конференция преподавателей, сотрудников и аспирантов Бурятского государственного университета (Улан-

Удэ, 2017–2020 гг.)., International conference «Research innovation 2019» (Улан-Батор, 2019 г.), Юбилейная V Междисциплинарная конференция «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (Крым, 2019 г.), Научная сессия аспирантов и сотрудников БИП СО РАН, посвященная Дню российской науки, 200-летию открытия Антарктиды русскими мореплавателями Ф. Ф. Беллинсгаузеном и М. П. Лазаревым и 75-летию Победы в Великой Отечественной войне (Улан-Удэ, 2020 г.), XIV Международная Всероссийская Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых (Москва, 2020 г.).

Количество публикаций. По результатам исследований опубликовано 15 научных работ, из них 3 статьи – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Структура работы. Диссертационная работа изложена на 203 страницах машинописного текста, содержит 89 таблиц, 37 рисунков. Диссертация состоит из введения, 5 глав: обзора литературы (глава 1), описания объектов и методов исследований (глава 2), результатов собственных экспериментальных исследований (глава 3–5), выводов, списка литературы, включающего 180 источников, из которых 29 – на иностранном языке и 4 приложения.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Ботаническая характеристика *Artemisia subviscosa* Turcz. ex Bess. и *Artemisia santolinifolia* Turcz. ex Bess.

На территории Бурятии произрастает свыше 2206 видов сосудистых растений, представляющих 610 родов и 136 семейств из них около 200 видов относятся к лекарственным [6, 100, 101]. Род *Artemisia* L. – один из крупнейших, молодых и наиболее специализированных в семействе сложноцветных – Asteraceae [106, 107]. Разнообразие полыней Бурятии включает 48 видов и подвидов, которые относятся к трем подродам: *Artemisia, Dracunculus, Seriphidium* [105].

Наиболее распространен во флоре Бурятии подрод *Artemisia*, подразделяющийся на 3 секции: *Artemisia* L., *Abrotanum* Bess., *Absinthium* DC. Секция *Artemisia* включает травянистые мезофитные или мезоксерофитные многолетники со сравнительно несложно дифференцированной листовой пластинкой (*A. vulgaris* L., *A. mongolica* L., *A. freyniana* (Pamp.) Krasch., *A. integrifolia* L., *A. umbroza* (Bess.) Turcz. ex DC., *A. selengensis* Turcz. ex Bess., *A. leucophylla* (Bess.) Turcz. ex Clarke).

Секция *Abrotanum* представлена видами разнообразной жизненной формы. Наиболее часто встречаются травянистые многолетники, полукустарники и однолетние формы (*A. macrantha* Ledeb., *A. gmelinii* Web. ex Stechm., *A. santoliniifolia* Turcz. ex Bess., *A. messerschmidtiana* Bess., *A. anethifolia* Web. ex Stechm., *A. annua L.,* *A. palustris* L., *A. Adamsii* Bess., *A. furcate* Bieb., *A. tanacetifolia* L., *A. phaeoleois* Krash., *A. laciniate* Willd., *A. latifolia* Ledeb.).

Секция *Absinthium* представлена в основном полукустарниками и травянистыми растениями (*A. rutifolia* Steph. Ex Spreng., *A. subviscosa* Turcz. ex Bess., *A. lagocefala* (Fisch. ex Bess) DC., *A. rupestris* L., *A. absintium* L., *A. sieversiana* Willd., *A. jacutica* Drob., *A. frigida* Willd., *A. sericea* Web. ex Stechm., *A. czekanovskiana* Trautv.) [100].

Подрод *Dracunculus* в Бурятии насчитывает 15 видов, представляющих собой травянистые многолетники и полукустарники. *Dracounculus,* в свою очередь, подразделяется на 2 секции*:* *Dracunculus* (*A. dracunculus* L., *A. desertorum* Spreng., *A. glauca* Pall. ex Willd., *A. macilenta* (Maxim.) Krasch.), *Campestris* (*A. commutate* Bess., *A. pycnorhiza* Ledeb., *A. ledebouriana* Bess., *A. borealis* Pall., *A. dolosa* Krasch., *A. monostacha* Bunge ex Maxim., *A. bargusinensis* Spreng., *A. pubescens* Ledeb., *A. scoparia* Waldst. ex Kit.).

Подрод *Seriphidium* – это многолетние полукустарниковые растения, развивающие сильно укороченные многолетние бесплодные побеги (*A. nitrosa* Web. ex Stech., *A. schrenkiana* Ledeb) [106].

Полыни Бурятии очень многообразны по биологическим особенностям и преимущественно относятся к мезоксерофитам, ксерофитам и галофитам, произрастают на лесных, степных, высокогорных областях.

В работе рассматриваются виды подрода *Artemisia* L, секции *Absinthium* – *A. subviscosa* Turcz. ex Bess. (полынь клейковатая) и секции *Abrotanum* – *A. santolinifolia* Turcz. ex Bess. (полынь сантолинолистная) [127].

Artemisia subviscosa Turcz. ex Bess. – полынь клейковатая

Полукустарничек высотой 25–45 см. Нижняя часть стеблей многолетняя, одревесневшая, с черно-бурой корой. Однолетняя покрыта прижатыми двухконечными и редко простыми волосками на фоне ямчатых железок, иногда волоски единичны. Однолетние побеги двух родов: вегетативные – олиственные, укороченные и цветоносные. Нижние и средние стеблевые листья черешковые, длиной 1,5–2,5 см. Дважды перисторассеченные, с ушками. Первичные доли, в свою очередь, тройчаторассеченные. Конечные доли линейные, 5–8 (10) мм длиной и 0,4–0,8 мм шириной. Корзинки почти шаровидные, 3–5 мм в диаметре, в узком кистевидно-метельчатом или кистевидном соцветии. Листочки обертки волосистые, ланцетные или продолговатые. Цветоложе волосистое. Количество краевых цветков (пестичных) – 10. Срединных цветков (обоеполых) – 20–22.

Лопасти рыльца на верхушке реснитчатые. Семянки около 1 мм длиной, продолговато-конические, плосковатые, бороздчатые (рисунок 1).

Рисунок 1 – *A. subviscosa* Turcz. ex Bess.

A. subviscosa – ксерофитный полукустарничек, располагается в степях Баргузинской долины и на северо-западном побережье Байкала [25]. Произрастает в зоне с резко выраженным континентальным климатом, характеризующимся большим числом солнечных дней в году и большими амплитудами колебаний годовой и суточной температуры. Сложная орография местности, сочетание широтной и высотной поясности, влияние озера Байкал, низкая сельскохозяйственная освоенность горных и предгорных территорий позволяет предположить, что в эндемичных видах растений данного региона можно обнаружить уникальные биологически активные вещества [100,113].

Клейковато-полынная степь используется как пастбищные угодия [27]. *A. subviscosa* является изолированной популяцией полыни из родства *Artemisia obtusiloba* Ledeb. [108, 152]. Родство *Artemisia obtusiloba* Ledeb. также включает следующие виды:

1. *Artemisia obtusiloba* Ledeb. – полынь туподольковая – многолетний полукустарник, ксерофит. Встречается в Сибири, Алтае, Тыве, юго-восточном Казахстане. Обитает на каменистых степных склонах, скалах, по опушкам лесов, в кустарниках [4, 80, 81, 127].

2. *Artemisia altaiensis* Krasch. – полынь алтайская – многолетний полукустарник, ксерофит. Эндемик, высокогорно-степной вид Алтае-Саянской горной системы и Монгольского Алтая [4, 80, 81, 113, 127].

3. *Artemisia glabella* Kar. et Kir. – полынь гладкая – многолетний полукустарник, ксерофит. Эндемик Казахстана, растет в трещинах гранитных обнажений, на бугристых песках, песчаных отмелях [4, 80, 81, 113, 127].

4. *Artemisia filatovae A. kuprijanov* – полынь Филатовой – многолетник, полукустарник, ксерофит. Эндемик Центрального Казахстана. Растет по пологим склонам сопок, на выбросах из нор сурков [79].

5. *A. obtusiloba* и близкие к ней виды *A. glabella Kar. et Kir.* и *A. altaiensis Krasch.* приведены во «Флоре СССР» как эндемики и субэндемики южной Сибири [113]. Многие исследователи отмечают значительный полиморфизм и отсутствие четких морфологических различий между ними. Нет единства, и во взглядах отдельных авторов на географическую приуроченность видов рассматриваемой группы [4, 33, 75, 76, 124].

6. *A. obtusiloba subsp. martjanovii* – ксерофит, отличается высокой засухоустойчивостью, является компонентом опустыненных степей. Эндемик Якутии [74].

Сложность диагностики полыней данной группы объясняется слабой изученностью их анатомо-морфологических признаков и компонентного состава биологически активных веществ.

A. subviscosa наиболее близка к *A. martjanovii*, но отличается от него густым опушением более крупных листьев, а также менее выпуклым и более густо опушенным цветоложем. Для него характерны также густожелезистые дисковые цветки; диаметр корзинок у этого вида меньше, чем у *A. martjanovii*, но почти такой же, как у *A. obtusiloba* [160]. *A. martjanovii* на сильно выбитых скотом участках не дает генеративных побегов, на менее выбитых образует более низкорослые побеги, чем на незатронутых пастьбой местах, тогда как для полыни

клейковатой характерен обильный рост особей в местах интенсивного выпаса [4, 25].

В природе весьма многочисленны формы, сочетающие признаки как близких, так и территориально далеких видов из родства *A. obtusiloba*. Например, в хакасско-минусинских степях кроме типичной *A. martjanovii* были обнаружены растения с более мелкими корзинками, что послужило основанием для их выделения. Л. П. Сергиевской в другой вид – *A. subviscosa.* Однако эти растения достаточно четко отличаются и от типичной забайкальской полыни клейковатой [4].

Artemisia santoliniifolia Turcz. ex Bess. – полынь сантолинолистная

Полукустарник высотой 12–45 см с многолетней разветвленной и раскидистой одревесневшей частью стебля, с бурой корой, от которой отходят однолетние вегетативные и генеративные побеги. Листья ямчато-морщинистые, опушеные, нижние и средние на черешках с ушками, листовая пластинка овальная, дважды перисторассеченная, цвет листьев сверху темно-зеленый, снизу – серый. Соцветие кистевидное или узкометельчатое. Корзинки шаровидные, 4–6 мм в диаметре, на коротких ножках. Плод – семянка (рисунок 2).

Рисунок 2 – *A. santoliniifolia* Turcz. ex Bess.

На территории Республики Бурятия известно несколько местонахождений полыни сантолинолистной: в Баргузинском, Баунтовском, Тарбагатайском, Селенгинском; Хоринском, Окинском, Прибайкальском районах. Также

встречается в Западной и Средней Сибири. За пределами России – в Монголии, Средней Азии [110, 64, 105]. Петрофит, произрастает на каменистых степях, расщелинах скал, осыпях, опушках травяных лиственничников, песчано-галечниковых отмелях долин горных рек. В составе сопутствующих травянистых растений отмечены *Kochiaprostate*, *Allium leucocephalum*, *Thermopsis lanceolate*, *Saussurea salicifolia* и др. [100, 110].

A. santolinifolia – редкий вид, занесенный в Красные книги Республики Бурятия, Таджикистана, Челябинской и Кемеровской областей [39, 78, 73, 134].

A. santolinifolia рассматривают как:

– самостоятельный вид

– вариант полыни Гмелина: *Artemisia gmelinii* subsp. *scheludjakoviae* Korobkov

– синоним *Artemisia gmelinii* Weber ex Stechm. =

A. santolinifoli auct. non Turcz. ex Besser [72, 127, 172].

В Бурятии, помимо *A. santolinifolia*, к подсекции *Abrotanum* Bess. относятся 5 растений [100]:

1. Artemisia gmelinii Web. ex Stechm. – Восточно-азиатский ксеромезофит произрастает в Западной и Восточной Сибири, Алтае, Забайкалье, Дальнем Востоке. За пределами России – в Средней Азии, Монголии, Китае, Южной Корее, Непале, Индии [53, 82, 145, 179, 183, 199].

2. Artemisia messerschmidtiana Bess. – произрастает в Сибири, Дальнем Востоке, Монголии [127].

3. Artemisia freyniana (Pamp.) Krasch. – ксерофит, произрастающий в Восточной Сибири [127].

4. Artemisia macrantha Ledeb. – ксерофит, произрастающий в Восточной Сибири, на Юго-Востоке европейской части России, Северном Казахстане, Северной Монголии [127].

5. Artemisia adamsii Bess. – ксерофит, обитающий на территории России, Китая, Монголии [127, 148].

1.2. Химический состав растений подсекций *Obtusilobae* Ledeb. и *Abrotanum* Bess. рода *Artemisia* L.

Биологически активные вещества подсекции Obtusilobae Ledeb.

В литературе имеются данные о составе эфирных масел и других группах БАВ полыней родства *Artemisia obtusiloba* Ledeb (таблица 1).

Таблица 1 – Компонентный состав эфирных масел полыней подсекции *Obtusilobae* Ledeb.

№	Вид полыни	Компоненты эфирного масла	Литература
1	*A. subviscosa*	сантолинатриен (до 17%), δ-элемен (до 4%), кариофиллен (до 20%), гермакрен D (9%), β-селинен (11%), кариофиллена оксид (8%)	[58, 152]
2	*A. obtusiloba*	α-пинен (до 5%), α-терпинен (3%), γ-терпинен (3%), 1,8-цинеол (18%), кариофиллен (3%), γ-кадинен (1%), δ-кадинен (1%), спатчуленол (1,5%), кариофиллен-а-оксид (2%), β-эвдесмол (13%), глауциновая кислота (до 40%)	[4, 132]
3	*A. altaiensis*	α-пинен (2%), п-цимол (1,5%), 1,8-цинеол (до 4%), изоциклоцитраль А (до 31%), изоциклоцитраль В (11%), тимол (4%)	[79]
4	*A. glabella*	α-пинен (до 6%), 1,8-цинеол (до 14%), линалоол (до 8%), терпинеол-4 (до 6,5%), α-терпинеол (до 5%), производные сабинола (5%), n-цимен (6,8%), борнеол (5,2%), п-изопропил бензальдегид (6,3%)	[132, 174]
5	*A. filatovae*	сабинен (1,3%), транс-δ-оцимен (5,6%), 1,8-цинеол (0,4%), метилевгенол (0,6%), кариофиллен (0,6%), транс-неролидол (7,9%), спатчуленол (1,4%), α-бизаболол (0,8%), хамазулен (2,8%)	[112]
6	*A. martjanovii*	пинен, δ-карен, n-цимол, линалоол, борнеол, борнилацетат	[112]

Таким образом, можно выделить компоненты масел, характерные для всех видов полыни группы *A. obtusilobae:* α-пинен, 1,8-цинеол, линалоол, относящиеся к классу монотерпеноидов и сесквитерпеноидов: спатуленол, кариофиллен.

A. obtusiloba Ledeb. и *A. martjanovii* Krasch. et Poljak. содержат оксикумарины: кумарин, скополетин, умбеллиферон, что говорит о возможном содержании данных соединений в *A. subviscosa* [1, 2, 122, 173]. Из *A. glabella* выделен сесквитерпеновый лактон арглабин, обладающий противоопухолевым действием [128].

Биологически активные вещества растений подсекции Abrotanum Bess.

В литературе имеются данные о составе эфирных масел некоторых полыней подсекции *Abrotanum* Bess. (таблица 2).

Таблица 2 – Компонентный состав эфирных масел полыней подсекции *Abrotanum* Bess.

№	Вид полыни	Компоненты эфирного масла	Литература
1	*A. gmelinii* Web. ex Stechm.	1,8-цинеол (до 40,3%), камфора (до 31%), борнеол (до 24,1%), терпинеол-4 (до 7,70%), α-терпинолен (до 1,90 %), кариофиллен оксид (до 2,90%), гермакрен D (до 11,00%)	[137]
2	*A messerschmidtiana* Bess.	1,8-цинеол (37,2%), камфора (32%), борнеол (9,5%) и изоциклоцитраль (4%)	[67]
3	*A. adamsii* Bess.	β-пинен, камфен, сабинен, мирцен, α-терпинен, карен, лимонен, γ-терпинен, терпинеол, борнеол, ментон, п-цимол, β-туйон, линалоол, камфора, цитраль, 1,8-цинеол, терпинен-4-ол, бисаболол, 4β,10α-дигидроксиаромадендрен, 11β,13-дегидроханфиллин, дезацетоксиматрикарин, 11β,13-дигидрокауниолид, арборесцин, 8α-гидроксиарборесцин, 4α-гидрокси-2,3-дегидро-3,4-дигидроарборесцин, 2β-гидроксиарборесцин, 2α-гидроксиарборесцин, 3-гидроперокси-4,5-дегидро-3,4- дигидроарборесцин, 3-гидрокси-4,5-дегидро-3,4-дигидроарборесцин, 3-оксо- 4,5-дегидро-3,4-дигидроарборесцин, 1α-гидрокси-4α-гидроперокси-11βH-гвайа- 2,10(14)-диен-6α,12-олид, 3α,4α-эпокси-11βH-гвайа-3,10(14)-диен-6α, 12-олид, 1α-гидрокси-5α, 11βH-гвайа-3,10(14)-диен-6α	[41, 112, 135, 158, 175]

продолжение таблицы 2

4	*A. santolinifolia* Turcz. ex Bess.	α-пинен, β-пинен, мирцен, α-фелландрен, β-фелландрен, α-терпинен, у-терпинен, α-терпинолен, α-туйен, камфен, сабинен, п-цимол, Δ^3-карен, 1,8-цинеол, ментол, терпинеол, терпинен-4-ол, 1,4-терпинеол, изоборнеол, неоментол, α-туйон, β-туйон, камфора, туйиловый спирт, борнеол, борнилацетат, иис-сабиненгидрат, сабинилацетат, цинеол, ацетат 8-оксонеролидола, линалоол-8-овая кислота, α-копаен, транс-кариофиллен, β-селинен, ar-куркумен, α-цингиберен, гермакрен D, аскаридол, ацетат 11-гидрокси-8-оксо-9,10-дегидронеролидола, ацетат бизаболола, таурин, l-кето-(бβ,7α,llβ)-эудесм-4-ен-6,12-олид	[40, 41, 59, 156, 164, 170]

Таким образом, компоненты эфирных масел полыней подсекции *Abrotanum* Bess. представлены соединениями, преимущественно относящимися к классу монотерпеноидов и сесквитерпеноидов.

Из метанольного экстракта *A. gmelinii* выделены хлорогеновая кислота, криптохлорогеновая кислота, лютеолин-7-О-глюкозид, апигенин-7-О-глюкозид, генкванин, геспиридин, 3'-гидрокси-генкванин, хризоэриол, апигенин, куматакенин, кверцетин, патулетин кверцетагетин- 3,6,7-триметиловый эфир и 7,3',4'-тригидрокси-3-метокси-флавон, гмелинин А и гмелинин В [179, 180]. Изучен состав липидной фракции *A. gmelinii* доминирующими жирными кислотами являются ненасыщенные – линолевая (до 18,1%), линоленовая (до 24,94%) и насыщенная – пальмитиновая (до 22,85%) кислоты, обнаружены витамин Е и фитостеролы: кампестерол, стигмастерол и β-ситостерол [138].

По мнению некоторых ученых такие виды, как *A. freyniana* и *A. messerschmidtiana* являются лишь экологическими расами полыни Гмелина, другие выделяют их в отдельные виды, третьи утверждают, что *A. freyniana* (Pamp.) Krasch. – синоним *A. messerschmidtiana* [24, 36, 52, 127].

Китайские ученые выделили из *A. freyniana* (Pamp.) Krasch. 2 новых бисесквитерпена и 21 известный сесквитерпен [160].

Из *A. messerschmidtiana* Bess. выделены метиловый эфир эскулина, дафнетин, 6-метиловый эфир эскулетина, диметиловый эфир дафнетина, эскулин, умбеллиферон, 7-метиловый эфир эскулетина, эскулетин, хернарин, диметиловый эфир эскулетина и кумарин, скополетин [12, 67]. *A. messerschmidtiana* является источником фосфора (1425 мг/кг), меди (675,5 мг/кг), марганца (825,3 мг/кг), титана (943,7 мг/кг), стронция (973,9 мг/кг), железа (3953 мг/кг), алюминия (10535 мг/кг) [67].

В полыни Адамса обнаружен фенилпропаноид (метилхавикол), кумарины (скополетин, О-метилскополетин, ди-О-диметилфраксетин), флавоноиды (эупафолин, яцеозидин) [41, 112, 135, 158, 175].

Эфирное масло и настой полыни крупноцветковой обладают антибактериальной активностью [116].

Большинство авторов признает видовую самостоятельность *A. santolinifolia* [113, 127]. Проведен сравнительный анализ эколого-фитоценотической характеристики, морфологических и микроскопических признаков, компонентного состава эфирных масел, в результате которого сделано заключение о выделении полыни сантолинолистной в ранг вида [68]. В 1995 году в листьях полыни сантолинолистной австрийские ученые выявили флавоноиды лютеолин, кверцетин, кверцетагенин [145]. Из корней *A. santolinifolia* алтайской популяции впервые выделено природное соединение (E)-3-(3,4-дигидроксибензилиден)-5-(3,4-дигидроксифенил)-2(3H)-фуранон, строение которого установлено масс-спектрометрией, одно- и двумерной ЯМР-спектроскопией.

A. santolinifolia содержит различные БАВ: стероиды – *β*-ситостерин [59], производные бензола: м-крезол, кумол [41, 170], фенолкарбоновые кислоты: кофейная, хлорогеновая [102], кумарины: скополин, умбеллиферон [8, 141], флавоноиды: лютеолин, рутин, кверцетин, кемпферол, аксилларин,

хризоспленетин, 3-O-β-D-глюкопиранозил-6-O-β-D-рамнопиранозидкемпферола, хризоспленол D, 7,3'диметиловый эфир кверцетина, 3-глюкозилгалактозид кверцетина [15, 102, 141, 145, 178].

Определены основные компоненты эфирного масла окинской популяции *A. santolinifolia*: камфора (10,9%), пресилфиперфолан-9α-ол (5,2%), борнеол (4%) [68]. В 1990 году группа ученых из Германии и Китая выделили из надземной части *A. santolinifolia* монгольской популяции 7 лактонов с новым углеродным скелетом, назваными сантолинифолид A, B, C, нор-сантолинидилактон A, B и нор-сантолинифолид A, B (рисунок 3) [167].

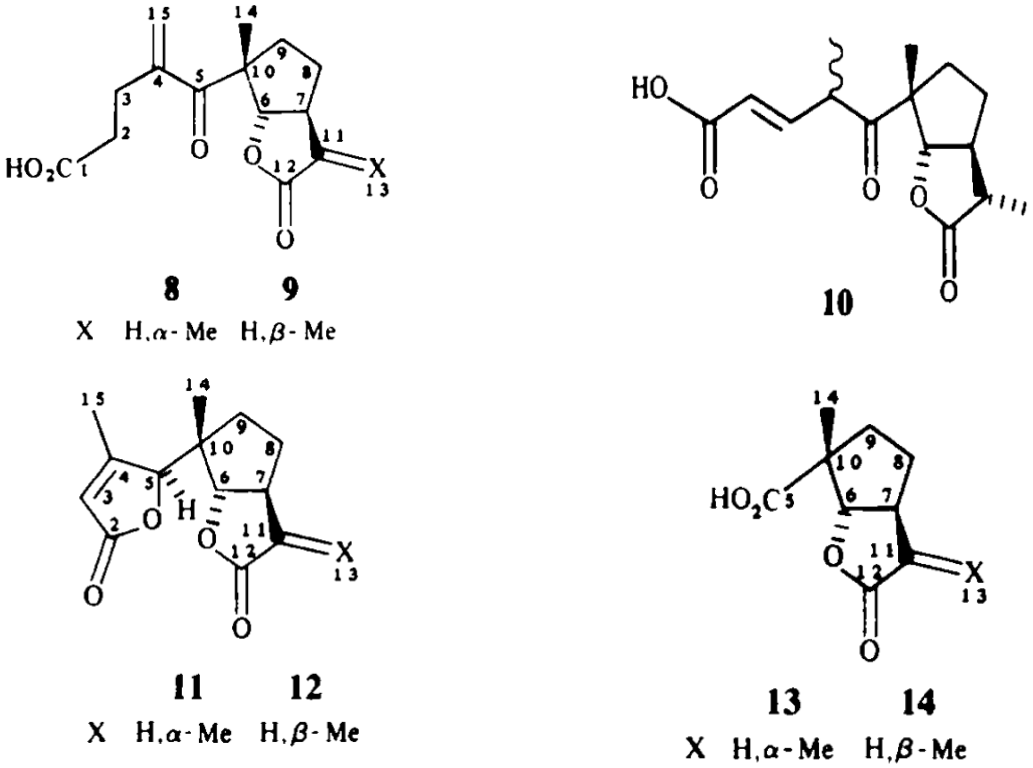


Рисунок 3 – лактоны *A. santolinifolia:* 8-сантолинифолид A, 9-сантолинифолид B, 10-сантолинифолид C, 11-нор-сантолинидилактон A, 12-нор-сантолинидилактон B, 13-нор-сантолинифолид A, 14-нор-сантолинифолид B.

1.3. Применение в медицине растений рода *Artemisia* L.

В связи с большим разнообразием БАВ, содержащихся в полынях, они широко применяются в традиционной и народной медицине. Используются в

виде сухого и свежего лекарственного растительного сырья, сока из свежесобранного сырья, в виде отваров, настоев, настоек, экстрактов (спиртовые и масляные). Галеновые препараты полыней применяются внутрь и наружно: в виде припарок, присыпок, для растираний, прижиганий (моксы), ванн, мазей.

Фармакологическая активность полыней обусловлена, в первую очередь, наличием эфирных масел [60, 88, 159]. Включая эфирные масла в общий терапевтический курс, можно успешно лечить заболевания верхних дыхательных путей, мочеполовой системы, желудочно-кишечного тракта, печени и т. д. (таблица 3).

Таблица 3 – Применение полыней в медицине

Вид полыни	Применение в медицине
A. absinthium, A. scoparia, A. annua, A. dracunculus, A. sieversiana, A. vulgaris, A. sericea, A. campestris и др.	При заболеваниях желудочно-кишечного тракта, в качестве аппетитного, улучшающего пищеварение, ранозаживляющего и болеутоляющего средства [9, 13, 18, 63, 104, 115, 131]
A. sieversiana, A. tilesii, A. messerschmidtiana, A. capillaris, A. gmelinii, A. fedii, A. scoparia, A. absinthium и др.	При заболеваниях печени (цирроз, гепатит хронический и острый, желчекаменная болезнь) в качестве желчегонного, гепатопротекторного, детоксикационного средства [10, 14, 46]
A. vulgaris, A. absinthium, A. abrotanum, A. argyi, A. capillaris, A. pontica, A. gmelinii, A. commutata, A. glabella, A. jacutica и др.	При опухолевых заболеваниях различных органов [61, 99, 150, 166]
A. vulgaris, A. scoparia, A. frigida, A. campestris, A. abrotanum, A. absinthium, A. palustris и др.	При туберкулезе различных органов [50, 51, 121, 123]
A. vulgaris, A. scoparia, A. abrotanum, A. campestris, A. frigida, A. pontica и др.	При заболеваниях ЦНС, в качестве седативного, противосудорожного средства [38, 68, 129, 148]
A. gmelinii, A. pontica, A. vulgaris, A. sieversiana, A. scoparia, A. santolinifolia, A. rubripes, A. dracunculus, A. capillaris, A. abrotanum	При гельминтозах [22, 68, 71, 90, 130]

продолжение таблицы 3

A. abrotanum, A. absinthium, A. campestris, A. dracunculus, A. frigida, A. integrifolia, A. messerschmidtiana, A. mongolica, A. montana, A. scoparia, A. tilesii, A. vulgaris и др.	При заболеваниях почек, мочевого пузыря и мочевыводящих путей, в качестве болеутоляющего, спазмолитического, мочегонного средства [50, 51, 121, 123]
A. absinthium, A. borealis, A. campestris, A. frigida, A. glauca, A. gmelinii, A. lagocephala, A. macrocephala, A. pontica, A. rupestris, A. santolinifolia, A. scoparia, A. sieversiana, A. stolonifera, A. tilesii, A. umbrosa, A. vulgaris	Как противовоспалительное, ранозаживляющее и болеутоляющее средство [45, 77]
A. abrotanum, A. absinthium, A. annua, A. campestris, A. capillaris, A. dracunculus, A. frigida, A. gmelinii, A. integrifolia, A. montana, A. palustris, A. santolinifolia, A. scoparia, A. sieversiana, A. stellariana, A. stolonifera, A. vulgaris и др.	При заболеваниях кожи (длительно незаживающие раны, ожоги, обморожения, экзема, пиодермия) [81, 115, 131]
A. annua, A. austriaca, A. capillaris, A. jacutica, A. japonica, A. messerschmidtiana, A. montana, A. vulgaris	При бактериальных и вирусных инфекциях [83, 143, 165, 176]

Из всего многообразия полыней Сибири только три вида – *A. absinthium* (сырьё, настойка, настойка гомеопатическая матричная), *A. abrotanum* (настойка гомеопатическая матричная), *A. vulgaris* (настойка гомеопатическая матричная) являются официнальными в РФ [44].

A. absinthium используется в официнальной практической и народной медицине многих стран мира как средство для повышения аппетита, усиливающее деятельность пищеварительных органов. Настойка полыни горькой обладает противовоспалительными свойствами, проявляет антистрессорное,

антитоксическое (при отравлении сулемой) действия. Спиртовый экстракт проявляет противосудорожные свойства, масляный экстракт – ранозаживляющие: способствует ускорению эпителизации, заживлению ран без плотных рубцов. Сок, настойка, CO_2-экстракт и эфирное масло обладают антибактериальной и антифунгальной активностями, сок и водный экстракт – антигельмитными свойствами, эфирный экстракт – противовирусным действием [114, 115, 118, 190, 195].

Надземная часть *A. vulgaris* обладает жаропонижающим, потогонным, антисептическим, седативным, противосудорожным, обезболивающим, повышающим аппетит действием [70, 85]. В народной медицине настой и отвар из надземной части используют при гипертонической болезни, атеросклерозе, болезнях сердца, малярии, болях в горле (припарки), анемии, болезнях печени, желчного пузыря, как диуретическое и общеукрепляющее средство [53, 112]. Настой используют при бронхоэктазе, туберкулезе легких, гипотонии и гипертонической болезни [112].

В тибетской медицине *A. vulgaris* применяется при пневмонии и бронхитах [69]. Полыни обыкновенной трава официнальна в Нидерландах, Франции, Швейцарии, Бразилии, Польше, корневища – в Норвегии [69, 112]. Входит в состав сбора по прописи М. Н. Здренко, применяемого как симптоматическое средство при некоторых злокачественных опухолях [69, 112].

A. abrotanum в народной медицине используют при мочекаменной болезни, опухоли желудка, печени и матки, болезнях легких, эпилепсии [53, 106, 107, 112]. Растение обладает протистоцидной и фитонцидной активностями, эфирное масло – антифунгальной и бактерицидной [69, 112].

Официнальные виды растений рода полынь используют в отечественной медицине для получения целого ряда лекарственных препаратов, которые введены в Государственный реестр лекарственных средств: «Полыни горькой трава», «Полыни обыкновенной трава (Чернобыльника)», «Горькая настойка» (полынь горькая), «Сбор для возбуждения аппетита» (полынь горькая),

«Витаон» (полынь горькая), «Аллергоид пыльцевой полыни горькой» (полынь горькая), «Аллерген из пыльцы полыни горькой для диагностики и лечения» (полынь горькая), «Экстракт травы полыни обыкновенной сухой», «Экстракт полыни сухой», «Беллавамен» (полыни горькой настойка), «Мерцана» (экстракт полыни горькой).

Импортные лекарственные средства на основе растений рода полынь представлены в виде лекарственных препаратов: «Полыни горькой трава», «Полыни горькой настойка», «Артехолин» (полынь высокая), «Мараславин» (полынь горькая), в виде гомеопатических препаратов (гомеопатических матричных субстанций-настоек): «Полынь высокая», «Полынь горькая», «Полынь однолетняя» [62, 109].

Имеются сведения о применении БАДов на основе полыней: «Амара-капли», «Ик-мау хоан» (жевательные шарики), «Палочки для опаливания», «Полынные сигары» [109, 120].

A. santolinifolia применяется в тибетской медицине как противоопухолевое и противовоспалительное средство [171]. В народной медицине используется при сердечных заболеваниях в виде настойки, а также при сибирской язве как сильное жаропонижающее средство [106]. Этанольный экстракт *A. santolinifolia* обладает гепатопротекторной и антиоксидантной активностями, а эфирные масла – бактерицидной [66].

A. subviscosa – малоизученное растение, рассматривалось как вариация *A. obtusiloba*, вариации которой широко используются в медицине, например, на основе *A. glabella* разработан препарат «Арглабин», рекомендуемый в качестве противоопухолевого средства [91].

Таким образом, установлено, что полыни обладают разносторонней биологической активностью по отношению к человеческому организму, популярны в народной и традиционной медицине и применяются для лечения широкого спектра заболеваний, а также в целях профилактики как тонизирующие и общеукрепляющие средства.

1.4. Лекарственная форма – настойки

Лекарственные средства из растительного сырья представлены широкой номенклатурой лекарственных форм, большую часть из которых занимают настойки и экстракты.

Настойки – жидкая лекарственная форма, представляющая собой окрашенные спиртовые или водно-спиртовые извлечения, полученные из высушенного или свежего лекарственного растительного сырья, сырья животного происхождения без нагревания и удаления экстрагента.

Настойки бывают простыми и сложными и разделяются на сильнодействующие и несильнодействующие.

Для получения настойки применяют мацерацию, перколяцию или другие валидированные методы, в качестве экстрагента используют спирт этиловый в различных концентрациях. Из одной массовой части лекарственного растительного сырья получают пять объемных частей настойки. Из одной массовой части лекарственного растительного сырья, содержащей алкалоиды и сердечные гликозиды – десять объемных частей, если нет других указаний в ФС или нормативных документах.

После завершения процесса экстрагирования настойки отстаивают в течение 2 суток при температуре не выше 8–10°С до получения прозрачной жидкости и фильтруют. В процессе хранения, допускается образование незначительного осадка балластных веществ, при условии отсутствия к нем биологически активных веществ, по которой осуществляется стандартизация [44].

Настойки широко применяются в лечебной практике как самостоятельные препараты для внутреннего и наружного применения, входят в состав микстур, капель мазей, пластырей.

Настойки из растительного сырья удобны для применения и хранения и их номенклатура превышает более 50 наименований, из них 9 получают из свежего сырья, 2 – из сырья животного происхождения.

Настойки обеспечивают высокий терапевтический эффект при минимально выраженных побочных явлениях, так как являются не индивидуальными веществами, а представляют собой комплекс действующих и других экстрактивных веществ более или менее сложного состава. Извлечения, содержащие комплекс веществ, часто действуют несколько иначе, чем отдельное химически чистое вещество, выделенное из него.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

Анализ литературы показал, что *A. subviscosa* – эндемик Прибайкалья, единственный вид подсекции *Obtusilobae* Ledeb., произрастающий в Бурятии. Недостаточно изучен компонентный состав эфирного масла полыни клейковатой, и фармакогностического анализа ранее не проводилось.

A. santolinifolia флоры Казахстана и Монголии содержит различные группы БАВ: флавоноиды, эфирные масла, лактоны, кумарины, фенолкарбоновые кислоты, органические кислоты, стероиды. Используется в народной и тибетской медицине как противовоспалительное, жаропонижающее, противоопухолевое, антиоксидантное, антигельминтное средство. Изучения данного вида флоры Бурятии также не проводилось.

Данные виды полыни перспективны для интродукции и могут расширить сырьевую базу официнальных лекарственных растений , поэтому фармакогностическое изучение *A. subviscosa* и *A. santolinifolia* с целью разработки нормативной документации и внедрения в практику научной медицины необходимо.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объекты исследований

Объектами исследования служили полыни клейковатой трава и полыни сантолинолистной трава, собранные в различных районах Республики Бурятии РФ, в период с 2015 по 2020 гг. в разные фазы вегетации, а также образцы данных видов, выращенные в условиях интродукции. Данные об объектах исследования и характеристика районов сбора представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика места сбора, даты сбора и фазу развития растения исследованных образцов на территории Республики Бурятия

№	Место сбора, дата сбора	Координаты
	Artemisiae subviscosae herba	
	Баргузинский район, с. Ярикта	
1	29.08.15 (фаза цветения)	N 53°54'50.5" E 109°59'30.6" h=500 м
2	03.06.17 (фаза начала вегетации)	
3	06.07.17 (фаза бутонизации)	
4	27.07.17 (фаза начала цветения)	
5	23.08.17 (фаза цветения)	
6	23.08.17 (фаза цветения)	
7	19.09.17 (фаза плодоношения)	
8	25.08.17 (фаза цветения)	
9	24.08.18 (фаза цветения)	
10	10.09.19 (фаза цветения, плодоношения)	
11	30.07.20 (фаза цветения)	
	Баргузинский район, с. Улюн	
12	29.08.15 (фаза цветения)	N 53°49'54.4" E 109°55'05.2" h=575 м
13	08.08.16 (фаза цветения)	
14	03.06.17 (фаза начала вегетации)	
15	06.07.17 (фаза бутонизации)	
16	27.07.17 (фаза начала цветения)	
17	23.08.17 (фаза цветения)	
18	25.08.17 (фаза цветения)	
19	24.08.18 (фаза цветения)	
20	30.07.20 (фаза цветения)	
	Artemisiae santolinifoliae herba	
	Окинский район	
1	с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 27.08.16 (фаза цветения)	N 52°13'40.7" E 109°57'07.3" h=1380 м
2	с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 07.08.17 (фаза бутонизации)	
3	с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 27.08.17 (фаза цветения)	
4	с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 02.10.17 (фаза плодоношения)	

продолжение таблицы 4

6	с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 23.07.19 (фаза бутонизации)	
7	с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 23.08.19 (фаза цветения)	
8	40 км от с. Орлик, водопад Сайлак, 27.08.19 (фаза цветения)	N 52°45'20.0" E 99°43'53.2" h=1380 м
Хоринский район		
9	с. Баянгол, 25.08.17 (фаза цветения)	N 52°34'45.2" E 109°45'19.1" h=857 м

2.2. Методы исследования

Методики фармакогностического анализа

Отбор проб растительного сырья проводили согласно методике ГФ XIV – ОФС 1.1.0006.15; определение макро- и микроскопических признаков проводили согласно ГФ XIV – ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы», ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [44]. Микроснимки получены на микровизоре μ-Vizo-101. Доброкачественность сырья определяли согласно методикам, указанным в ГФ XIV [44].

Методики химического анализа

Качественные реакции обнаружения групп БАВ

Для идентификации флавоноидов, кумаринов, сердечных гликозидов приготавливали спиртовые извлечения с 70%-ным этиловым спиртом (1:30), нагревали в течение 30 минут на водяной бане. Дубильные вещества, сапонины, полисахариды определяли в водных излечениях (1:10). Эфирные масла, жирные масла обнаруживали с помощью гистохимических реакций [47, 111, 56]. Терпеноиды - гидроксамовой пробой, с раствором ванилина в концентрированной серной кислоте [47]. Качественные реакции проводили по общепринятым методикам [47, 111, 56].

Обнаружение фенольных соединений методом ТСХ

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья, просеянного сквозь сито с отверстиями 2 мм, переносили в плоскодонную колбу с притертым шлифом

объемом 250 мл и добавили 50 мл 70%-ного этилового спирта. Колбу закрывали пробкой, взвешивали с погрешностью ±0,01 г, кипятили 1 ч. Колбу охлаждали, взвешивали и 70%-ным этиловым спиртом доводили массу колбы до первоначальной.

Приготовление стандартных растворов рутина, лютеолин-7-гликозида, хлорогеновой кислоты для ТСХ, ВЭЖХ-анализа

0,01 г СО растворяли в 10 мл 95%-ного этилового спирта в мерной колбе объемом 25 мл, доводили объем раствора до метки 95%-ного этилового спирта и перемешивали.

Для обнаружения соединений методом ТСХ использовали систему бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (4:1:2), с применением пластинок ПТСХ-ПА-УФ «Sorbfil». 10 мкл исследуеиого образца помещали на линию старта, хроматографировали в соответствующей системе параллельно с растворами СО. Хроматограммы высушивали на воздухе, отмечали наличие пятен в видимом и УФ-свете, обрабатывали 5%-ным раствором $AlCl_3$ в C_2H_5OH, высушивали, наблюдали пятна.

Качественный состав и количественное определение фенольных соединений методом ВЭЖХ-УФ

Идентификацию фенольных соединений проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Милихром А-02»(ЗАО «ЭКОНОВА», г. Новосибирск) с УФ-детектированием при аналитических длинах волн 210–300 нм. Растворы СО и растворы исследуемых образцов хроматографировали при одинаковых условиях. Идентифицировали разделенные вещества сравнением времени удерживания и спектрального отношения пиков исследуемого раствора со стандартами. Количественное содержание (%) рассчитывали по площадям пиков методом внешнего стандарта по формуле:

$$X = \frac{S_1 \times c_0 \times V_1 \times 100 \times 100}{S_0 \times V_0 \times a_1 \times (100 - W)},$$

где S_1 – площадь пика соответствующего компонента в испытуемом растворе; S_0 – площадь пика стандартного образца; c_0 – концентрация стандартного образца, г; V_0 – объем мерной колбы для разведения стандартного образца, мл; V_1 – объем мерной колбы для разведения испытуемого раствора; a_1 – масса навески сырья, г; W – влажность сырья, %.

Качественный состав и количественное содержание компонентов эфирного масла

Содержание эфирного масла определяли с использованием видоизмененной насадки Клевенджера в соответствии с ОФС.1.5.3.0010.15, метод 2 [44]. Анализ компонентов проводили методом хромато-масс-спектрометрии на газовом хроматографе Agilent 6890 с квадрупольным масс-спектрометром MSD 5973N в качестве детектора. Колонка HP-5MS. Газ-носитель – гелий (постоянный поток 1.0 мл/мин). Процентный состав смеси рассчитавали по площадям газо-хроматографических пиков. Качественный анализ основан на сравнении индексов удерживания и полных масс-спектров анализируемых компонентов с данными библиотеки хромато-масс-спектрометрических данных летучих веществ растительного происхождения Ткачева А. В.

Качественный состав и количественное содержание компонентов липидной фракции

Использовали модифицированный метод Блайя и Дайера для выделения липидных фракций [169]. Измельченное сырье (4,0 г) экстрагировали смесью хлороформ-метанол (1:2 по объему) (30 мл), гомогенизировали 15 мин на лабораторном шейкере. Полученную смесь профильтровывали, шрот снова гомогенизировали 30 мл смеси хлороформ-метанол (1:2) и 8 мл воды очищенной. Смесь профильтровали, промывали 15 мл смеси хлороформ-метанол (1:2). К объединенному извлечению приливали 25 мл хлороформа и 29 мл воды. Хлороформный слой, содержащий липиды, отделяли в делительной воронке, упаривали досуха на ротационном испарителе. Прибавляли2 мл HCl(2N) в CH_3OH и выдерживали в течение 2 часов при 90 ºС, охлаждали и трижды экстрагировали

гексаном. Состав липидной фракции исследовали методом ГХ-МС на AgilentPackard HP 6890 N с квадрупольным масс-спектрометром HP MSD 5973 в качестве детектора. Колонка HP-5MS. Газ-носитель – гелий (постоянный поток 1,0 40 мл/мин). Температура колонки: 125 ºС (изотерма 0,5 мин), 125–320 ºС (7 ºС/мин.), температура испарителя 280 ºС. Процентный состав жирных кислот вычисляли по площадям газо-хроматографических пиков.

Качественный анализ основан на сравнении времен удерживания и полных масс-спектров чистых соединений с использованием библиотеки данных NIST11 и стандартных смесей Bacterial Acid Methyl Esters (CP Mix, Supelco, Bellefonte, PA, USA) и Fatty Acid Methyl Esters (Supelko 37 comp. FAME Mix 10 mg/ml in CH_2Cl_2).

Количественное определение суммы флавоноидов методом УФ-спектрофотометрии

Приготовление раствора стандартного образца (СО) рутина. Около 0,01 г (точная навеска) СО рутина, высушенного при температуре 100–105 ^{0}С до постоянной массы, помещали в мерную колбу объемом 25 мл, добавляли 10 мл 96%-ного этанола, нагревали на водяной бане до растворения кристаллов, охлаждали, доводили объем 96%-ным этанолом до метки и перемешивали (раствор А СО рутина).

Приготовление раствора стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида. Около 0,01 г (точная навеска) СО лютеолин-7-гликозида, высушенного при температуре 100-105^{0}С до постоянной массы, помещали в мерную колбу объемом 25 мл, добавляли 10 мл 96%-ного этанола, нагревали на водяной бане до растворения кристаллов, охлаждали, доводили объем 96%-ным этанолом до метки и перемешивали (раствор А СО лютеолин-7-гликозида).

1 мл раствора А СО рутина (лютеолин-7-гликозида) помещали в мерную колбу на 25 мл, добавляли каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, 2 мл 2%-ного раствора $AlCl_3$ в C_2H_5OH, и доводили до метки 96%-ным этиловым спиртом, перемешивали (раствор Б СО рутина (лютеолин-7-гликозида)).

Около 1,0 г (точная навеска) сырья, с размером частиц, проходящих сквозь отверстия диаметром 1 мм, помещали в колбу с притертым шлифом объемом 250 мл и прибавляли 60 мл 70%-ного этанола. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и кипятили на водяной бане 30 мин. Горячее извлечение профильтровывали через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу объемом 100 мл, промывали 40 мл 70%-ного этанола, объём извлечения доводили до метки, взбалтывали (раствор А испытуемого раствора).

2,0 мл испытуемого раствора А, переносили в мерную колбу объемом 25 мл, добавляли 4 мл 2%-ного $AlCl_3$ в C_2H_5OH, 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30%, доводили объём раствора до метки 96%-этанолом и перемешивали (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряли через 30 мин при длине волны 410 (400) нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения - 2,0 мл испытуемого раствора А и 1 капля уксусной кислоты разведенной 30%, доведенные 96%-ным этанолом до метки в мерной колбе объемом25 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора Б СО рутина (лютеолин-7-гликозида). Раствор сравнения - 2,0 мл раствора А СО рутина (лютеолин-7-гликозида), 1 капли уксусной кислоты разведенной 30%, доведенные до метки 96%-ным этанолом до метки в мерной колбе объемом 25 мл [44].

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (лютеолин-7-гликозид) в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times b_1 \times V_0 \times V'_0 \times (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора Б СО; а – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО), г; b_0 – объем аликвоты раствора А СО, взятого для разведения (1 мл); b_1 – объем аликвоты раствора А испытуемого раствора, взятой для разведения (1 мл); V_0 – объем раствора А СО (25 мл); $V^{/}_0$ – объем раствора Б СО (25 мл); V_1 – объем раствора А испытуемого раствора (100 мл); V_2 – объем раствора Б испытуемого раствора (25 мл); W – влажность сырья, % [45].

Количественное определение суммы гидроксикоричных методом УФ-спектрофотометрии

Около 1,0 г измельченной пробы - 1 мм, помещали в плоскодонную колбу объемом 250 мл и прибавляли 50 мл 50%-ного этанола, нагревали на кипящей водяной бане 30 мин, извлечение охлаждали, фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу объемом 100 мл. К Шроту прибавляли 50 мл 50%-ного этанола, нагревали в течение 30 мин, раствор охлаждали, фильтровали через тот же фильтр в ту же колбу. В мерной колбе (50 мл) 0,5 мл объединенного извлечения доводили до метки 95%-ным этанолом, перемешивали. Оптическую плотность раствора определяли при длине волны 325 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – 95%-ный этанол [3,28,29].

Содержание суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A \times V_1 \times 100 \times 100}{m \times 504.425 \times V_2 \times (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г.; V_1 – объем колбы для разведения испытуемого раствора, мл (100 мл); V_2– объем аликвоты, мл (0,5 мл); W – потеря в массе при высушивании сырья, %; 504,425 – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты в 95% спирте при 325 нм [3,28,29].

Определение суммы дубильных веществ в пересчете на танин

Около 2 г (точная навеска), измельченной пробы - 3 мм, помещали в коническую колбу объемом 500 мл, добавляли 250 мл воды очищенной, температурой 100˚ С, экстрагировали 30 мин на водяной бане при периодическом помешивании. Извлечение охлаждали, фильтровали сквозь вату в мерную колбу объемом 250 мл, доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали. К 25,0 мл извлечения добавляли 500 мл воды, 25 мл индигосульфокислоты раствора и титровали калия перманганата раствором 0,02М до золотисто-желтого окрашивания.

Параллельно проводили контрольный опыт: в коническую колбу объемом 1000 мл приливали 525 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали калия перманганата раствором 0,02М до золотисто-желтого окрашивания. 1 мл калия перманганата раствора 0,02М соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчете на танин.

Содержание дубильных веществ (X, %) в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X=\frac{(V-V')*0.004157*250*100*100}{a*25*(100-W)}$$

где V – объем калия перманганата раствора 0,02М, израсходованного на титрование водного извлечения, мл; V' – объем калия перманганата раствора 0,02М, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл; 0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл калия перманганата раствора 0,02М (в пересчете на танин), г; а – навеска сырья, г; W – влажность лекарственного растительного сырья, %; 250 – общий объем водного извлечения, мл; 25 – объем водного извлечения, взятого для титрования, мл [44].

Определение содержания дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту методом спектрофотометрии

Около 2 г (точная навеска) измельченного сырья (3 мм), помещали в коническую колбу объемом 500 мл, добавляли 250 мл воды очищенной,

температурой 100 С, экстрагировали 30 мин на водяной бане при периодическом помешивании. Извлечение охлаждали, фильтровали сквозь вату в мерную колбу объемом 250 мл, доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали (раствор А). 3 мл извлечения переносили в мерную колбу объемом 50 мл и доводили раствор водой очищенной до метки (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б определяли при длине волны 277 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения - вода очищенная.

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A \times V_1 \times V_3 \times 100}{a \times V_2 \times 508 \times (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора; а – масса сырья, г.; V_1 – объем раствора А, мл (250 мл); V_2 – объем аликвоты, взятой для разведения, мл (3 мл); V_3 – объем раствора Б, мл (50 мл); W – потеря в массе при высушивании сырья, %; 508 – удельный показатель поглощения галловой кислоты при 277 нм [147].

Количественное определение аскорбиновой кислоты

Приготовление раствора СО аскорбиновой кислоты: около 0,05 г (точная навеска) СО аскорбиновой кислоты, высушенной до постоянной массы при температуре 100 ºС, растворяли в мерной колбе объемом 100 мл в 70 мл воды, доводили объем раствора до метки водой очищенной и перемешивали (раствор А). 5 мл раствора А переносили в мерную колбу объемом 100 мл, доводили объем раствора до метки водой очищенной и перемешивали (раствор Б СО аскорбиновой кислоты). Для проведения анализа растворы А и Б должны быть свежеприготовленными.

1,0 г измельченного сырья – 1 мм экстрагировали водой очищенной (1:25) 1 час на лабораторном встряхивателе. 10 мл извлечения помещали в мерную колбу объемом 50 мл, доводили до метки водой очищенной (раствор Б испытуемого раствора). Для приготовления растворов сравнения и СО по 5 мл воды и раствора

Б СО аскорбиновой кислоты переносили в две пробирки, добавляли реактив Фреде (5 мл) в каждую, нагревали 10 минут на водяной бане, после быстро охлаждали под струей холодной воды.

Определение содержания аскорбиновой кислоты осуществляли спектрофотометрическим методом при аналитической длине волны 825 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Расчеты проводили по формуле:

$$X=\frac{D*50*25*50*m'*5*100*100}{D'*m*5*5*100*100*(100-w)}$$

где: D – оптическая плотность испытуемого раствора; D' – оптическая плотность раствора Б СО аскорбиновой кислоты, m – навеска сырья, г, m' – навеска СО аскорбиновой кислоты, г, w-влажность, % [44].

Элементный состав

Образцы анализировали атомно-эмиссионным методом с индуктивно связанной плазмой (ICP) на спектрометре ProfilePlus после предварительного разложения объектов в микроволновой системе MARS 6 с использованием специальных сосудов из фторполимерных материалов XP-1500 Plus. При разложении образцов к 0,5 г воздушно-сухой биомассы, помещенной в тефлоновый сосуд, добавляли 10 мл концентрированной азотной кислоты, далее сосуды закрывали и помещали в микроволновую систему. Обработку реакторов проводили по стандартной программе для растительных образцов с автоматическим контролем температуры и давления (нагрева до температуры 200 °С – 15 минут, выдержка при 200 °С – 15 мин; давление при этом составило 2,96 Мпа). Макроэлементный состав и ртуть определяли на атомно-абсорбционном спектрометре Solaar 6 M (ThermoScientific, США), оснащенный электротермическим атомизатором FS90 и ртутно-гидридной приставкой VP-100.

Методика извлечения полисахаридных фракций

Низкомолекулярные сахара извлекали по методике [84]. 100 г измельченного сырья заливали 1000 мл воды очищенной, нагревали на водяной бане 1 час, профильтровывали через четыре слоя марли. Полученное извлечение упаривали под вакуумом до 20% от первоначального объема, осаждали трехкратным объемом 96% этанола, осадок центрифугировали, промывали 96%-ным этанолом, ацетоном, высушивали. 100 г воздушно-сухого шрота (шрот 1), оставшегося после определения ВРПС, трехкратно экстрагировали 70%-ным этанолом 1:10 на водяной бане, извлечение отфильтровывали. Высушенный шрот (шрот 2) использовали для получения ПВ. Трехкратно экстрагировали смесью кислот (0,5%-ный раствор кислоты щавелевой и аммония оксалата (1:1)) при 80-85°С. Объединенный фильтрат упаривали под вакуумом и осаждали пятикратным объемом этанола 96%. Осадок пектиновых веществ отфильтровывали, промывали этанолом 96 %, высушивали. Шрот сырья, оставшийся после выделения ПВ (шрот 3), использовали для получения Гц А и Б. К шроту прибавляли пятикратный объем 1%-ного водного раствора натрия гидроксида, настаивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Отфильтровывали через четыре слоя марли. К извлечению прибавляли два объема кислоты уксусной, выпавший осадок отфильтровывали. На фильтре оставался осадок Гц А. К фильтрату добавляли трехкратный объем этанола 96%, образовывался осадок Гц Б. Полученный осадок фильтровывали, промывали этанолом 96%, высушивали. Количественное содержание отдельных полисахаридных комплексов определяли после высушивания гравиметрическим методом.

Методы статистической обработки

Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [44]. Статистическая обработка результатов анализа проводилась при – n повторных анализов однородного материала, где:

n	- объем выборки;
x_i	- i-тая варианта (i-ое значений x)
$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$	- среднее выборки;
$f = n - 1$	- число степеней свободы;
S^2	- дисперсия;
$S = \sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{f}}$	- стандартное отклонение;
$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$	- стандартное отклонение среднего результата;
P	- доверительная вероятность;
t (P, f)	- критерий Стьюдента
Δx	- полуширина доверительного интервала величины;
$E_{отн} = \frac{\Delta x * 100}{\bar{x}}$	- относительная ошибка среднего результата

Валидацию аналитических методик количественного определения биологически активных веществ в объектах исследования проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [44,43].

ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ *ARTEMISIA SUBVISCOSA* И *ARTEMISIA SANTOLINIFOLIA*

3.1. Исследование биологически активных веществ *Artemisia subviscosa*

3.1.1. Исследование качественного состава БАВ с использованием качественных реакций и ТСХ

Обнаружение БАВ с помощью качественных реакций

Для идентификации биологически активных соединений были получены и исследованы водные и спиртовые извлечения *A.subviscosa herba*, собранной в Баргузинском районе Республики Бурятия в фазу цветения. По общепринятым методикам проведены качественные реакции. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты исследования биологически активных веществ в *A. subviscosae herba* качественными реакциями

Группа БАВ	Качественная реакция	Аналитический сигнал
Полисахариды	Осаждение спиртом 95%	Аморфный осадок
Жирные масла	Омыление по Розенталеру	Появление игольчатых кристаллов
Дубильные вещества	Реакция с железоаммониевыми квасцами	Черно-зеленое окрашивание (конденсированная группа)
	Реакция с бромной водой	Образование осадка
	Реакция Стиасни	Выпадение осадка
	Осаждение 1% р-ром желатина в р-ре натрия хлорида	Появление мути
Сапонины	Реакция пенообразования	Образование пены (тритерпеновые сапонины)
	Реакция со свинца ацетатом раствором 10%	Образование белого осадка
Флавоноиды	Цианидиновая проба	Красное окрашивание
	Реакция со свинца ацетата основным раствором 10%	Желтый осадок
	Реакция с алюминия хлоридом спиртовым раствором 3 %	Лимонно-желтое окрашивани
Кумарины	Лактонная проба	Осадок
	Микросублимация	Наличие сублимата в виде желтых капель, фиолетовая флуоресценция
	Реакция с диазореактивом	Красно-вишневое окрашивание

продолжение таблицы 5

Эфирные масла	Реакция с раствором Судана III	Оранжево-красное окрашивание
	Реакция с метиленовым синим	Синее окрашивание
Антраценпроизводные	Микросублимация	Отсутствие окрашивания
Сердечные гликозиды	Реакция ЛиберманаБурхарда	Отсутствие окрашивания
	Реакция Келлер-Килиани	Отсутствие окрашивания
Алкалоиды	Реакция с общеалкалоиднымиреактивыми (реактивы Бушарда, Вагнера, Драгендорфа, 1% р-р кремневольфрамовой к-ты, 10% р-р танина)	Отсутствие осадка

В результате аналитических реакций были обнаружены полисахариды, дубильные вещества, сапонины, флавоноиды, кумарины; гистохимическими реакциями – эфирные масла, микрохимическими – жирные масла. Антраценпроизводные, сердечные гликозиды и алкалоиды не найдены.

Обнаружение БАВ методом ТСХ

Обнаружение проводили согласно методике, указанной в главе 2, п. 2.2.. На хроматограмме испытуемого раствора на белом фоне видели зону адсорбции коричнего цвета (Rf= 0,75±0,02) на уровне зоны раствора СО лютеолин-7-гликозида и зону адсорбции голубого цвета на уровне зоны СО хлорогеновой кислоты (Rf – 0,56±0,02).

Обнаружение БАВ методом ВЭЖХ-УФ

Фенольные соединения идентифицировали методом ВЭЖХ-УФ в 70% спиртовых извлечениях *A. subviscosae herba* (1:50), согласно методике (глава 2, п. п. 2.2.) (рисунок 4-8).

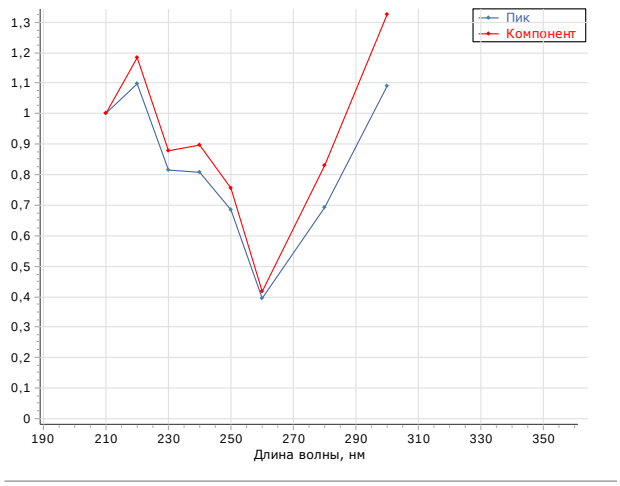


Рисунок 4 – спектр СО хлорогеновой кислоты и спиртового извлечения *A. subviscosae herba*

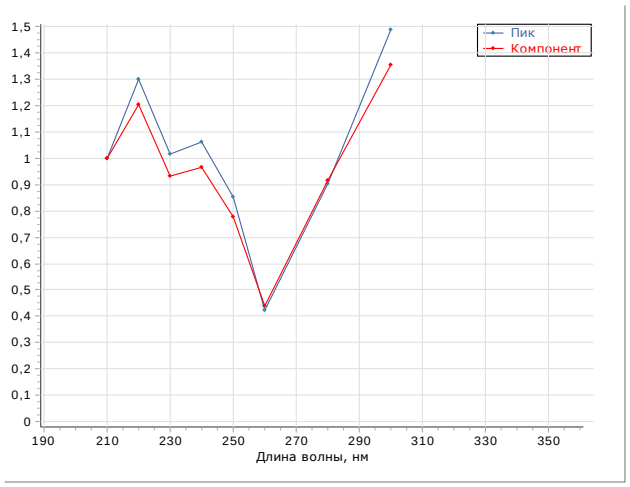


Рисунок 5 – спектр СО кофейной кислоты и спиртового извлечения *A. subviscosae herba*

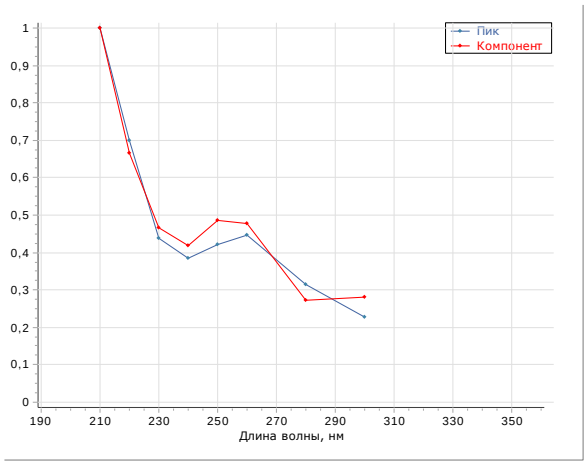


Рисунок 6 – спектр СО лютеолина и спиртового извлечения *A. subviscosae herba*

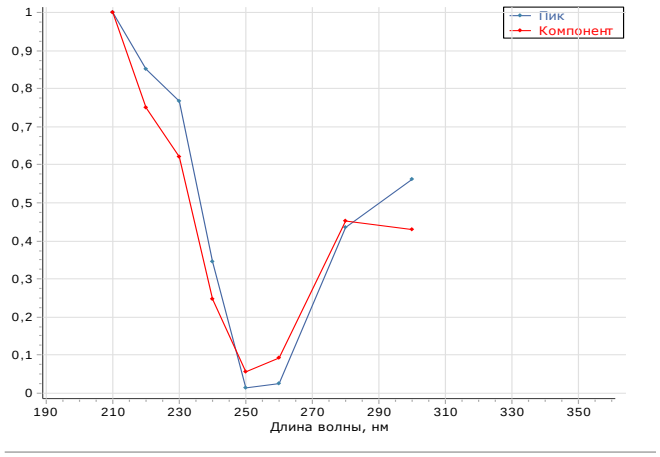


Рисунок 7 – спектр СО дигидрокверцетина и спиртового извлечения *A. subviscosae herba*

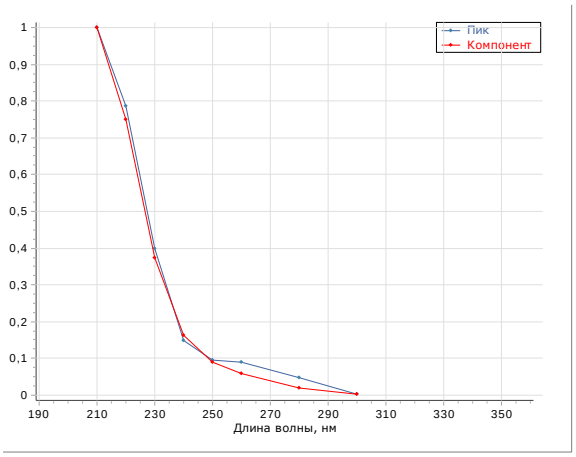


Рисунок 8 – спектр СО изоалантолактона и спиртового извлечения *A. subviscosae herba*

В результате анализа в водно-спиртовом извлечении *A. subviscosae herba* обнаружены хлорогеновая кислота, кофейная кислота, лютеолин, дигидрокверцетин, изоалантолактон.

3.1.2. Получение и исследование компонентного состава эфирных масел

Эфирные масла получены методом гидродистилляции согласно ГФ XIV, представляют собой легкоподвижные жидкости желтого цвета. Компонентный состав исследовали методом хромато-масс-спектрометрии согласно методике описанной в главе 2 п. п. 2.2.

Исследование качественного состава эфирных масел

Изучен компонентный состав эфирного масла *A. subviscosa* в зависимости от фазы вегетации и морфологической части (таблица 6).

Таблица 6 – Компонентный состав эфирного масла *A. subviscosa* в зависимости от фазы вегетации и морфологической части растения*

Компоненты	RI	Морфологическая часть**			Фаза развития растения**			
		Л	С	Цв	В	Б	Цв	Пл
Монотерпеноиды								
Сантолина-триен	908	16,28	2,87	33,15	2,40	12,47	17.5	6,92
β-Мирцен	991	0,42	+	2,71	0,28+	1,12	+	+
1,8-Цинеол	1031	0,38	0,13	1,20	0,40	0,85	1,18	+
Σ монотерпеноидов		17,05	3,00	37,06	3,08	14,44	18,68	6,92
Сесквитерпеноиды								
Моноциклические сесквитерпеноиды								
Δ-Элемен	1338	+	0,85	+	0,96	0,15	1,69	0,52
β -Элемен	1392	0,56	0,68	1,70	0,69	0,22	2,93	2,08
ГермакренD	1484	2,13	2,25	4,60	3,45	1,48	7,46	4,12
β-Селинен	1488	9,28	8,69	6,35	6,91	8,06	7,82	6,77
α-Селинен	1496	8,62	7,08	6,36	8,61	7,12	8,11	7,08
α-Бульнесен	1508	1,86	2,00	2,04	2,30	1,86	2,65	2,30
γ-Кадинен	1517	1,17	1,31	0,90	1,29	1,24	1,23	1,13
δ-Кадинен	1527	1,88	2,21	1,91	2,90	2,80	2,92	2,43
Кариофиллен оксид	1586	9,68	9,94	2,13	5,60	4,52	3,10	4,64
Σ моноциклических сесквитерпеноидов		35,18	35,01	25,99	32,71	27,45	37,91	31,07
Бициклические сесквитерпеноиды								
α-Кубебен	1351	0,23	0,95	0,30	0,18	0,36	0,30	+
Кариофиллен	1422	15,35	12,07	11,56	11,83	16,14	15,64	8,60
α-Гвайен	1441	0,40	0,28	0,43	+	+	0,47	+
Гумулен	1456	1,05	0,67	0,82	1,04	1,10	1,35	0,75

продолжение таблицы 6

Аристолен-4,5-ди-эпи	1470	0,41	-	0,32	0,39	0,40	0,53	-
γ-Мууролен	1471	+	+	3,00	3,30	3,77	4,03	2,96
Селина-4,11-диен	1477	3,64	3,34	+	-	+	0,50	-
Ацифиллен	1500	3,16	2,75	2,83	2,78	2,49	2,77	2,64
Гвай-6,10(14)-диен-4-β-ол	1632	2,19	10,22	0,96	-	+	1,67	2,13
Т-мууролол	1644	0,52	0,35	0,52	1,05	0,89	0,62	0,91
Ацифилловый спирт	1773	0,49	2,43	0,50	0,83		+	1,03
Ацифилловая кислота	1879	8,70	10,54	6,50	24,41	6,15	4,45	29,70
Σ бициклических сесквитерпеноидов		36,14	43,60	27,74	45,81	31,30	32,33	48,72
Трициклические сесквитерпеноиды								
α-Копаен	1378	1,24	+	1,02	0,88	0,96	1,13	0,80
Спатчуленол	1580	2,03	3,69	0,93	1,74	1,75	1,23	2,06
Глобулол	1587	0,74	1,57	0,46	-	2,47	0,67	3,74
Σ трициклических сесквитерпеноидов		4,01	5,26	2,41	2,62	5,18	3,03	6,60

* Примечание: в таблице приведены только те компоненты, содержание которых ≥ 0,10%. Знак «+» означает, что содержание компонента менее 0,1%. **Л – листья, Ст – стебли, Цв – соцветия; Вег – начало вегетации, Бут – бутонизация, Цв – цветение, Пл – плодоношение.

В эфирных маслах идентифицировано более 70 компонентов, представленных главным образом моно- и сесквитерпеновыми соединениями.

Монотерпеновые соединения в основном накапливаются в соцветиях (37,06%): ациклические – сантолина-триен (33,15%) и β-мирцен (2,71%), моноциклические – 1,8-цинеол (1,2%).

При изучении динамики накопления данного класса соединений, наблюдается увеличение их содержания к фазе цветения (18,68%) и резкое уменьшение в фазу плодоношения (6,92%). Наибольшее содержание моноциклических сесквитерпеноидов отмечено в фазе цветения (37,91%), главным образом они кумулируются в листьях (35,18%) и стеблях (35,01%). Такие как В-селинен (9,28%), α-селинен (8,62%) преимущественно содержатся в листьях, γ-кадинен (1,31%), δ-кадинен (2,21%), кариофиллена оксид (9,94%) – в стеблях (35,01%), в цветках обнаружено наибольшее содержание β-элемена (1,7%) и гермакрена D (4,6%).

Сумма бициклических сесквитерпеноидов обнаружена более в стеблях (43,6%), их наибольшее содержание по сравнению с другими органами приходится на: *α*-кубебен (0,95%), гвай-6,10(14)-диен-4-β-ол (10,22%), ацифилловый спирт (2,43%), ацифилловую кислоту (10,54%). Из полученных данных установлено, что содержание кариофиллена (15,35%), гумулена (1,05%), ацифиллена (3,16%) больше в листьях. Накопление бициклических сесквитерпеноидов выявлено в фазах вегетации (45,81%) и плодоношения (48,72%). Трициклические сесквитерпеноиды в большей степени содержат стебли (5,26%), накопление свойственно фазам бутонизации (5,18%) и плодоношения (6,6%).

Таким образом, установлено, что доминирующими компонентами эфирного масла *A. subviscosae herba* во всех образцах являются: ациклический монотерпеноид сантолина-триен (до 33,15%); моноциклические сесквитерпеноиды: гермакрен D (до 7,46%), *β*-элемен (до 2,93%), β-селинен (до 9,28%), α-селинен (до 8,62%), α-бульнесен (до 2,65%), δ-кадинен (до 2,92%), кариофиллен оксид (до 9,94%); бициклические сесквитерпеноиды: кариофиллен (до 16,14%), γ-мууролен (до 4,03%), ацифиллен (до 3,16%), ацифилловая кислота (до 29,7%).

Динамика накопления эфирных масел A. subviscosa
по органам и фазам вегетации растения

Для определения сроков сбора сырья необходимо установить в какую фенологическую фазу накапливается наибольшее количество эфирных масел. Эфирное масло выделено из образцов, собранных в окрестностях с. Улюн и с. Ярикта Баргузинского района в 2017 г. в разные фазы вегетации растения. Результаты выхода эфирного масла представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Выход эфирного масла в зависимости от фазы вегетации, % (в пересчете на а.с.с)

Место сбора	Фаза развития растения			
	вегетация	бутонизация	цветение	плодоношение
с. Улюн	0,34%	0,36%	0,37%	0,36%
с. Ярикта	0,36%	0,70%	0,74%	0,36%

Наибольший выход эфирного масла наблюдается в образца, собранных в фазу цветения – до 0,74%.

Так как эфирномасличные вместилища локализуются во всех морфологических частях *A. subviscosa,* необходимо определить, где происходит наибольшее накопление эфирных масел. Изучена динамика накопления эфирного масла в разных частях растения (рисунок 9).

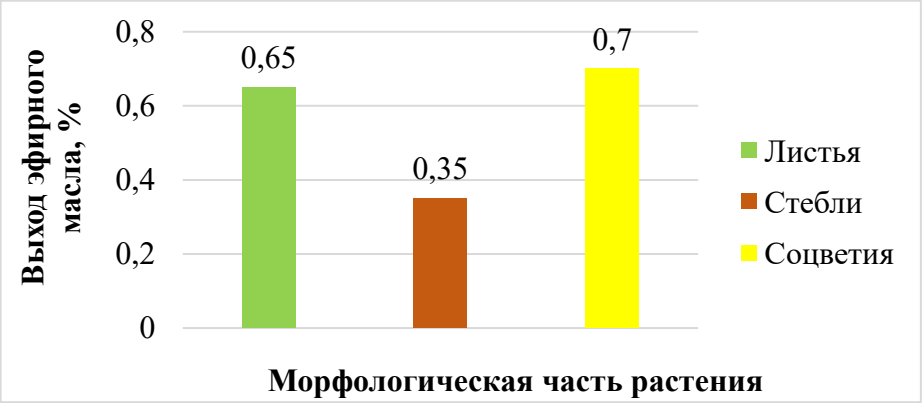


Рисунок 9 – Динамика накопления эфирного масла в различных морфологических частях растения, % (в пересчете на а.с.с)

Исследование динамики накопления показало, что содержание эфирного масла максимально в фазу цветения, присутствует во всех органах растения, но его распределение неравномерное: наибольшее количество эфирного масла накапливается в соцветиях – 0,70% и листьях – 0,65%, в стеблях – 0,35%. Таким образом, производится сбор всей надземной части растения, оптимальный срок сбора сырья – фаза цветения.

Определение количественного содержания и компонентного состава эфирного масла в зависимости от места и года сбора

Образцы надземной части растений были собраны в 2015–2020 гг. во время цветения в местах естественного произрастания на территории Баргузинского района Республики Бурятия. Выделены эфирные масла желтого цвета. Выход масла варьирует от 0,30 до 1,05% (таблица 8).

Таблица 8 – Выход эфирного масла *A. subviscosae herba* в зависимости от места и года сбора

№	Место, дата сбора	Выход масла, %
1	Баргузинский район, с. Улюн, 29.08.15	0,35
2	Баргузинский район, с. Ярикта, 30.08.15	0,35
3	Баргузинский район, с. Улюн, 08.08.16	0,37
4	Баргузинский район, с. Ярикта, 08.08.16	0,35
5	Баргузинский район, с. Улюн, 23.08.17	0,35
6	Баргузинский район, с. Ярикта, 23.08.17	0,70
7	Баргузинский район, с. Ярикта, 24.08.18	0,35
8	Баргузинский район, с. Ярикта, 02.09.19	1,05
9	Баргузинский район, с. Улюн, 25.07.20	0,30
10	Баргузинский район, с. Ярикта, 25.07.20	0,40

Из данных таблицы 5 видно, что выход эфирных масел из сырья, собранного в с. Ярикта выше, чем в с. Улюн.

Для выявления динамики накопления эфирного масла *A. subviscosae herba* в зависимости от места и года сбора, нами также были рассмотрены влияние погодных условий и температуры, был вычислен гидротермический коэффициент экстремальности ($K_{экстр}$) [60, 126]. Коэффициент экстремальности – отношение средней температуры (t ^{0}C) месяцев вегетации до сбора (май–август) к среднему количеству осадков выпавших в эти месяцы (мм). Данные температуры и количества выпавших осадков летом 2015–2020 года в местах прозрастания *A. subviscosa* представлены в таблице 9.

Таблица 9. Средняя температура, среднее количество выпавших осадков за май–август, коэффициент экстремальности и выход эфирного масла *A. subviscosae herba*

Год сбора	Выход эфирного масла, % (а.с.с.)	Средняя температура с мая по август, t ^{0}C	Среднее количество выпавших осадков с мая по август, мм	$K_{экстр}$
Ярикта				
2015	0,35	28,50	91,75	0,31
2016	0,35	22,60	76,00	0,31
2017	0,70	35,30	53,50	0,66
2018	0,35	29,00	105,75	0,27
2019	1,05	26,75	38,25	0,70
2020	0,40	24,30	79,70	0,30
Улюн				
2015	0,35	26,75	83,00	0,32
2016	0,37	25,50	67,30	0,37
2017	0,35	26,00	68,50	0,35
2020	0,30	26,00	102,00	0,25

Исходя из данных таблицы 6, можно наблюдать положительную корреляцию между выходом эфирного масла и коэффициентом экстремальности. Так, в 2019 году было мало дождей и много солнечных дней, $K_{экстр}$ составил 0,70, выход эфирных масел – 1,05%, в 2017 году было жаркое сухое лето, что также отразилось на содержании масел – 0,70%. В Улюне высокий коэффициент экстремальности отмечен в 2016 году, выход эфирных масел – 0,37. Содержание эфирных масел в *A. subviscosa* зависит в большей степени от количества выпавших осадков, чем от среднемесячной температуры.

Рассмотрим компонентный состав эфирных масел *A. subviscosae herba* в зависимости от места и года сбора (таблица 10).

Таблица 10 – Компонентный состав эфирных масел *A. subviscosae herba* в зависимости от места и года сбора, % в пересчете на а.с.с.

Компоненты	RI	Улюн				Ярикта					
		2015	2016	2017	2020	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Монотерпеноиды											
Сантолина-триен	908	20,70	9,52	14,00	3,15	16,60	31,12	17,50	3,31	4,20	3,24
β-Мирцен	991	+	0,21	+	+	0,30	+	+	+	+	+
1,8-Цинеол	1031	+	0,60	1,23	+	+	+	1,18	+	0,27	+
Σ монотерпеноидов		20,70	10,33	15,23	3,15	16,90	31,12	18,68	3,31	4,47	3,24
Сесквитерпеноиды											
Моноциклические сесквитерпеноиды											
Δ-Элемен	1338	0,45	0,86	0,23	1,21	0,50	0,33	1,69	+	0,40	5,44
β -Элемен	1392	0,46	+	0,55	0,66	0,59	3,15	2,93	+	0,92	1,78
ГермакренD	1484	10,25	8,23	2,36	7,50	4,51	7,51	7,46	+	2,95	10,30
β-Селинен	1488	10,21	9,94	7,62	6,78	9,78	7,39	7,82	10,08	11,09	6,13
α-Селинен	1496	3,64	9,13	7,00	8,25	4,82	7,27	8,11	9,57	8,37	9,51
α-Бульнесен	1508	0,55	3,30	1,97	2,06	2,41	2,51	2,65	2,72	2,94	2,06
γ-Кадинен	1517	0,21	1,36	1,03	0,82	0,98	0,91	1,23	2,38	1,42	1,10
δ-Кадинен	1527	+	3,14	2,32	2,45	4,10	2,12	2,92	6,20	2,93	2,72
Кариофиллен оксид	1586	2,28	4,74	4,61	4,37	3,85	3,77	3,10	5,06	10,03	4,09
Σ моноциклических сесквитерпеноидов		28,05	40,70	27,69	34,1	31,54	34,96	37,91	36,01	41,05	43,13
Бициклические сесквитерпеноиды											
α-Кубебен	1351	0,15	0,25	+	0,20	0,12	0,15	0,30	0,20	0,25	0,12
Кариофиллен	1422	8,35	14,54	10,22	8,22	15,50	13,00	15,64	7,51	7,88	10,10
α-Гвайен	1441	0,25	0,44	0,31	0,24	0,28	0,21	0,47	0,26	0,30	0,22
Гумулен	1456	0,56	1,25	0,71	0,69	0,56	0,86	1,35	+	2,94	0,71
Аристолен-4,5-ди-эпи	1470	+	0,53	0,36	+	0,34	0,28	0,53	+	+	+
γ-Мууролен	1471	+	4,33	+	+	+	+	4,03	5,46	+	3,30
Селина-4,11-диен	1477	2,15	0,55	3,18	1,50	3,30	3,17	0,50	0,40	+	1,26
Ацифиллен	1500	+	3,57	2,69	2,54	+	2,83	2,77	4,14	2,79	2,10
Гвай-6,10(14)-диен-4-β-ол	1632	+	+	+	+	1,33	1,19	1,67	+	+	5,66

продолжение таблицы 10

Т-мууролол	1644	0,81	0,70	0,80	0,56	0,65	1,60	0,62	1,70	0,70	+
Ацифилловый спирт	1773	+	0,87	0,97	0,83	+	+	+	2,90	+	2,38
Ацифилловая кислота	1879	+	6,70	21,86	20,23	+	1,46	4,45	23,60	22,85	21,35
Σ бициклических сесквитерпеноидов		12,27	38,61	41,10	35,01	22,08	24,75	32,33	46,17	37,71	47,2
Трициклические сесквитерпеноиды											
α-Копаен	1378	0,67	1,12	0,90	0,41	0,22	0,88	1,13	0,54	0,53	0,22
Спатчуленол	1580	2,16	1,23	1,87	1,96	0,84	1,82	1,23	2,44	4,24	2,02
Глобулол	1587	0,35	0,76	0,97	0,84	+	0,32	0,67	1,50	+	+
Σ трициклических сесквитерпеноидов		3,18	2,43	3,74	2,45	1,06	3,02	3,03	4,48	4,77	2,24

* Примечание: в таблице приведены только те компоненты, содержание которых ≥ 0,10%. Знак «+» означает, что содержание компонента менее 0,10%.

Сантолина-триен накапливается в меньшей степени в годы с наименьшим показателем $К_{экстр.}$ (2020 г – Улюн и 2018 г. – Ярикта), также во всех образцах прослеживается отрицательная корреляция между содержанием сантолина-триена и ацифилловой кислоты.

Во всех образцах вне зависимости от $К_{экстр.}$ преобладают моно- и бициклические сесквитерпеноиды. Доминирующими компонентами независимо от года и места сбора являются следующие компоненты: сантолина-триен, гермакрен D, *β*-селинен, *α*-селинен, *α*-бульнесен, δ-кадинен, кариофиллен оксид, кариофиллен, *γ*-мууролен, ацифиллен, ацифилловая кислота, спатуленол.

3.1.3. Исследование жирнокислотного состава

Липидные фракции из *A. subviscosae herba*, собранной в разные фазы развития растения получали модифицированным методом Блайя-Дайера, жирнокислотный состав исследовали методом ГХ-МС (рисунок 10).

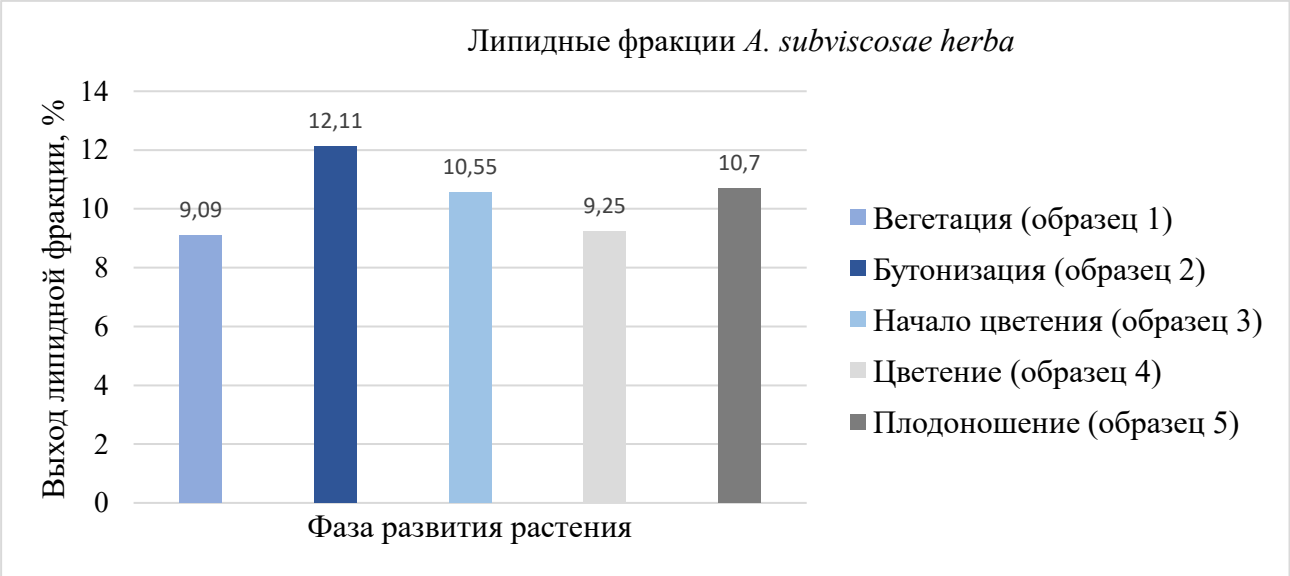


Рисунок 10 – Выход липидных фракций в зависимости от фазы развития растения, %

Наибольший выход липидов отмечен в фазе бутонизации, содержание данной группы БАВ в фазах начала цветения и плодоношения почти одинаковы, наименьшее количество отмечено в фазу вегетации. Жирнокислотный состав полученных липидных фракций представлен в таблице 11.

Таблица 11 – Жирнокислотный состав *A. subviscosae herba*, в % от суммы компонентов

№	Тривиальное название	ИЮПАК	1	2	3	4	5
Насыщенные жирные кислоты							
1	Каприновая кислота	10:0	-	-	-	1,77	-
2	Додекановая кислота	12:0	2,57	1,28	-	1,72	-
3	Тридекановая кислота	13:0	-	1,35	-		-
4	Миристиновая кислота	14:0	3,62	1,80	2,05	2,48	3,15
5	13-метил тетрадекановая	i15:0n13	19,71	13,18	12,93	-	1,73
6	12-метил тетрадекановая кислота	a-15:0	11,21	7,61	6,24	4,96	6,40
7	Пентадекановая кислота	15:0	3,05	2,00	2,24	2,27	-
8	Пальмитиновая кислота	16:0	6,75	8,32	6,11	9,22	5,63
9	Изо-маргариновая кислота	i17:0	-	-	1,70	-	4,32
10	Маргариновая кислота	17:0	-	2,96	5,37	3,88	8,69
11	Стеариновая кислота	18:0	6,37	3,82	5,61	4,51	7,42
12	Нонадекановая кислота	19:0	3,98	3,96	5,51	5,61	11,43
13	Арахиновая кислота	20:0	-	1,44	1,74	2,23	-
14	Генейкозановая кислота	21:0	-	1,26	-	1,72	-
15	Бегеновая кислота	22:0	2,31	2,00	1,94	2,71	-
16	Трикозановая кислота	23:0	-	1,32	1,95	1,84	-
17	Лигноцериновая кислота	24:0	-	2,31	2,11	3,38	-
18	Церотиновая кислота	26:0	-	1,76	2,56	2,72	5,43
19	Гептаказановая кислота	27:0	-	2,00	-	2,93	-
20	Монтановая кислота	28:0	-		-	3.09	-
Σ насыщенных жирных кислот			59,57	58,37	58,06	57,20	54,20
Ненасыщенные жирные кислоты							
21	Миристолеиновая кислота	14:1	-	1,37	-	-	-
22	Пальмитолеиновая кислота	cis15:1n10	25,27	12,47	16,78	6,79	10,16
23	7-гексадеценовая кислота	16:1n9	3,15	1,91	2,14	1,66	
24	*цис*-10-гептадеценовая кислота	17:1n10	-	2,92	5,31	3,21	10,49
25	Линолевая кислота	18:2ω6	3,98	7,92	6,10	14,63	7,67
26	Олеиновая кислота	18:1ω9 cis	5,15	10,32	7,03	10,87	10,33
27	Элаидиновая кислота	18:1ω9trans	2,75	1,89	4,65	2,73	6,88
28	Эйкозадиеновая кислота	20:2 ω6	-	1,25	-	1,23	-
29	Гондоиновая кислота	20:1ω9	-	1,27	-	1,66	-
Σ ненасыщенных жирныхкислот			40,43	41,63	41,94	42,80	45,80

Было идентифицировано 29 жирных кислот: в составе насыщенных жирных кислот (НЖК) 20 кислот, наибольшее содержание которых приходится на пальмитиновую (5,63–9,22%), 13-метил тетрадекановую (1,73–19,71%) и 12-метил тетрадекановую (4,96–11,21%).

В составе ненасыщенных (ННЖК) идентифицированы 9 жирных кислот: моноеновые (миристолеиновая, пальмитолеиновая, 7-гексадеценовая, цис-10-гептадеценовая, олеиновая, элаидиновая, гондоиновая) и диеновые

(линолевая и эйкозадиеновая). Во всех образцах преобладают пальмитолеиновая (6,79–25,27%), линолевая (3,98–14,63%) и олеиновая (5,15–10,87%) кислоты. Причем, ненасыщенные жирные кислоты (ННЖК) представляют собой мононенасыщенные (МНЖК) и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) и их суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот составило 40,43–45,80%.

Выявлена зависимость накопления ННЖК по коэффициенту ненасыщенности жирных кислот (К) – отношение суммы ненасыщенных ЖК к сумме насыщенных от температуры окружающей среды при сборе *A. subviscosae herba* (таблица 12)

Таблица 12 – Средняя температура при сборе *A. subviscosae herba* и коэффициент ненасыщенности жирных кислот

Образец	Средняя температура днём/ночью (с Ярикта, 2017 г.), °С	К
1	+19/+4	0,70
2	+25/+9	0,71
3	+25/+9	0,72
4	+17/+11	0,75
5	+12/+0	0,85

Разница температур менее, чем в 6°С не дает существенного изменения коэффициента ненасыщенности жирных кислот, изменения происходят при разнице более 8°С. Исходя из данных таблицы 9 видно, что при понижении температуры окружающей среды происходит усиление синтеза ННЖК.

Наибольшее накопление МНЖК (38,13%) происходит в фазе плодоношения, наименьшее-фазе цветения (25,28%), но содержание ПНЖК имеет наименьшее значение в фазе вегетации (3,98%) и наибольшее – цветения (15,95%). Во всех образцах сумма НЖК несущественно превышает сумму ННЖК, при этом можно заметить закономерность уменьшения доли НЖК от фазы бутонизации к фазе плодоношения и роста доли ННЖК к фазе плодоношения.

Таким образом, в составе липидной фракции *A. subviscosae herba* обнаружены насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, среди которых преобладают: пальмитиновая, 13-метил тетрадекановая, 12-метил тетрадекановая, пальмитолеиновая, линолевая и олеиновая кислоты. Известно, что линолевая и

олеиновая являются важнейшими биоэффекторами, регулирующими внутриклеточные биологические реакции и физиологические процессы, происходящие в организме [54]. 18:2ω6 обладает высокой антиоксидантной активностью [49, 117].

3.1.4. Получение и исследование углеводного состава

Было проведено изучение полисахаридного комплекса, обладающей фармакологической активностью. Методом последовательной экстракции и осаждения спиртом этиловым из шрота надземной части *A. subviscosa* были получены 4 полисахаридные фракции: водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлоза А и Б, их количественное содержание определено после высушивания гравиметрическим методом (таблица 13).

Таблица 13 – Выход и описание полисахаридных фракций *A. subviscosae herba*

Компонент	Описание	Выход, %
Водорастворимые полисахариды	Аморфный порошок желтовато-серогоцвета	4,04±0,35
Пектиновые вещества	Аморфный порошок серого цвета	5,37±0,22
Гемицеллюлоза А	Аморфный порошок серо-коричневого цвета	2,82±0,26
Гемицеллюлоза Б	Аморфный порошок серо-коричневого цвета	3,16±0,18

В углеводном составе *A. subviscosae herba* доминируют пектиновые вещества (5,37%) и водорастворимые полисахариды (4,04%).

3.1.5. Количественное определение фенольных соединений и кислот

Количественное определение суммы флавоноидов

в пересчете на лютеолин-7-гликозид

Снят общий спектр водно-этанольного извлечения *A. subviscosae herba* (1:50) в комплексе с 2% раствором $AlCl_3$, максимум поглощения раствора соответствует максимуму поглощения раствора СО лютеолин-7-гликозида в комплексе с алюминия хлоридом (400 нм) (рисунок 11).

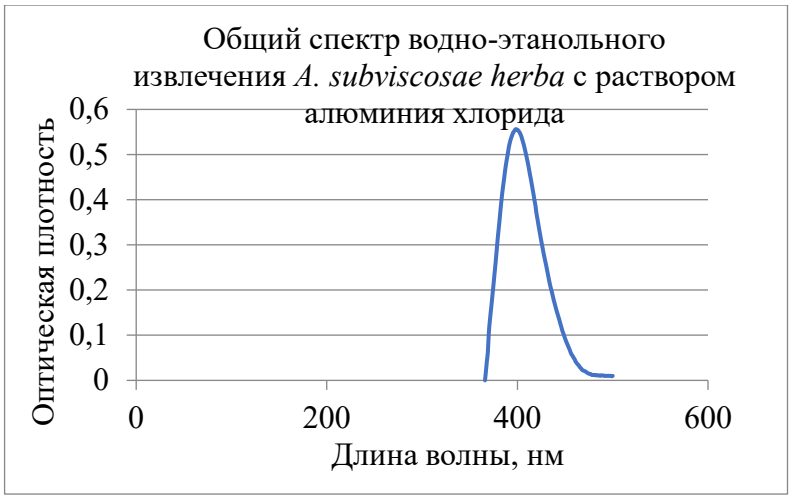


Рисунок 11 – Общий спектр водно-этанольного извлечения *A. subviscosae herba* с раствором алюминия хлорида

Определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид (таблица 14).

Таблица 14 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	1,11	0,001	0,04	95	2,77	0,04	3,98

Количественное содержание суммы флавоноидов *A. subviscosae herba* составило 1,11±0,04%.

Количественное определение суммы дубильных веществ

Перманганатометрическим методом определено количественное содержание дубильных веществ в *A. subviscosae herba* в пересчете на танин (таблица 15).

Таблица 15 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы дубильных веществ в пересчете на танин

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	3,28	0,0007	0,03	95	95	0,03	0,98

Количественное содержание составило 3,28±0,03%.

Также УФ-спектрофотометрическим методом определена сумма дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту (таблица 16).

Таблица 16 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	2,52	0,004	0,06	95	2,77	0,08	2,98

Количественное содержание составило 2,52±0,08%.

Таким образом, содержание суммы дубильных веществ в сырье *A. subviscosae herba* составляет не менее 2%.

Количественное определение суммы кумаринов в пересчете на кумарин

Количественное определение суммы кумаринов проводили методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 272 нм (таблица 17).

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	0,20	0,00005	0,007	95	2,77	0,01	4,39

Количественное содержание составило 0,20±0,01%.

Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот

Сумму гидроксикоричных кислот *A. subviscosae herba* в пересчете на хлорогеновую кислоту определяли методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 325 нм (таблица 18).

Таблица 18 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту методом УФ-спектрофотометрии

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	4,15	0,003	0,05	95	2,77	0,07	1,57

Количественное содержание составило 4,15±0,07%.

Методом ВЭЖХ-УФ определено количественное содержание хлорогеновой кислоты в водно-этанольном извлечении *A. subviscosae herba* (таблица 19).

Таблица 19 – Метрологические характеристики результатов количественного определения хлорогеновой кислоты методом ВЭЖХ-УФ (в пересчете на а.с.с.)

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	0,40	0,0002	0,02	95	2,77	0,02	4,76

Количественное содержание составило 0,40±0,02 %.

Методом ВЭЖХ-УФ определено количественное содержание кофейной кислоты в водно-этанольном извлечении *A. subviscosae herba* (таблица 20).

Таблица 20 – Метрологические характеристики результатов количественного определения кофейной кислоты методом ВЭЖХ-УФ (в пересчете на а.с.с.)

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	0,02	0,0001	0,0004	95	2,77	0,01	2,65

Количественное содержание составило 0,02±0,01%.

Количественное определение аскорбиновой кислоты

Количественное содержание аскорбиновой кислоты в *A. subviscosae herba* определяли УФ-спектрофотометрическим методом (таблица 21).

Таблица 21 – Метрологические характеристики методики количественного определения аскорбиновой кислоты в *A. subviscosae herba*

n	f	$\bar{x}$, %	S	$S\bar{x}$	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	1,08	0,0007	0,03	95	2,77	0,03	2,93

Содержание аскорбиновой кислоты в *A. subviscosae herba* составляет 1,08±0,03%.

3.1.6. Исследование элементного состава

Элементы при совместном присутствии с некоторыми органическими БАВ формируют органо-минеральные комплексы, обладающие высокой биологической активностью [163, 168]. Но под влиянием антропогенных факторов, растения накапливают и токсичные тяжелые металлы и мышьяк, что

приводит к невозможности применения сырья в фармацевтической практике. Поэтому, исследование элементного состава имеет значение с позиции безопасности заготовленного сырья и получаемых фитопрепаратов.

Изучен элементный состав надземной части *A. subviscosa*, собранной в с. Улюн и с. Ярикта в разных фазах развития растения, выявлен аккумулятивный убывающий ряд металлов: K→Ca→Mg→Na→Fe→Al→Mn→Zn→Cu→Ba→Ni→Cr→Pb→Cd (таблица 22).

Таблица 22 – Элементный состав *A. subviscosae herba*

Элемент	Улюн			Ярикта			
	Вег.	Бут	Цв	Вег.	Бут	Цв	Плод
Макроэлементы							
K, мг/кг	253,82 ±11,41	214,16 ±11,02	220,61 ±11,17	236,49 ±11,38	237,80 ±11,25	257,67 ±11,32	293,51 ±12,02
Ca, мг/кг	73,82 ±2,53	100,96 ±4,78	102.97 ±4,81	72,31 ±3,71	95,27 ±4,56	106,43 ±4,85	46,50 ±1,35
Mg, мг/кг	58,19 ±2,35	84,63 ±3,41	41,31 ±1,12	74,81 ±3,92	67,22 ±3,14	33,44 ±1.02	47,87 ±1,95
Na, мг/кг	5,70 ±0,06	5,66 ±0,03	6,18 ±0,12	5,36 ±0,07	5,16 ±0,05	5,38 ±0,08	5,6 ±0,04
Микроэлементы							
Fe, мкг/кг	925,10 ±0,04	670,25 ±0,02	884,92 ±0,04	1109,64 ±0,15	496,23 ±0,02	917,85 ±0,03	750,75 ±0,02
Al, мкг/кг	774,13 ±0,04	534,43 ±0,03	701,27 ±0,05	865,13 ±0,04	376,76 ±0,03	614,72 ±0,02	554,54 ±0,02
Ba, мкг/кг	13,14 ±0,18	15,82 ±0,15	19,64 ±0,21	13,61 ±0,10	12,23 ±0,14	15,21 ±0,15	11,82 ±0,13
Zn, мкг/кг	20,07 ±1,25	25,70 ±1,18	36,73 ±1,21	16,95 ±0,65	18,71 ±0,51	18,82 ±0,15	44,23 ±1,37
Mn, мкг/кг	92,51 ±2,10	102,84 ±2,77	99,32 ±1,15	87,82 ±1,98	62,36 ±1,15	43,64 ±1,25	63,15 ±2,50
Cu, мкг/кг	13,74 ±0,20	18,12 ±0.18	12,04 ±0.16	12,91 ±0.15	14,75 ±0.15	12,16 ±0.20	10,08 ±0.15
Cr, мкг/кг	4,12 ±0,07	3,32 ±0,09	3,90 ±0,21	7,84 ±0,25	5,14 ±0,20	5,83 ±0,15	7,71 ±0,23
Ni, мкг/кг	8,91 ±0,10	8,50 ±0,09	11,05 ±0,08	11,44 ±0,12	9,08 ±0,15	11,34 ±0,08	91,61 ±2,24
Тяжелые металлы							
Pb, мкг/кг	0,80 ±0,01	0,71 ±0,01	1,41 ±0.02	1,62 ±0.02	1,70 ±0.03	1,09 ±0.02	0,52 ±0,01
Cd, мкг/кг	0,43 ±0,01	0,42 ±0,01	0,44 ±0,01	0,41 ±0,01	0,45 ±0,01	0,51 ±0,01	0,51 ±0,01

В *A. subviscosae herba* обнаружено 14 элементов. Из макроэлементов наибольшее содержание во всех образцах приходится на калий, в образцах из

Улюна калия накапливается в большей степени в фазу вегетации (253,82 мг/кг), в Ярикте – плодоношения (293,51 мг/кг). Содержание кальция почти одинаково у всех образцов характерно увеличение содержания данного элемента к фазе цветения, но затем концентрация падает почти в 3 раза в фазе плодоношения. Магний, как антагонист кальция, накапливается в фазы, когда концентрация кальция минимальна, то есть в фазе бутонизации в Улюне и цветения – Ярикте. Во всех образцах натрий накапливается в фазах цветения и плодоношения.

Железо в максимальной концентрации обнаружено в фазе цветения у всех образцов, так как железо входит в состав активного центра сложных ферментов растений, принимающих участие во многих окислительно-восстановительных процессах: фотосинтеза, тканевого дыхания, синтеза хлорофилла, метаболизме азота и серы [97, 139].

Алюминий накапливается в фазу вегетации, содержание бария максимально в фазе цветения, цинка – цветения, плодоношения. Интересно заметить, что содержание калия, магния, натрия, бария, цинка, марганца, меди выше в образцах, собранных в с. Улюн, когда кальций, железо, алюминий, в большей степени накапливаются в сырье из Ярикты.

Приведена сравнительная характеристика содержания элементов в *A. subviscosae herba,* собранной в с. Ярикта в фазе цветения в 2017–2018 гг. (рисунок 13).

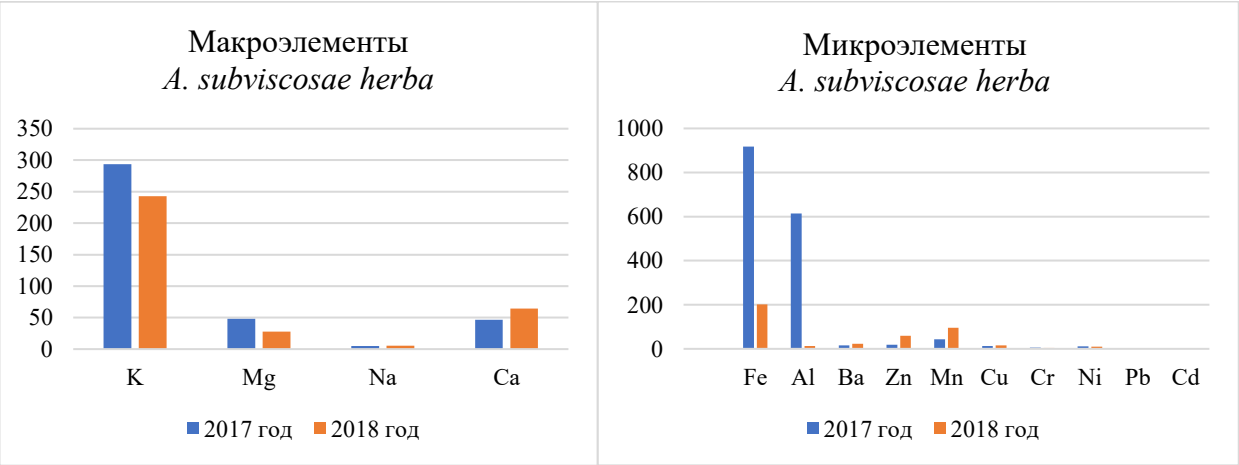


Рисунок 13 – Элементный состав *A. subviscosae herba* в 2017–2018 гг.

По данным рисунка 13 видно, что элементный состав постоянен по качественному составу, но отличается по количественному содержанию элементов. Так содержание калия, магния, натрия, свинца и кадмия практически не изменилось. Содержание железа и алюминия в 2018 г. ниже почти в 5 раз, возможно, концентрация уменьшилась из-за обильных осадков в 2018 г. (102 мм) по сравнению с 2017 г. (93 мм). Барий, цинк и марганец напротив накапливаются в большей степени в 2018 г.

Согласно требованиям ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», содержание свинца должно превышать 6 мг/кг, кадмия – не более 1 мг/кг. Содержание этих элементов в *A. subviscosae herba* не превышает указанных норм.

3.2. Химический состав *Artemisia santolinifolia*

3.2.1. Исследование качественного состава БАВ с использованием качественных реакций, ТСХ и ВЭЖХ-УФ

Обнаружение БАВ с помощью качественных реакций

Для идентификации биологически активных соединений были получены и исследованы водные и спиртовые извлечения *A. santolinifoliaeherba*, собранной в Окинском районе Республики Бурятия в фазу цветения. По общепринятым методикам проведены качественные реакции. Результаты представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Результаты исследования биологически активных веществ в *A. santolinifoliae herba* качественными реакциями

Группа БАВ	Качественная реакция	Аналитический сигнал
Полисахариды	Осаждение спиртом 95%	Аморфный осадок
Жирные масла	Омыление по Розенталеру	Появление игольчатых кристаллов
Дубильные вещества	Реакция с железоаммониевыми квасцами	Черно-зеленое окрашивание (конденсированная группа)
	Реакция с бромной водой	Образование осадка
	Реакция Стиасни	Выпадение осадка
	Осаждение 1% р-ром желатина в р-ре натрия хлорида	Появление мути

продолжение таблицы 23

Сапонины	Реакция пенообразования	Образование пены (тритерпеновые сапонины)
	Реакция со свинца ацетатом раствором 10%	Образование белого осадка
Флавоноиды	Цианидиновая проба	Красное окрашивание
	Реакция со свинца ацетата основным раствором 10%	Желтый осадок
	Реакция с алюминия хлоридом спиртовым раствором 3 %	Лимонно-желтое окрашивани
Кумарины	Лактонная проба	Осадок
	Микросублимация	Наличие сублимата в виде желтых капель, фиолетовая флуоресценция
	Реакция с диазореактивом	Красно-вишневое окрашивание
Эфирные масла	Реакция с раствором Судана III	Оранжево-красное окрашивание
	Реакция с метиленовым синим	Синее окрашивание
Антраценпроизводные	Микросублимация	Отсутствие окрашивания
Сердечные гликозиды	Реакция ЛиберманаБурхарда	Отсутствие окрашивания
	Реакция Келлер-Килиани	Отсутствие окрашивания
Алкалоиды	Реакция с общеалкалоиднымиреактивыми (реактивы Бушарда, Вагнера, Драгендорфа, 1% р-р кремневольфрамовой к-ты, 10% р-р танина)	Отсутствие осадка

В результате аналитических реакций были обнаружены полисахариды, дубильные вещества, сапонины, флавоноиды, кумарины; гистохимическими реакциями – эфирные масла, микрохимическими – жирные масла.

Обнаружение БАВ методом ТСХ

Обнаружение рутина и хлорогеновой кислоты

Обнаружение проводили согласно методике, указанной в главе 2, п. 2.2. На хроматограмме испытуемого раствора на белом фоне видели зону адсорбции коричнего цвета (Rf – 0,75±0,02) на уровне зоны раствора СО лютеолин-7-гликозида и зону адсорбции голубого цвета на уровне зоны СО хлорогеновой кислоты (Rf – 0,56±0,02).

Обнаружение БАВ методом ВЭЖХ-УФ

Фенольные соединения идентифицировали методом ВЭЖХ-УФ в 70% спиртовых извлечениях *A. subviscosae herba* (1:50) согласно методике (главе 2, п.п.2.2.) (рисунок 14-17).

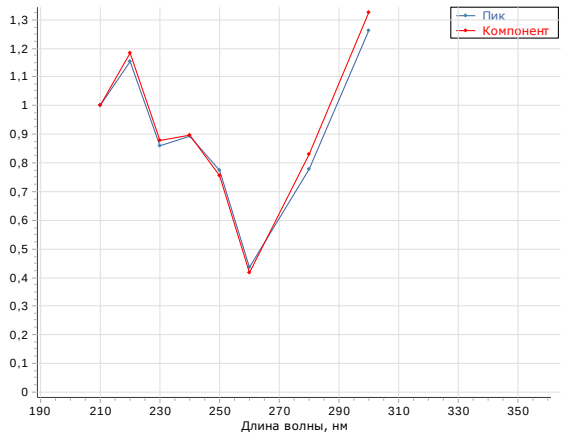


Рисунок 14 – спектр СО хлорогеновой кислоты и спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba*

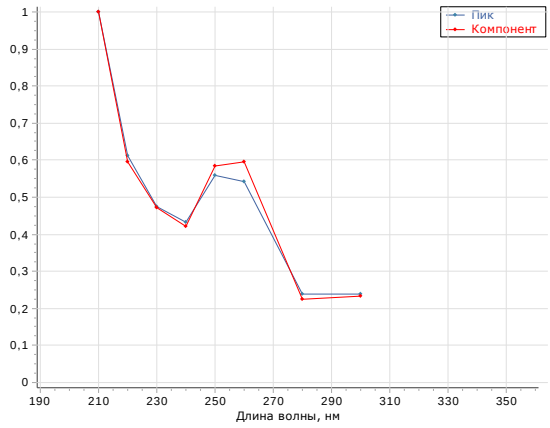


Рисунок 15 – спектр СО кверцетина и спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba*

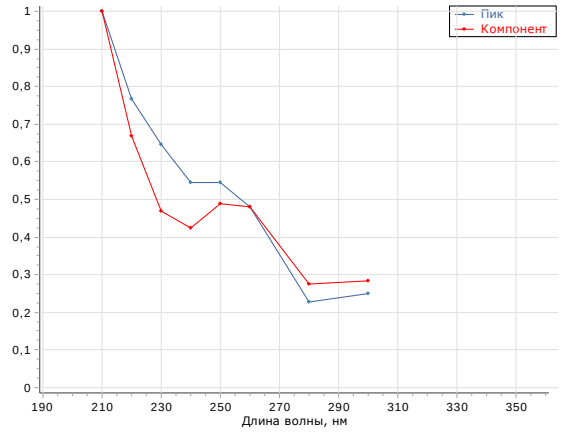


Рисунок 16 – спектр СО лютеолина и спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba*

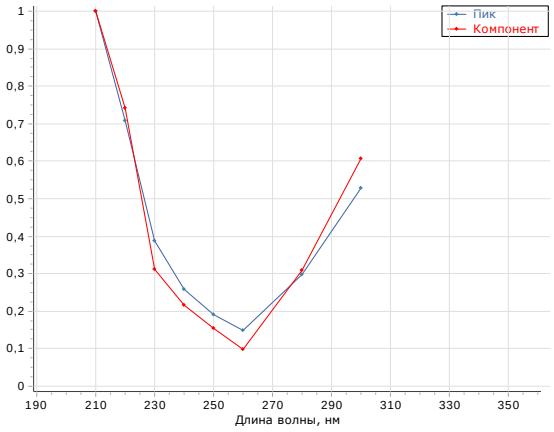


Рисунок 17 – спектр СО умбеллиферона и спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba*

В результате анализа в водно-спиртовом извлечении *A. santolinifoliae herba* обнаружены хлорогеновая кислота, кверцетин, лютеолин, умбеллиферон.

3.2.2. Получение и исследование компонентного состава эфирных масел

Образцы эфирного масла получены из высушенной надземной части растения методом гидродистилляции (ГФ XIV). Эфирные масла представляют

собой легкоподвижные жидкости желтого цвета, компонентный состав исследовали методом газовой хромато-масс-спектрометрии.

Исследование качественного состава эфирных масел

Изучен компонентный состав эфирного масла *A. santolinifolia* в зависимости от морфологической части (таблица 24).

Таблица 24 – Компонентный состав эфирного масла *A. santolinifolia* в зависимости от морфологической части растения*

Компоненты	RI	Органы**			
		Цв	С	Л	НЧ
Монотерпеноиды					
Ациклические монотерпеноиды					
Линалоол	1100	0,34	0,33	-	0,71
Σ ациклических монотерпеноидов		0,34	0,33	-	0,71
Моноциклическиемонотерпеноиды					
α-Терпинен	1017	0,30	0,12	-	-
1,8-цинеол	1031	9,05	+	1,51	1,62
γ-Терпинен	1058	0,55	-	-	0,20
Терпинолен	1088	0,21	-	-	-
Терпинеол-4	1177	2,75	0,71	0,97	1,21
α-Терпинеол	1191	0,52	0,45	-	0,36
Борнил-2-метилбутоноат	1510	1,52	-	-	1,77
Σ моноциклических монотерпеноидов		14,90	1,28	2,48	5,16
Бициклические монотерпеноиды					
α-Пинен	932	-	-	0,30	-
Камфен	947	5,20	-	0,92	0,30
Хризантенон	1126	0,25	-	-	-
Камфора	1144	39,48	0,40	14,74	16,65
Пинокарвон	1162	0,77	-	-	0,53
Борнеол	1166	6,14	0,73	6,43	6,03
Борнилформиат	1229	0,72	-	-	-
Борнилацетат	1287	4,96	-	3,10	3,70
Борнилпропионат	1378	0,36	-	-	-
Борнилбутаноат	1468	0,40	-	-	-
Σбициклических монотерпеноидов		58,28	1,13	25,49	27,21
Трициклические монотерпеноиды					
Трициклен	921	-	-	0,30	-
Σ трициклических монотерпеноидов		-	-	0,30	-
Сесквитерпеноиды					
Алициклические сесквитерпеноиды					
Давана эфир (изомер 1)	1515	1,86	2,88	5,26	3,15
Давана эфир (изомер 2)	1534	1,23	1,09	3,18	1,49
Даванон	1587	2,88	0,63	5,78	12,36
Σ алициклических сесквитерпеноидов		5,97	4,60	14,22	17,00

продолжение таблицы 24

Моноциклические сесквитерпеноиды					
Гермакрен D	1484	+	-	-	1,20
β-Селинен	1488	0,90	-	1,19	-
Кариофиллен оксид	1586	1,17	-	3,15	-
Гермакра-4(15),5,10(14)-триен-1-ол	1689	0,32	-	1,27	-
Σ моноциклических сесквитерпеноидов		2,39	-	5,61	1,20
Бициклические сесквитерпеноиды					
Кариофиоллен	1422	0,52	-	1,99	1,10
Бициклогермакрен	1500	0,70	-	6,20	1,97
Эудесма-4(15),7-диен-1*β*-ол	1688	-	1,03	-	0,85
Σ бициклических сесквитерпеноидов		1,22	1,03	8,19	3,92
Трициклические сесквитерпеноиды					
β-Кубебен	1392	0,57	-	2,61	-
Спатуленол	1580	3,76	0,83	19,93	1,08
Глобулол	1590	-	-	2,09	-
Изоспатуленол	1640	-	-	2,53	-
Σ трициклических сесквитерпеноидов		4,33	0,83	27,16	1,08
Ароматические соединения					
n-Цимол	1024	0,90	-	-	0,25
Σ ароматических соединений		0,90	-	-	0,25

* Примечание: в таблице приведены только те компоненты, содержание которых ≥ 0,20%. Знак «+» означает, что содержание компонента менее 0,20%. ** Цв – соцветия, Ст – стебли, Л – листья, НЧ- надземная часть.

В эфирных маслах идентифицировано около 60 компонентов, представленных главным образом моно- и сесквитерпеновыми соединениями.

Монотерпеноиды в основном накапливаются в соцветиях *A. santolinifolia* (73,52%), причем большая доля приходится на бициклические монотерпены (58,28%). Доминирующими компонентами данной группы являются: 1,8-цинеол, терпинеол-4, борнил-2-метилбутоноат, камфен, камфора, борнеол, борнилацетат.

Сесквитерпеноиды в большей степени содержатся в листьях (55,18%), мажорные соединения: давана эфир (изомер 1), давана эфир (изомер 2), даванон, кариофиллен оксид , бициклогермакрен, *β*-кубебен, спатуленол, изоспатуленол.

Исследуя особенности накопления компонентов эфирных масел в органах *A. santolinifolia,* можно отметить, что основные компоненты едины, но отличаются по количественному содержанию. Так, можно выделить доминирующие компоненты, характерные для всех частей растения: 1,8-цинеол (1,51–9,05%), терпинеол-4 (0,71–2,75%), борнил-2-метилбутоноат (1,52–1,77%),

камфора (0,40–39,48%), борнеол (0,73–6,43%), борнилацетат (3,10-4,96%), давана эфир (изомер 1) (1,86–5,26%), давана эфир (изомер 2) (1,09–3,18%), даванон (0,63–12,36%), кариофиоллен (0,52–1,99%), бициклогермакрен (0,70–6,20%), спатуленол (0,83–19,93%).

Наибольшая концентрация моноциклических и бициклических монотерпеноидов: 1,8-цинеол (9,05%), терпинеол-4 (2,75%), камфора (39,48%), борнилацетат (4,96%) приходится на соцветия. Листья содержат значительное количество борнеола (6,43%), а также сесквитерпеноидов: давана эфир (изомер 1) – 5,26%, давана эфир (изомер 2) – 3,18%. Стебли накапливают бициклический сесквитерпеноид – эудесма-4(15),7-диен-1β-ол (1,03%). Для надземной части характерны все вышеперечисленные компоненты, но наибольшее содержание по сравнению с остальными частями растения приходится на борнил-2-метилбутоноат (1,77%), даванон (12,36%).

Динамика накопления эфирных масел A. santolinifolia в морфологических группах растения

Выделено эфирное масло из образцов, собранных в с. Саяны Окинского района Республики Бурятия в 2016 г. Эфирные масла получали из листьев, стеблей и соцветий. Изучена динамика накопления эфирного масла в разных частях растения (рисунок 18).

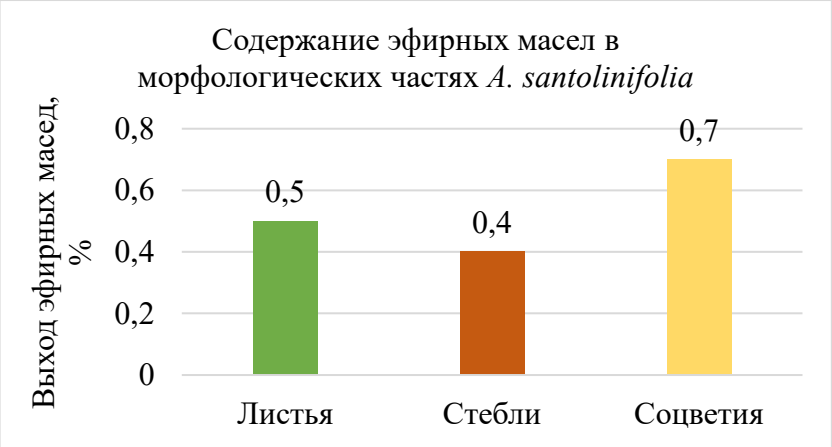


Рисунок 18 – Содержание эфирных масел в морфологических частях *A. santolinifolia*, % (в пересчете на а.с.с).

Исследование динамики накопления показало, что эфирное масло содержится во всех органах растения, но его распределение неравномерное. Максимально эфирное масло накапливается в соцветиях – 0,7% и листьях – 0,5%, содержание в стеблях – 0,4%. Таким образом, производится сбор всей надземной части растения, оптимальный срок сбора сырья – фаза цветения.

Определение количественного содержания и компонентного состава эфирного масла в зависимости от места и года сбора

Образцы надземной части растений были собраны в 2016–2019 гг. во время цветения в местах естественного произрастания на территории Окинского и Хоринского районов Республики Бурятия. Выделены эфирные масла желтого цвета. Выход масла варьирует от 0,37 до 0,75 % (таблица 25).

Таблица 25 – Зависимость выхода эфирных масел *A. santolinifolia herba* в зависимости от места и года сбора, %

№	Место, дата сбора	Выход масла, % (цвет)
1	Окинский район, с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 25.08.16	0,45 (желтый)
2	Окинский район, с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 23.08.17	0,45 (желтый)
3	Хоринский район, с. Баянгол, 25.08.17	0,37 (желто-зеленый)
4	Окинский район, с. Саяны, местность Монголжон, скала Тамгата, 25.08.19	0,74 (желтый)
5	Окинский район, 50 км от Орлика, водопад Сайлак, 25.08.19	0,44 (желтый)

Из данных таблицы 25 видно, что выход эфирных масел из сырья, собранного в Окинском районе выше, чем в объекте с Хоринского района.

Для *A. santolinifolia herba*, произрастающей в с. Саяны, рассмотрены влияние погодных условий и температуры на выход эфирных масел в разные годы, вычислен гидротермический коэффициент экстремальности ($K_{экстр}$) [60,126]. Данные температуры и количества выпавших осадков летом 2015–2019 гг. в с. Саяны представлены в таблице 26.

Таблица 26. Средняя температура, среднее количество выпавших осадков за май-август, коэффициент экстремальности и выход эфирного масла *A. santolinifolia herba* в с. Саяны

Год сбора	Выход эфирного масла, % (а.с.с.)	Средняя температура с мая по август, t^0C	Среднее количество выпавших осадков с мая по август, мм	$K_{экстр}$
2016	0,45	15,25	111,75	0,14
2017	0,45	17,00	108,00	0,16
2019	0,74	14,05	70,25	0,2

Просматривается положительная корреляция между $K_{экстр}$ и содержанием эфирного масла. Компонентный состав полученных эфирных масел представлен в таблице 27.

Таблица 27 – Компонентный состав эфирных масел *A. santolinifoliae herba* в зависимости от места и года сбора, % в пересчете на а.с.с.

Компоненты	RI	Содержание, %				
		1	2	3	4	5
Моноциклические монотерпеноиды						
1,8-цинеол	1031	1,62	7,05	+	0,50	0,41
Терпинеол-4	1177	1,21	0,93	+	+	+
α-Терпинеол	1191	0,36	0,26	+	+	+
Борнил-2-метилбутоноат	1510	1,77	-	+	+	+
Σ моноциклических монотерпеноидов		5,16	8,24	0,50	0,50	0,41
Бициклические монотерпеноиды						
Камфора	1144	16,65	0,84	1,12	0,20	+
Пинокарвон	1162	0,53	+	+	+	+
Борнеол	1166	6,03	+	+	+	+
Борнилацетат	1287	3,70	+	+	+	+
Σ бициклических монотерпеноидов		27,21	0,84	1,12	0,20	0,50
Сесквитерпеноиды						
Алициклические сесквитерпеноиды						
Давана эфир	1495	5,15	5,10	3,14	5,78	5,24
Давана эфир (изомер 1)	1515	3,15	1,82	6,23	14,79	13,86
Давана эфир (изомер 2)	1534	1,49	1,00	0,98	6,46	6,30
Даванон	1587	12,36	1,23	4,09	40,43	26,86
Σ алициклических сесквитерпеноидов		17,00	4,05	11,30	67,46	52,26
Моноциклические сесквитерпеноиды						
Гермакрен D	1484	1,20	21,24	3,51	2,97	9,62
Σ моноциклических сесквитерпеноидов		1,20	21,24	3,51	2,97	9,62
Бициклические сесквитерпеноиды						
Кариофиоллен	1422	1,10	6,83	4,15	2,17	1,00
Бициклогермакрен	1500	1,97	4,47	2,01	2,50	4,45
Эудесма-4(15),7-диен-1*β*-ол	1688	0,85	3,04	-	-	-
Σ бициклических сесквитерпеноидов		3,92	14,34	6,16	4,67	5,45
Трициклические сесквитерпеноиды						
Пресилфиперфолан-9а-ол	1524	3,15	3,54	2,55	3,42	2,37
Спатуленол	1580	1,08	4,47	2,15	9,35	9,64
Глобулол	1590	-	+	+	0,44	+

продолжение таблицы 27

Изоспатуленол	1640	-	1,02	1,05	1,26	1,54
Σ трициклических сесквитерпеноидов		4,23	9,03	5,75	14,47	13,55

$K_{экстр}$ влияет не только на выход эфирных масел, но и на компонентный состав, так в образце 2019 г., собранном в с. Саяны, наблюдается высокое содержание али- и трициклических сесквитерпеноидов по сравнению с предыдущими годами. Выявлены компоненты, встречающиеся во всех образцах независимо от места и года сбора в значительных количествах: давана эфир, давана эфир (изомер 1), давана эфир (изомер 2), даванон, гермакрен D, кариофиоллен, бициклогермакрен, пресилфиперфолан-9а-ол, спатуленол.

3.2.3. Исследование жирнокислотного состава

Липидные фракции из *A. santolinifolia herba*, собранной в Окинском районе Республики Бурятия в разные фазы развития растения получали модифицированным методом Блайя-Дайера, состав липидной фракции исследовали методом ГХ-МС (рисунок 19).

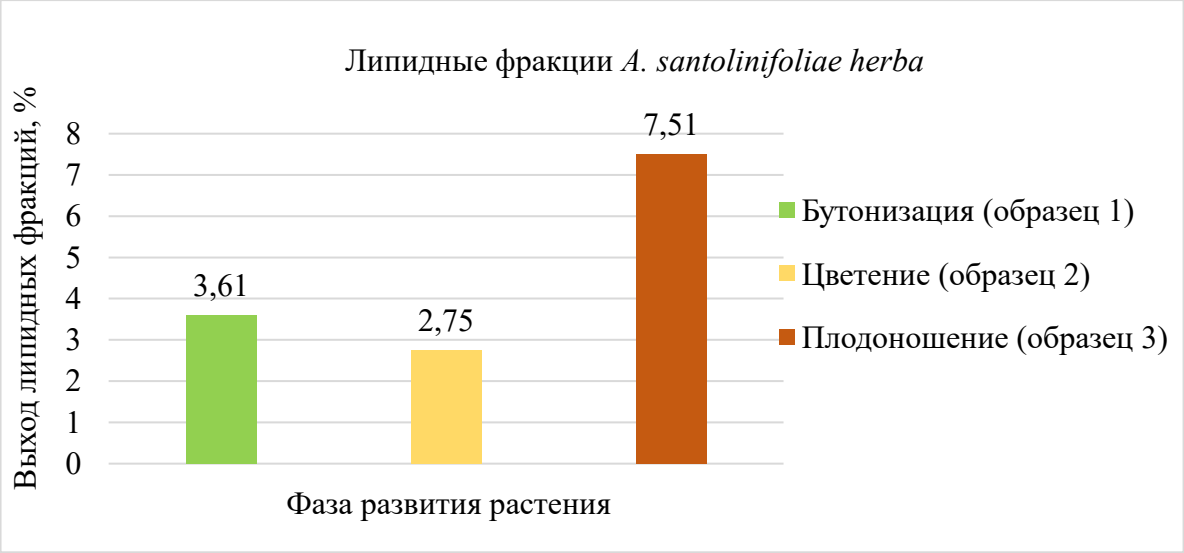


Рисунок 19 – Выход липидных фракций в зависимости от фазы развития растения, %

В фазе плодоношения отмечено наибольшее содержание липидов (7,51%), что в два раза превышает выход в фазе бутонизации (3,61%). Наименьшее

количество липидной фракции в фазе цветения (2,75%). Жирнокислотный состав полученных липидных фракций представлен в таблице 28.

Таблица 28 – Жирнокислотный состав *A. santolinifoliae herba*, в % от суммы компонентов

№	Тривиальное название	ИЮПАК	1	2	3
Насыщенные жирные кислоты					
1	Пеларгоновая	9:0	-	-	2,00
2	Каприновая кислота	10:0	-	-	2,13
3	Гендекановая	11:0	1,74	4,26	2,21
4	Лауриновая	12:0	-	7,20	2,55
5	Тридекановая кислота	13:0	2,04	7,65	2,45
6	Миристиновая кислота	14:0	3,12	4,47	3,35
7	Пальмитиновая кислота	16:0	20,27	10,76	16,53
8	Изо-маргариновая кислота	i17:0	1,95	-	2,25
9	Маргариновая кислота	17:0	1,88	6,48	2,09
10	Стеариновая кислота	18:0	3,32	6,92	4,06
11	Арахиновая кислота	20:0	2,71	5,32	2,74
12	Генейкозановая кислота	21:0	2,10	-	1,85
13	Бегеновая кислота	22:0	4,04	3,30	3,57
14	Трикозановая кислота	23:0	2,18	-	2,27
15	Лигноцериновая кислота	24:0	3,41	3,04	5,17
16	Пентакозановая кислота	25:0	-	-	2,07
17	Гептаказановая кислота	27:0	1,55	-	3,72
18	Монтановая кислота	28:0	1,49	-	4,01
Σ насыщенных жирных кислот			51,80	59,40	65,02
Ненасыщенные жирные кислоты					
19	Пальмитолеиновая кислота	16:1ω7	2,06	4,62	2,71
20	цис-7-гексадеценовая кислота	16:1 ω 9	2,00	4,40	0,92
21	цис-10-гептадеценовая кислота	17:1ω6	-	6,25	-
22	Линолевая кислота	18:2ω6	26,40	9,74	16,34
23	Олеиновая кислота	18:1ω9 cis	-	9,67	15,01
24	Элаидиновая кислота	18:1ω9 trans	-	5,91	-
25	α-Линоленовая кислота	18:3ω3	17,74	-	-
Σ ненасыщенных жирных кислот			48,20	40,59	34,98

В *A. santolinifolia herba* идентифицированно 25 жирными кислотами различного строения с длиной углеродных цепей от 9 до 28 атомов. Содержание насыщенных жирных кислот (НЖК) составило 51,80–65,02%, состав НЖК включает 18 кислот, наибольшее содержание приходится на пальмитиновую кислоту (10,76–20,27%).

Ненасыщенные жирные кислоты (ННЖК) представляют собой мононенасыщенные (МНЖК) и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот составило 34,98–48,20%.

Среди ненасыщенных жирных кислот в начале цветения преобладали ПНЖК (44,14%): линолевая (26,40%) и α-линоленовая (17,74%). Линолевая и линоленовая относятся к эссенциальным кислотам, необходимым для жизнедеятельности организма. Известно, что они обладают высокой антиоксидантной активностью [49, 117]. В фазах цветения и плодоношения доминировали МНЖК (18,64–30,65%): пальмитолеиновая кислота (2,71–4,62%), цис-7-гексадеценовая кислота (0,92–4,40%), цис-10-гептадеценовая кислота (6,25%), олеиновая кислота (9,67–15,01%), элаидиновая кислота (5,91%).

Сравнение состава жирных кислот, полученных из образцов, выделенных из растения на разных фазах развития, показал, что в фазе бутонизации доля НЖК (51,80%) почти равна сумме МНЖК и ПНЖК (48,20%), а в фазах цветения и плодоношения в обоих образцах содержание НЖК (59,44–65.01%) значительно превышает сумму МНЖК и ПНЖК (34,98–40,59%).

3.2.4. Получение и исследование углеводного состава

Было проведено изучение полисахаридного комплекса, полученного из надземной части *A. santolinifolia,* собранной в разные фенологические фазы, получены 4 полисахаридные фракции: ВРПС, ПВ, Гц А и Б, количественное содержание определено гравиметрически (таблица 29).

Таблица 29 – Выход и описание полисахаридных фракций *A. santolinifoliae herba*

Компонент*	Фаза развития, выход,%**			Описание
	Б.	Цв.	Пл.	
ВРПС	2,11±0,21	2,5±0,18	1,17±0,08	Аморфный порошок серого цвета
ПВ	2,98±0,25	3,13±0,24	1,26±0,10	Аморфный порошок буровато-серого цвета
Гц А	6,31±0,32	6,41±0,35	2,48±0,25	Аморфный порошок серо-коричневого цвета
ГцБ	4,67±0,18	4,69±0,32	6,32±0,27	Аморфный порошок серо-коричневого цвета

* Примечание: ВРПС – водорастворимые полисахариды, ПВ – пектиновые вещества, ГцА – гемицеллюлоза А, ГцБ – гемицеллюлоза Б; ** Б – бутонизация, Цв – цветение, Пл. – плодоношение.

В углеводном составе *A. santolinifoliae herba* превалируют гемицеллюлоза А (2,48–6,31%) и гемицеллюлоза Б (4,67–6,32%).

3.2.5. Количественное определение фенольных соединений и кислот

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Снят общий спектра водно-этанольного извлечения *A. santolinifoliae herba* (1:50) в комплексе с 2% раствором $AlCl_3$, максимум поглощения раствора соответвтвует максимуму поглощения раствора СО рутина в комплексе с алюминия хлоридом (410 нм) (рисунок 20)

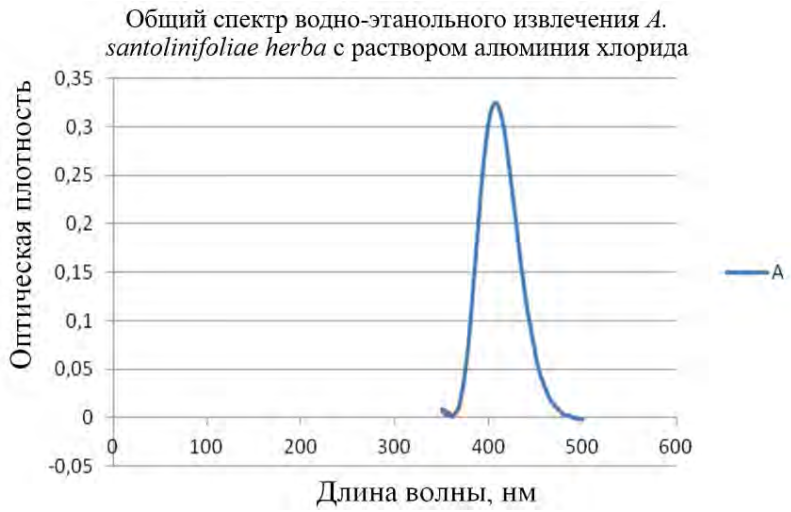


Рисунок 20 – Общий спектр водно-этанольного извлечения *A. santolinifoliae herba* с раствором алюминияхлорида

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводили методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 410 нм (таблица 30).

Таблица 30 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	1,55	0,002	0,04	95	2,77	0,05	3,30

Количественное содержание суммы флавоноидов *A. santolinifoliae herba* составило 1,55±0,05%.

Количественное определение суммы дубильных веществ

Перманганатометрическим методом определено количественное содержание дубильных веществ в *A. santolinifoliae herba* в пересчете на танин (таблица 31).

Таблица 31 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы дубильных веществ в пересчете на танин

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	3,72	0,009	0,09	95	2,77	0,11	3,09

Количественное содержание составило 3,72±0,11%.

Также УФ-спектрофотометрическим методом определена сумма дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту (таблица 32).

Таблица 32 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы дубильных веществ в пересчете на галловую кислоту

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	2,55	0,005	0,07	95	2,77	0,08	3,30

Количественное содержание составило 2,55±0,08%.

Таким образом, содержание суммы дубильных веществ в сырье *A. santolinifoliae herba* составляет не менее 2 %.

Количественное определение суммы кумаринов в пересчете на кумарин

Сумма кумаринов определена УФ-спектрофотометрическим методом при 272 нм (таблица 33).

Таблица 33 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы кумаринов в пересчете на кумарин

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	0,05	0,0001	0,001	95	2,77	0,01	2,48

Количественное содержание составило 0,05±0,01%.

Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот

Сумму гидроксикоричных кислот *A. santolinifoliae herba* в пересчете на хлорогеновую кислоту определяли методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 325 нм. Результаты анализа представлены в таблице 34.

Таблица 34 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту методом УФ-спектрофотометрии

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	4,22	0,006	0,08	95	2,77	0,10	2,31

Количественное содержание составило 4,22±0,10 %.

Методом ВЭЖХ-УФ определили количественное содержание хлорогеновой кислоты (таблица 35).

Таблица 35 – Метрологические характеристики результатов количественного определения хлорогеновой кислоты (в пересчете на а.с.с.)

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	0,45	0,01	0,1	95	2,77	0,02	3,90

Количественное содержание составило 0,45±0,02 %.

Количественное определение аскорбиновой кислоты

Количественное содержание аскорбиновой кислоты в *A. santolinifoliae herba* определяли УФ-спектрофотометрическим методом (таблица 36).

Таблица 36 – Метрологические характеристики методики количественного определения аскорбиновой кислоты в *A. santolinifoliae herba*

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	1,12	0,03	0,01	95	2,77	0,03	2,77

Содержание аскорбиновой кислоты в *A. santolinifoliae herba* составляет 1,12±0,03%.

3.2.6. Исследование элементного состава

Изучен элементный состав надземной части *A. santolinifolia*, собранной в Окинском и Хоринском районах в разных фазах развития растения и выявлен элементный ряд накопления металлов: K→Ca→Mg→Na→Fe→Al→Zn→Mn→Ba→Cu→Ni→Cr→Pb→Cd, характерный для всех образцов (таблица 37).

Таблица 37 – Элементный состав *A. santolinifoliae herba*

Элемент	Окинский район		Хоринский район
	Цв.	Пл.	Цв.
Макроэлементы			
K, мг/кг	181,70±6,17	236,77±11,12	251,47±11.38
Ca, мг/кг	138,48±4,75	123,19±4,23	98,02±3,17
Mg, мг/кг	21,54±1,12	23,41±1,12	21,46±1,92
Na, мг/кг	5,80±0,12	3,31±0,05	1,90±0,07
Микроэлементы			
Fe, мкг/кг	268,66±0,04	391,82±0,04	158,15±1,15
Al, мкг/кг	195,31±1,10	319,61±0,03	91,58±1,01
Ba, мкг/кг	7,73±0,23	11,84±0,08	7,61±0,23
Zn, мкг/кг	98,31±1,05	50,73±2,25	39,32±1,05
Mn, мкг/кг	22,65±0,71	43,34±1,35	15,99±0,09
Cu, мкг/кг	6,52±0,18	6,34±0,15	11,08±0,07
Cr, мкг/кг	1,69±0,05	3,77±0,08	1,45±0,04
Ni, мкг/кг	5,26±0,12	8,51±0,12	6,84±0,13
Тяжелые металлы			
Pb, мкг/кг	2,00±0,03	1,15±0,04	0,92±0,04
Cd, мкг/кг	0,57±0,01	0,58±0,01	0,60±0,01

В *A. santolinifoliae herba* обнаружено 14 элементов. Во всех образцах среди макроэлементов доминируют калий и кальций, микроэлементы – железо, алюминий, цинк. Исследуя изменение содержания элементов в зависимости от фазы развития растения, можно заметить, что содержание калия, магния, железа, алюминия, бария, марганца, хрома, никеля увеличивается к фазе плодоношения, а концентрация кальция, натрия, цинка и свинца уменьшается, количество меди и кадмия остается неизменным.

Место произрастания также влияет на элементный состав, так в образце Хоринского района накапливается больше калия и меди, но содержание кальция, натрия, железа, алюминия, цинка, марганца, свинца значительно выше в образце Окинского района.

Согласно требованиям ОФС 1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», содержание свинца должно превышать 6 мг/кг, кадмия – не более 1 мг/кг. Содержание этих элементов в *A. santolinifoliae herba* не превышает указанных норм.

3.3. Фитохимическое изучение интродуцированного сырья и шрота *Artemisia subviscosae herba* и *Artemisia santolinifoliae herba*

Данные фитохимического исследования интродуцированного сырья и шрота после получения эфирного масла *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* представлена в таблице 38.

Таблица 38 – Фитохимическая характеристика шрота, интродуцированного и дикорастущего сырья *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba*

БАВ	*A. subviscosae herba**			*A. santolinifoliae herba**		
	Шр.	Ин.	ДР	Шр.	Ин.	ДР
Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид / рутин	0,63±0,25	1,70±0,03	1,10±0,06	0,71±0,15	1,76±0,10	1,55±0,04
Сумма дубильных веществ в пересчете на танин	2,48±0,10	4,01±0,15	3,28±0,24	2,51±0,18	3,92±0,21	3,72±0,31
Аскорбиновая кислота	0,15±0,10	1,10±0,15	1,07±0,04	0,30±0,10	1,10±0,05	1,12±0,06
Сумма гидроскикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту	2,98±0,21	4,29±0,30	4,15±0,20	2,65±0,25	4,91±0,31	4,22±0,18
ВРПС	5,30±0,15	-	5,47±0,21	2,25±0,34	-	2,51±0,28
Эфирные масла	-	1,10±0,09	1,05±0,06	-	0,75±0,06	0,74±0,04

Примечание: *Шр. – шрот, Ин. – интродуцированное сырье, ДР – дикорастущее растение, знак «-», означает, что исследование не проводилось.

Таким образом, шрот *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* после получения эфирных масел является источником БАВ: сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид (0,63%), в пересчете на рутин (0,71%), сумма дубильных веществ в пересчете на танин (2,48 и 2,51%), сумма гидроскикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту (2,98 и 2,65%), водорастворимые полисахариды (5,30 и 2,25%) соответственно. Содержание БАВ в интродукцированных *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* не ниже, чем в дикорастущих видах.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. В *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* качественными реакциями обнаружены эфирные масла, жирные масла, флавоноиды, кумарины, дубильные вещества, сапонины, полисахариды, аскорбиновая кислота, гидроксикоричные кислоты.

2. Доминирующими компонентами эфирного масла *A. subviscosae herba* вне зависимости от места и года сбора являются: сантолина триен, гермакрен D, *β*-элемен, β-селинен, α-селинен, α-бульнесен, δ-кадинен, кариофиллен оксид; кариофиллен, γ-мууролен, ацифиллен, ацифилловая кислота. Доминирующие компоненты эфирного масла *A. santolinifolia* – давана эфир, давана эфир (изомер 1), давана эфир (изомер 2), даванон, гермакрен D, кариофиоллен, бициклогермакрен, пресилфиперфолан-9а-ол, спатуленол.

3. В *A. subviscosae herba* идентифицировано 29 жирных кислот в разные фазы развития растения, наибольшее содержание приходится на пальмитиновую, линолеву. и олеиновую кислоты. Жирнокислотный состав *A. santolinifoliae herba* представлен 25 кислотами, преобладают пальмитиновая, линолевая, олеиновая, α-линоленовая. Полисахаридный комплекс *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* представлен 4 фракциями: водорастворастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлоза А (ГцА), гемицеллюлоза Б (ГцБ). В *A. subviscosae herba* превалируют ВРПС (5,47%) и ПВ (4,04%), в *A. santolinifoliae herba* – ГцА (6,41%) и ГцБ (6,32%).

4. В *A. subviscosae herba* определено количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид (1,11±0,04%), суммы дубильных веществ (3,28±0,03%), суммы кумаринов в пересчете на кумарин (0,02±0,01%), суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту (4,15±0,12%), количественное содержание хлорогеновой (0,40±0,01%), кофейной (0,02±0,01%) и аскорбиновой кислот (1,08±0,03%). В *A. santolinifoliae herba* определено количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (1,55±0,05%), суммы дубильных веществ (3,72±0,11%), суммы кумаринов в

пересчете на кумарин (0,05±0,01%), суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту (4,22±0,10%), содержание хлорогеновой (0,45±0,02%) и аскорбиновой кислот (1,12±0,03%).

6. Определен минеральный состав *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba*, в объектах обнаружено по 14 элементов. *A. subviscosae herba* в большей степени накапливает калий, железо, алюминий и марганец, *A. santolinifoliae herba* – калий, кальций, железо, алюминий, цинк.

7. Шрот после получения эфирных масел является источником БАВ: флавоноиды, дубильные вещества, гидроксикоречные кислоты, водорастворимые полисахариды. *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba*, выращенные в условиях интродукции содержат равное или большее количество БАВ по сравнению с дикорастущими.

ГЛАВА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАПАСОВ СЫРЬЯ, СТАНДАРТИЗАЦИЯ И РАЗРАБОТКА НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА СЫРЬЕ «*ARTEMISIAE SUBVISCOSAE HERBA*» И НАСТОЙКУ *ARTEMISIAE SUBVISCOSAE HERBA*

4.1. Определение запасов и интродукция сырья

Для оценки использования дикорастущего сырья в медицинской практике необходимо определить возможный объем заготовок сырья. Так как данный вид произрастает только в Баргузинском районе, то определение урожайности сырья *A. subviscosae herba* определяли в Баргузинском районе Республики Бурятия в фазу цветения в 2017–2018 гг. на конкретных зарослях методом учетных площадок. Закладывали участки размером 1 м^2 в пределах промысловой заросли, всего закладывалось по 15 площадок. Учетные площадки закладывали равномерно на определенном расстоянии друг от друга таким образом, чтобы по возможности охватить всю заросль. После закладки учетных площадок на каждой из них собирали всю сырьевую фитомассу. Сырье взвешивали с точностью до 0.01 кг с каждой учетной площадки отдельно [26, 149]. Ошибка метода не превышала 15%. Результаты исследования представлены в таблице 39.

Таблица 39 – Определение запасов *A. subviscosae herba* в Баргузинском районе Республики Бурятия

Местонахождение ценопопуляции	Площадь заросли, м^2	Урожайность сырья, г/м^2	Биологический запас, кг	Эксплуатационный запас, кг	Возможный ежегодный объем заготовок, кг
Баргузинский район, Ярикта	600	416,10±7,64	258,83	240,50	80,16
Баргузинский район, Улюн	250	250,3±5,02	65,10	60,10	12,02
Итог			323,93	170,40	34,08

Из данных литературы известно, что *A. subviscosa* произрастает только в окрестностях с. Улюн, нами обнаружена новая популяция в окрестностях с. Ярикта, где площадь распространения указанного вида выше в несколько раз. Установлено, что урожайность *A. subviscosa* на конкретных зарослях в районе с. Ярикта составляет до 416,10 г/м^2, биологический запас – 323,93%,

эксплуатационный – 300,6 кг. Возможный ежегодный объем заготовки с 850 м^2 исследованных зарослей составляет 92,18 кг сырья *A. subviscosa.* Произрастание растения сосредоточено в ограниченной местности, заготовка с одной заросли может проходить только через 5 лет, поэтому в целях рационального использования ЛРС нами получены интродукционные популяции *Artemisia subviscosa* (рисунок 21).

Рисунок 21 – *A. subviscosa*, выращенная в условиях интродукции

Определение лабораторной всхожести семян *A. subviscosa* осуществляли в соответствии с ГОСТ [42]. Семена отбирали из дикорастущих видов, собранных в фазу плодоношения в 2017–2018 гг. Для определения всхожести брали четыре пробы по 100 семян, равномерно раскладывали их на смоченной водой фильтровальной бумаге, бумагу помещали в чашки Петри. Проращивание семян проводили при постоянной температуре (29–30^{0}С) в течение 12 дней.

Лабораторная всхожесть семян составила 80±4,85%. Интродукционная площадка располагается в Прибайкальском районе Республики Бурятия, с. Еловка, СНТ «Колос». Растения высаживали семенами, а также подготовленной рассадой. На одной полосе высажено 100 семян, из них взошли только 20. При посадке рассадой процент приживаемости выше – 90%.

4.2. Разработка показателей подлинности *Artemisiae subviscosae herba*

4.2.1. Внешние и микроскопические признаки

Внешние признаки

Макроскопическое исследование проводили в соответствии с [44, 87, 111]. Внешние признаки определяли для цельного, измельченного сырья и порошка *A. subviscosae herba.*

Цельное сырье. Высушенная надземная часть растения, длиной до 40 см, состоит из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей. Цветоносный стебель прямостоячий, цилиндрический, слегка ребристый. Листья простые с округлой или яйцевидной формой листовой пластинки. Нижние и средние стеблевые листья черешковые, 1,5–2,5 см в длину дважды перисторассеченные, с ушками. Корзинки слегка продолговатые или шаровидные, диаметром 2–3,5 мм плод – семянка. Цвет стеблей зеленовато-серый, листьев сверху серовато-зеленый, снизу – серебристо-серый, цветков – желтый. Запах ароматный, своеобразный, сильный, вкус водного извлечения пряно-горький.

Измельченное сырье. Смесь кусочков стеблей, листьев и цветковразличной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм. Цвет отзеленого до серебристо-серого со светло-желтыми, желтовато-зелеными вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкусводного извлечения пряно-горький.

Порошок. Смесь кусочков стеблей, листьев и цветков, проходящих сквозьсито с отверстиями диаметром 2 мм. Цвет от зеленого до серебристо-серого со светло-желтыми, желтовато-зелеными вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкус водного извлечения пряно-горький.

Микроскопические признаки

Микроскопические исследования проводили на микропрепаратах, приготовленных согласно методике [44, 133].

Для листьев характерены изодиаметрические клетки на верхней стороне со слабоизвилистыми стенками эпидермиса, сильноизвилистыми стенками нижнего

эпидермиса. Устьица окружены 5 клетками эпидермиса (аномоцитный тип). Встречаются Т – образные волоски, состоящие из 2–4-клеточной ножки и тонкостенной клетки с заостренными концами, лежащую горизонтально. Опушение преобладает на нижней стороне. На обеих сторонах листа расположены крупные, эфирномасличные железки овальной формы, ярусного типа, состоящие из 8 выделительных клеток. Железки погружены в эпидермис (рисунок 22).

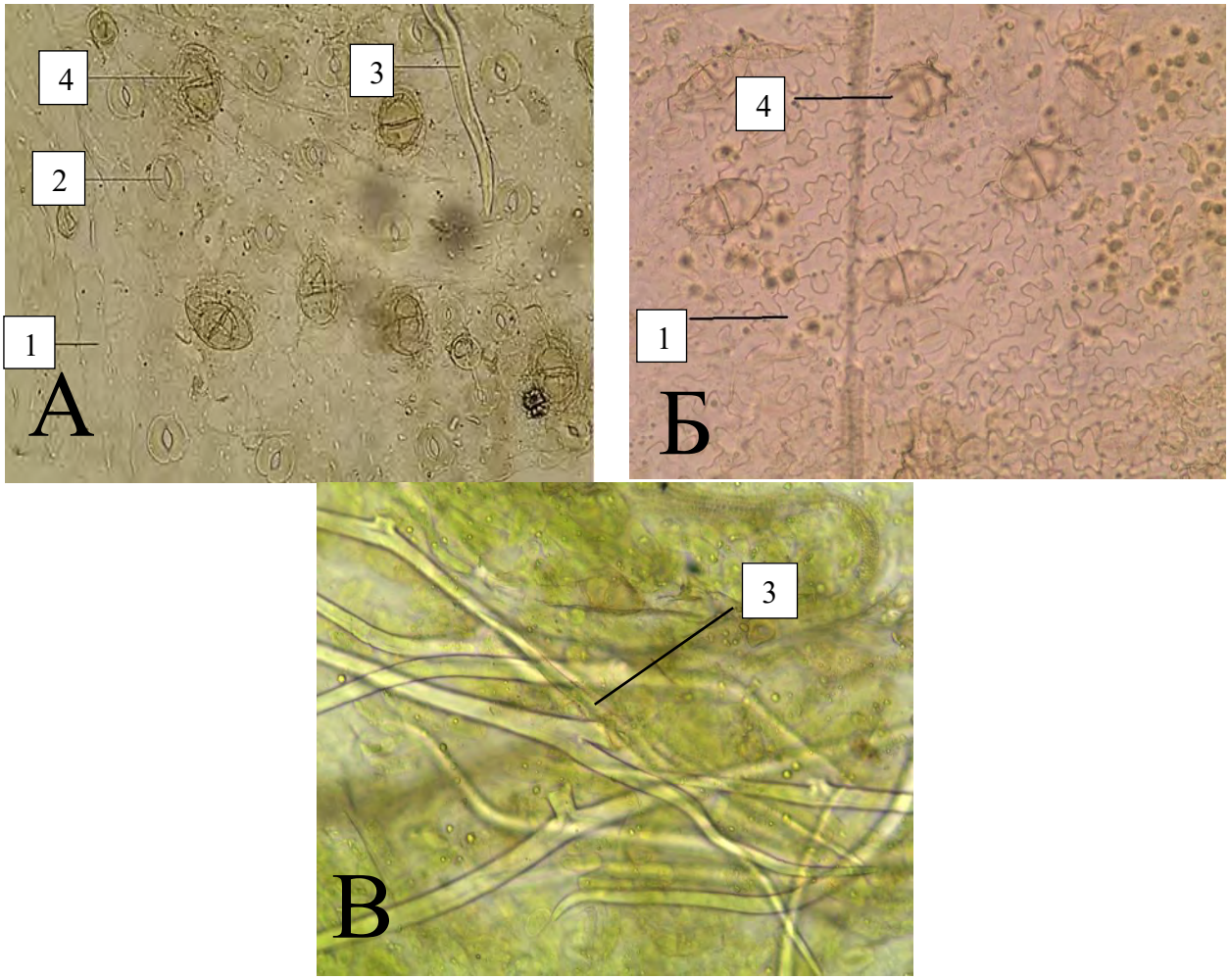


Рисунок 22 – Эпидермис листовой пластинки *A. subviscosa* (ув. х150)
А – верхний эпидермис листа, Б – нижний эпидермис листа; 1 – клетки эпидермиса, 2 – устьице, 3 – эфирномасличная железка, 4 – Т-образный волосок

Эпидермис цветков представлен прямоугольными клетками со слабоизвилистыми стенками. Цветоложе густо опушено простыми бичевидными

волосками, Т-образными волосками, присутствует большое количество эфирномасличных железок (рисунок 23).

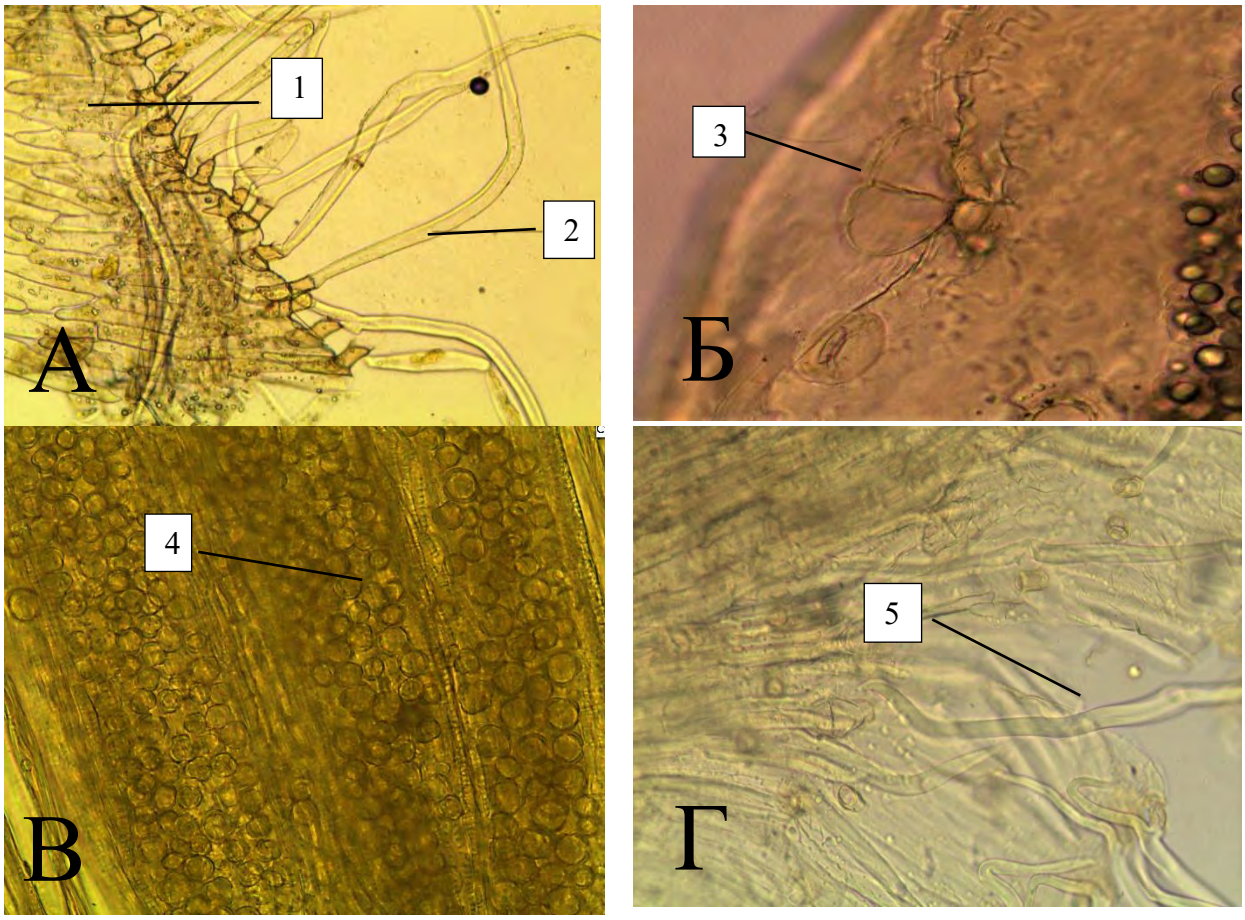


Рисунок 23 – Эпидермис цветка *A. subviscosa* (ув. х150) : А – эпидермис обвертки, Б – эфирномасличная железка, В – пыльник, Г – фрагмент венчика; 1 – клетки эпидермиса, 2 – бичевидные волоски, 3 – эфирномасличная железка, 4 – пыльца, 5 – Т-образный волосок.

Для эпидермиса стебля характерно наличие прямостенных клеток, устьиц аномоцитного типа, эфирномасличных железок ярусного типа. На поперечном срезе видно, что стебель округлой формы, многогранный, первый слой - однослойный эпидермис, далее идет уголковая колленхима. Пучки коллатеральные, открытые, состоят из 2—3 рядов мелких клеток флоэмы и ксилемы. В центре расположены крупные округлые, рыхло-расположенные клетки сердцевинной паренхимы (рисунок 24).

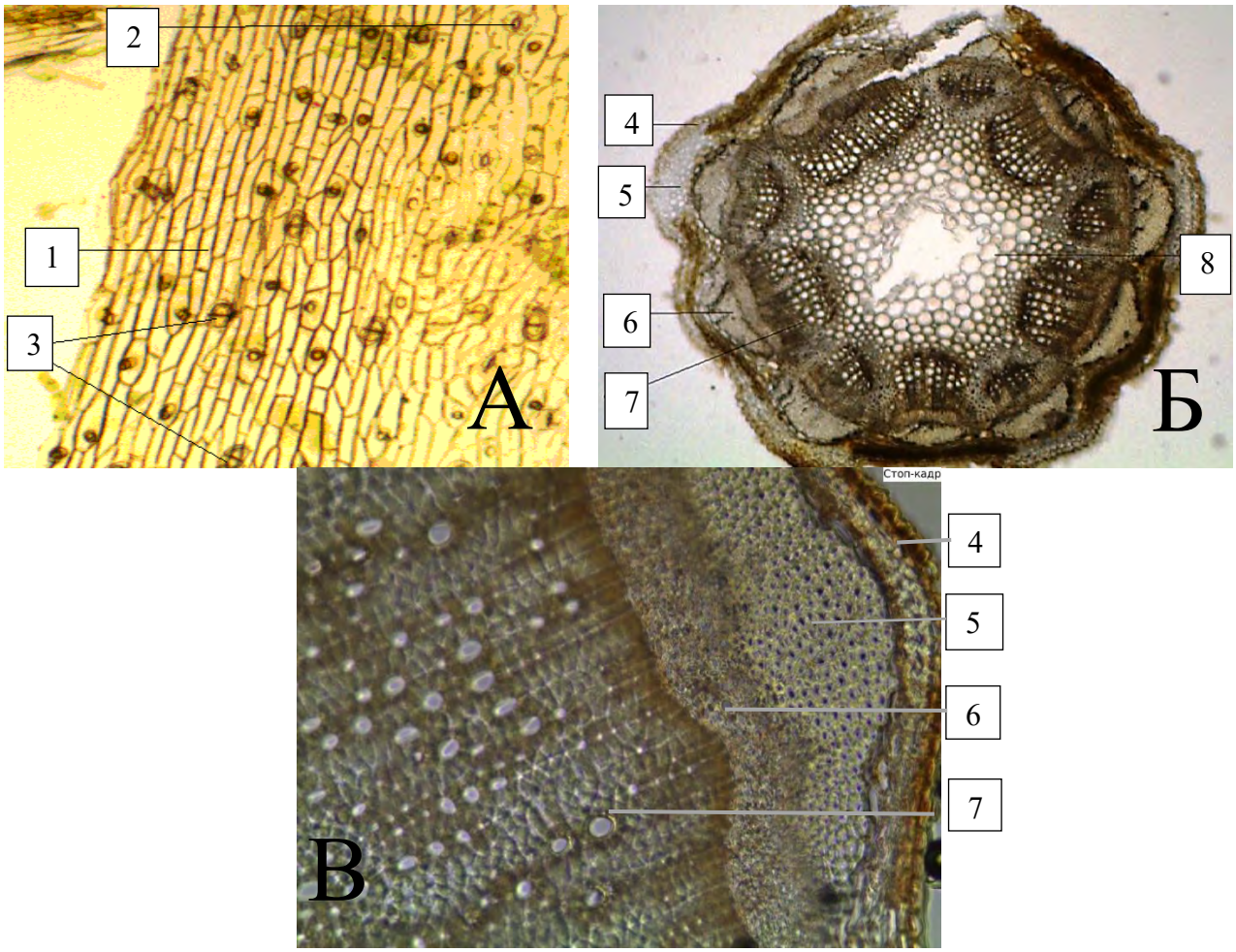


Рисунок 24 – Стебель *A. subviscosa* (ув. х150) : А – продольный срез, Б, В – поперечный срез: 1 – клетки эпидермиса, 2 – устьица, 3 –эфирномасличная железка, 4 – эпидермис; 5 – колленхима; 6 – флоэма; 7 – ксилема; 8 – паренхима.

Так как мы изучаем надземную часть растения, то основные диагностические признаки находятся на листьях. Для определения подлинности сырья, выращенного в условиях интродукции, нами проведена сравнительная характеристика внешних и анатомо-диагностических признаков листьев по сравнению с дикорастущим сырьем (таблица 40).

Таблица 40 – Сравнительная характеристика внешних и микроскопических признаков листа дикорастущего и интродуцированного *A. subviscosa*

Показатель	Дикорастущее растение	Интродуцированное растение
Макроскопические признаки		
Сложность листа	простой	простой

продолжение таблицы 40

Цельность листовой пластинки	дважды перисторассеченная	дважды перисторассеченная
Форма листовой пластинки	яйцевидная	яйцевидная
Прикрепление к стеблю и черешок	короткий черешок	короткий черешок
Характер жилкования	перистое	перистое
Опушение	сильно опушен с нижней стороны листа	сильно опушен с нижней стороны листа
Цвет	зеленый сверху, серебристый-снизу	зеленый сверху, серебристый-снизу
Размеры листовой пластинки	1,5 – 2,5 см	1,5 – 3,0 см
Запах	ароматный	ароматный
Микроскопические признаки		
Характер кутикулы верхнего и нижнего эпидермиса	ровная	ровная
Форма клеток	изодиаметрические, с верхней стороны слабоизвилистые, с нижней - сильноизвилистые	изодиаметрические, с верхней стороны слабоизвилистые, с нижней - сильноизвилистые
Наличие устьиц	Крупные устьица овальной формы, аномоцитного типа	Крупные устьица овальной формы, аномоцитного типа
Наличие и строение волосков	Т-образные волоски	Т-образные волоски
Наличие желёзок	Овальные эфирномасличные железки ярусного типа	Овальные эфирномасличные железки ярусного типа

Таким образом, внешние и анатомо-диагностические признаки интродуцированного сырья *A. subviscosa* соответствуют дикорастущему.

4.3. Испытания для определения доброкачественности сырья

4.3.1. Разработка методики определения содержания эфирного масла в *A. subviscosae herba*

Нами изучена динамика накопления эфирных масел в зависимости от фазы развития и органов *A. subviscosa*, и определено, что наибольшее количество эфирного масла содержится в надземной части, собранной в период цветения. На выход эфирных масел влияют следующие факторы: степень измельчения сырья, время экстракции.

Определение содержания эфирных масел проводили методом 2 с использованием видоизмененной насадки Клевенджера (ОФС.1.5.3.0010.15).

Для установления оптимальной степени измельчения сырья исследованы эфирные масла, полученные из сырья, измельчённого до 1 мм, 2 мм, 3 мм, 5 мм. Гидродистилляцию проводили в течение 3 ч. По результатам анализа видно, что наибольший выход эфирного масла – 1,4% – получен при экстракции сырья с размером частиц 1 мм, а наименьший выход при измельченности сырья 5 мм – 0,35% (таблица 41).

Таблица 41 – Выход эфирного масла *A. subviscosae herba* в зависимости от степени измельчения сырья, %

№	Степень измельчения, мм	Выход эфирных масел, %
1	1	1,40
2	2	1,10
3	3	0,40
4	5	0,35

Кроме выхода эфирных масел необходимо учитывать и количественное содержание константных компонентов, таких как: сантолина триен, гермакрен D, β-селинен, α-селинен, α-бульнесен, δ-кадинен, кариофиллен оксид, кариофиллен, γ-мууролен, ацифиллен, ацифилловая кислота, спатчуленол (таблица 42).

Таблица 42 – Компонентный состав эфирного масла *A. subviscosae herba* в зависимости от степени измельчения сырья

№	Компонент	RI	Степень измельчения, мм			
			1	2	3	5
1	Сантолина триен	908	7,03	6,35	6,10	5,07
2	Гермакрен D	1484	2,88	2,70	2,10	1,94
3	β-селинен	1488	5,79	2,71	2,35	2,05
4	α-Селинен	1496	5,10	3,83	2,68	1,67
5	α-Бульнесен	1508	2,35	+	+	+
6	δ-Кадинен	1527	2,39	+	+	+
7	Кариофиллен оксид	1586	8,23	10,31	7,80	+
8	Кариофиллен	1422	15,38	10,84	8,10	7,80
9	γ-Мууролен	1471	2,70	+	+	+
10	Ацифиллен	1500	1,95	+	+	+
11	Ацифилловая кислота	1773	46,01	40,15	36,12	35,07
12	Спатчуленол	1580	3,72	7,82	+	14,30

Сравнение компонентного состава образцов эфирного масла *A. subviscosae herba* показало, что наибольшее содержание доминирующих компонентов зафиксировано при степени измельчения 1 мм.

Далее проводили исследование выхода эфирного масла *A. subviscosae herba* в зависимости от времени экстракции: сырье, проходящее сквозь сито диаметром 1 мм (таблица 43).

Таблица 43 – Выход эфирного масла *A. subviscosae herba* в зависимости от времени экстракции, %

№	Время экстракции, ч	Выход эфирных масел, %
1	2	0,40
2	4	1,75
3	5	1,40
4	6	1,40

Наибольший выход эфирных масел наблюдается при экстракции в течение 4 ч. Константными компонентами вне зависимости от времени гидродистилляции являются: гермакрен D, *β*-селинен, *α*-селинен, *δ*-кадинен, кариофиллен оксид, кариофиллен, ацифиллен, ацифилловая кислота, спатчуленол.

Таким образом, установлено, что оптимальными условиями выделения эфирного масла *A. subviscosae herba* являются: степень измельчения сырья – 1 мм, продолжительность экстракции – 4 ч.

Методика эксперимента: около 30,0 г (точная навеска) измельченного сырья (1 мм), переносят в круглодонную колбу объемом 1000 мл, добавляют 600 мл воды. К колбе присоединяют паропроводную трубку и заполненную водой градуированную трубку. Подключают к обратному холодильнику. Кипятят 4 ч, измеряют объем и отбирают выделившееся эфирное масло.

Содержание эфирного масла в абсолютно сухом сырье в массо-объемных процентах (X) вычисляют по формуле:

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

V – объем эфирного масла, мл.;

a – навеска лекарственного растительного сырья, г.;

W – влажность лекарственного растительного сырья, %.

Метрологические характеристики методики представлены в таблице 44.

Таблица 44 – Метрологические характеристики методики выхода эфирного масла из *A. subviscosae herba*

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
3	2	1,70	0,001	0,04	95	4,30	0,06	3,43

Выход эфирного масла из *A. subviscosae herba* составляет 1,70±0,06%. Относительная ошибка методики не превышает 5%.

4.3.2. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в *A. subviscosae herba*

Так как содержание эфирных масел непостоянно и зависит от различных факторов (климатических условий, места произрастания и др.), необходима стандартизация сырья по другим, более стабильным вторичным метаболитам, поэтому предлагаем методику - по содержанию суммы флавоноидов, так как они также являются преобладающей группой БАВ и обладают высокой биологической активностью.

Для разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в *A. subviscosae herba* в качестве стандартного образца выбран лютеолин-7-гликозид, максимум поглощения при 400 нм (рисунок 25).

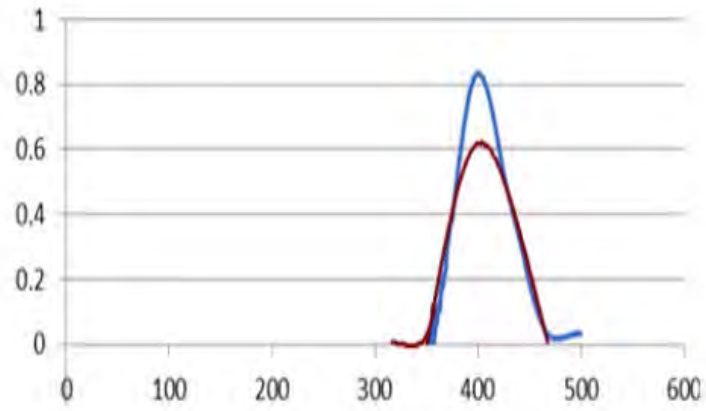


Рисунок 25 – Спектр поглощения 40% спиртового извлечения *A. subviscosae herba* и СО лютеолин-7-гликозида

Определены условия выделения: тип экстрагента, размер частиц сырья, температура, соотношение сырья и экстрагента, продолжительность и количество

экстрагирования, объем раствора $AlCl_3$, необходимого для комплексообразования, концентрация спиртового раствора $AlCl_3$, время комплексообразования.

При подборе экстрагента использовали сырье, проходящее сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. В качестве экстрагента брали спирт разной концентрации, экстрагировали в течение 30 мин (таблица 45).

Таблица 45 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* в зависимости от типа экстрагента

№	Концентрация этилового спирта, %	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1	10	1,25
2	20	1,40
3	30	1,70
4	**40**	**2,10**
5	50	1,57
6	60	1,16
7	70	1,10
8	80	0,98
9	90	0,85
10	95	0,72

Максимальный выход суммы флавоноидов наблюдается при использовании этилового спирта 40% в качестве экстрагента.

При подборе наилучшей степени измельчения изучали сырье разной степени изчельченности: 0,5, 1, 2, 3, 4 мм (таблица 46). Сырье экстрагировали этиловым спиртом 40%, время экстракции 30 минут.

Таблица 46 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозида в *A. subviscosae herba* в зависимости от степени измельчения сырья

№	Степень измельчения сырья, мм	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1	0,5	1,96
2	**1**	**2,32**
3	2	2,10
4	3	1,81
5	4	1,50

Наибольший выход суммы флавоноидов отмечен при размере частиц сырья равному 1 мм (2,32 %).

Исследована зависимость выхода суммы флавоноидов от температуры нагрева водяной бани. Использовали следующие температуры: 20; 40; 60; 80; 100°С (таблица 47)

Таблица 47 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* в зависимости от температуры

№	Температура, °С	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1	20	1,30
2	40	1,43
3	60	1,51
4	80	1,93
5	**100**	**2,10**

Установлена зависимость выхода действующих веществ от температуры – 100 ºС (кипящая водяная баня).

Подобраны условия выхода суммы флавоноидов от соотношения сырье:экстрагент (таблица 48).

Таблица 48 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* в зависимости от соотношения сырья:экстрагента

№	Соотношение сырье:экстрагент	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1	1:25	1,65
2	**1:50**	**2,03**
3	1:75	1,84
4	1:100	1,50
5	1:150	1,15

Выявлено, что соотношение 1:50 способствует наибольшему выходу суммы флавоноидов из растительного сырья 2,00%.

Для определения продолжительности экстракции *A. subviscosae herba* трехкратно экстрагировали 15, 30, 45, 60, 75 и 90 минут. После первой экстракции полученные извлечения отфильтровывали, определяли содержание суммы

флавоноидов. После два раза повторяли экстракцию отжатого сырья в тех же условиях (таблица 49).

Таблица 49 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* в зависимости от времени и кратности экстракций

№	Время экстракции, мин	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %		
		Кратность экстракции		
		1	2	3
1	15	1,55	0,61	0,07
2	**30**	**2,00**	**0,97**	**0,12**
3	45	1,86	0,79	0,07
4	60	1,80	0,64	0,07
5	75	1,65	0,53	0,05
6	90	1,57	0,50	0,04

Оптимальное время экстракции – 30 мин двукратно.

Определена зависимость выхода суммы флавоноидов от концентрации и объема раствора $AlCl_3$, и времени комплексообразования (таблица 50).

Таблица 50 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* в зависимости от концентрации и объема $AlCl_3$, времени комплексообразования

№	Показатель	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
Концентрация раствора $AlCl_3$, %		
1	1	1,89
2	**2**	**1,98**
3	3	1,85
4	4	1,85
5	5	1,84
Объем раствора $AlCl_3$, мл		
6	1	1,92
7	**2**	**2,00**
8	3	1,84
9	4	1,76
10	5	1,70
Время комплексообразования, мин		
11	15	1,90
12	30	1,92
13	**45**	**1,95**
14	60	1,93

продолжение таблицы50

15	75	1,87
16	90	1,83

Оптимальная концентрация спиртового раствора $AlCl_3$ – 2%, объем – 2 мл, время комплексообразования 45–60 мин.

Таким образом, разработаны оптимальные условия извлечения суммы флавоноидов из *A. subviscosae herba*: сырье, измельченное до 1 мм двукратно экстрагируют этанолом 40 % (1:50) 30 минут. Полученные параметры легли в основу методики количественного определения суммы флавоноидов *A. subviscosae herba*.

Методика эксперимента:

Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья (1 мм) помещают в колбу со шлифом объемом 100 мл, прибавляют 50 мл этанола 40%. Колбу взвешивают с погрешностью ±0,01 г, кипятят 30 минут на водяной бане с обратным холодильником. Смесь охлаждают, колбу взвешивают, доводят до первоначальной массы этанолом 40%. Извлечение отфильтровывают, экстракцию повторяют еще раз указанным выше способом. Объединенные извлечения фильтруют через тот же фильтр (раствор А испытуемого раствора). 1 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу объемом 25 мл, добавляют 2 мл 2% раствора $AlCl_3$ в C_2H_5OH и 1 каплю уксусной кислоты разведенной, доводят объем раствора спиртом этиловым 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б измеряют через 45 мин при длине волны 400 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Раствор сравнения – в мерную колбу (25 мл) переносят 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, прибавляют 50 мкл уксусной кислоты разведенной и доводят до метки этанолом 96%.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО лютеолин-7-гликозида: в мерную колбу (25 мл) переносят 1,0 мл раствора А СО лютеолин-7-

гликозида, добавляют 50 мкл уксусной кислоты раствора и доводят до метки этанолом 96%, перемешивают.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в абсолютно-сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times b_1 \times V_0 \times V'_0 \times (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;A_0 – оптическая плотность раствора Б СО лютеолин-7-гликозида; а – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО лютеолин-7-гликозида, г; b_0 – объем аликвоты раствора А СО лютеолин-7-гликозида, взятого для разведения (1 мл);b_1 – объем аликвоты раствора А испытуемого раствора, взятого для разведения (1 мл); V_0 – объем раствора А СО лютеолин-7-гликозида (25 мл); V'_0 – объем раствора Б стандартного образца (25 мл); V_1 – объем раствора А испытуемого раствора (100 мл); V_2 – объем раствора Б испытуемого раствора (25 мл); W – влажность сырья, %.

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида. Около 0,01 г (точная навеска) СО лютеолин-7-гликозида, высушенного при температуре 100–105 ^{0}С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96%, нагревают на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО лютеолин-7-гликозида). Срок годности раствора – 30 сут.

Около 1,00 мл раствора А СО лютеолин-7-гликозида помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, 2 мл алюминия хлорида раствора 2%, доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО лютеолин-7-гликозида)

Допускается содержания суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса лютеолина-7-глюкозида с алюминия хлоридом.

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1см}^{1\%} \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot 62500}{A_{1см}^{1\%} \cdot a \cdot (100 - W)}$$, где

А – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

$A_{1см}^{1\%}$– удельный показатель поглощения комплекса лютеолин-7-гликозида с алюминия хлоридом при длине волны 400 нм, равны 145; а – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %.

Метрологические характеристики методики количественного определения представлены в таблице 51.

Таблица 51 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	2,03	0,001	0,04	95	2,77	0,04	2,18

Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* составляет 2,03±0,04%. Относительная ошибка методики не превышает 5%.

4.3.3. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов

Правильность. Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное. Правильность методики проверяли на модельных смесях СО лютеолин-7-гликозида. Модельные смеси готовили в трех концентрациях с содержанием лютеолина в % к исходной концентрации 80, 100, 120. Определение проводили в трех повторностях для каждой концентрации (таблица 52).

Таблица 52 – Результаты правильности количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид

№ определения	Содержание СО лютеолин-7-гликозида в модельной смеси, мг	Экспериментально найденное значение	
		Абсолютная величина, мг	Процент восстановления, %
1	8,00	8,21	102,63
2	8,00	8,01	100,13
3	8,00	7,88	98,50
среднее			100,42
1	10,00	10,15	101,50
2	10,00	10,13	101,30
3	10,00	9,76	97,60
среднее			101,13
1	12,00	12,10	100,83
2	12,00	12,03	100,25
3	12,00	11,86	98,83
среднее			99,97
Средний процент восстановления			100,51

Средний процент восстановления правильности методики составил 100,51%, что находится в рекомендуемых пределах 95,0–105,0 %.

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания суммы флавоноидов в растительном сырье с добавлением стандартного образца лютеолин-7-гликозида из расчета 80, 100, 120% от содержания в сырье. Полученные результаты прдставлены в таблице 53.

Таблица 53 – Результаты опытов с добавками СО лютеолин-7-гликозида

Содержание флавоноидов в аликвоте (мкг)	Количество добавленного лютеолин-7-гликозида (мкг)	Ожидаемое количество флавоноидов (мкг)	Полученное количество флавоноидов (мкг)	Ошибка	
				абс., мкг	отн., %
100,00	80,00	180,00	181,52	+1,25	0,69
100,00	80,00	180,00	179,16	-0,84	0,47
100,00	80,00	180,00	180,54	+0,54	0,30
100,00	100,00	200,00	200,88	+0,88	0,44
100,00	100,00	200,00	198,81	-1,19	0,60
100,00	100,00	200,00	201,74	+1,74	0,86
100,00	120,00	220,00	219,65	-0,35	0,16
100,00	120,00	220,00	220,93	+0,93	0,42
100,00	120,00	220,00	218,74	-1,26	0,58

Относительная ошибка в опытах с добавками не превышает относительной ошибки среднего результата (±2,19%), что свидетельствует о правильности методики и об отсутствии систематической ошибки.

Сходимость. Повторяемость (сходимость) аналитической методики оценивают по независимым результатам, полученным в одинаковых регламентированных условиях в одной лаборатории (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор реактивов) в пределах короткого промежутка времени. Испытание проводили в разные дни с использованием спектрофотометра ПЭ-5400 УФ одним и тем же специалистом на одном образце *A. subviscosae herba* в 6 повторностях (таблица 54).

Таблица 54 – Результаты определения сходимости методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид

Дата испытания	Содержание суммы флавоноидов в сырье 1,00%					
	№	Содержание флавоноидов, %	Стандартное отклонение, S	Относительное стандартное отклонение, %	Критерий Стьюдента	
					Экс.	Таб.
Первый день испытания						
	1	2,10				
	2	2,05				
	3	1,97	0,0659	3,23	0,37	2,57
	4	1,99				
	5	2,07				
	6	2,08				
Среднее		2,04				
Второй день испытания						
	1	2,05				
	2	1,98				
	3	2,03	0,0576	2,83	0,85	2,57
	4	2,05				
	5	1,97				
	6	2,08				
Среднее		2,03				

Сходимость методики количественного определения суммы флавоноидов не превышает 3,23%. Экспериментальное значение Критерия Стьюдента не превышает табличные данные.

Межлабораторная воспроизводимость характеризует меру совпадения результатов измерений, полученных одним и тем же методом, на идентичных образцах, в разных лабораториях, разными операторами, с использованием различного оборудования, за относительно длинный промежуток времени между измерениями. Воспроизводимость методики проводили на одном образце *A. subvisosae herba* в двух лабораториях на приборах ПЭ-5400 УФ (Экохим) в шести повторностях. Результаты представлены в таблице 55.

Таблица 55 – Воспроизводимость методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид

Дата испытания	Содержание суммы флавоноидов в сырье 1,00%					
	№	Содержание флавоноидов, %	Стандартное отклонение, S	Относительное стандартное отклонение, %	Критерий Стьюдента	
					Экс.	Таб.
Лаборатория №1						
	1	2,00				
	2	2,03				
	3	2,01	0,0781	3,91	1,57	2,57
	4	1,95				
	5	1,97				
	6	2,03				
Среднее		2,00				
Лаборатория №2						
	1	1,98				
	2	1,99				
	3	2,01	0,0769	3,81	0,96	2,57
	4	2,05				
	5	2,02				
	6	2,05				
Среднее		2,02				

Относительное стандартное отклонение не превышает 15%.

Специфичность. Специфичность аналитического метода – это способность достоверно определять вещество в присутствии примесных соединений, продуктов деградации и вспомогательных веществ. Специфичность методики определяли путем сравнивания спектров 40% спиртового извлечения *A. subviscosae herba*, полученного по методике количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, и раствора СО лютеолин-7-гликозид (рисунок 26).

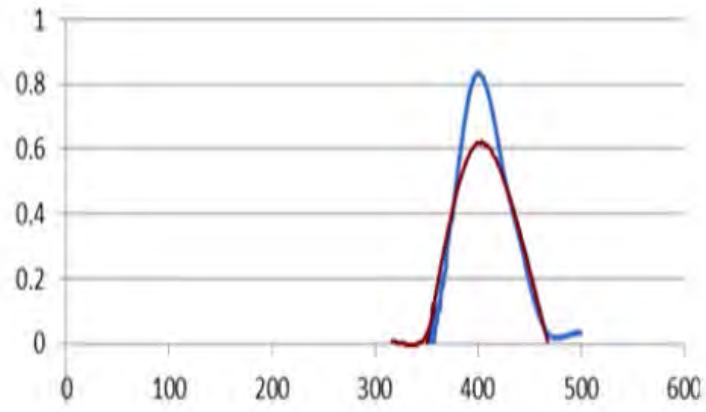


Рисунок 26 – Спектр поглощения 40% спиртового извлечения *A. subviscosae herba* и СО лютеолин-7-гликозида

Максимум поглощения 40% спиртового извлечения *A. subviscosae herba* совпадает с максимумом поглощения раствора СО лютеолина при длине волны 400 нм.

Линейность. Линейность методики определяли на 6 уровнях концентраций лютеолин-7-гликозида (от нормируемого содержания – 20, 40, 60, 80, 100, 120%) от теоретического содержания лютеолин-7-гликозида в *A subviscosae herba* (таблица 56).

Таблица 56 – Зависимость оптической плотности от концентрации СО лютеолин-7-гликозида

Содержание СО лютеолин-7-гликозида в % от нормируемого	Концентрация СО лютеолин-7-гликозида, мкг/мл (в измеряемом растворе)	Оптическая плотность D	Коэффициент корреляции	y=b·x+a	
				b	a
20	2,41	0,231			
40	4,81	0,455			
60	7,16	0,600	0,991	0,0601	0,1537
80	9,35	0,732			
100	11,60	0,855			
120	14,00	0,945			

Установлена зависимость оптической плотности от концентрации лютеолин-7-гликозиды. График описывается уравнением y=0,0601x + 0,1537, коэффициент корреляции составил 0,991.

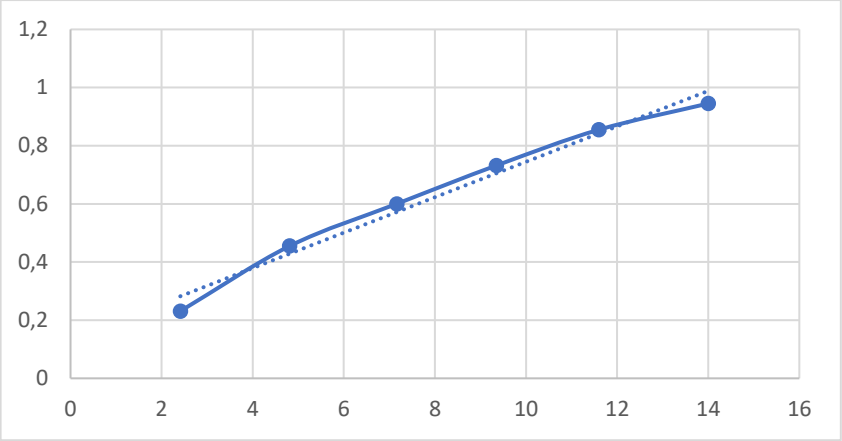


Рисунок 27 – График зависимости оптической плотности от концентрации СО лютеолин-7-гликозида

Линейная зависимость охватывает нижний предел содержания лютеолин-7-гликозида *A. subviscosae herba* (не менее 2,03%), линейность метода сохраняется в интервале концентраций 2,41–14,00 мгк/мл.

Таким образом, предложенный спектрофотометрический метод определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* соответствует показателям валидации: правильности, прецизионности, специфичности и линейности и включен в нормативные документы на сырье.

4.3.4. Показатели доброкачественности сырья

Анализ проводили на 5 партиях сырья, собранного в Баргузинском районе Республики Бурятия в фазу цветения в период с 2016–2017 гг. по ГФ XIV. Для установления доброкачественности определяли следующие показатели: содержание действующих веществ, сумма экстрактивных веществ (рисунок 27), влажность, зола общая, зола, не растворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты, степень измельченности, посторонние примеси. Полученные данные приведены в таблица 57.

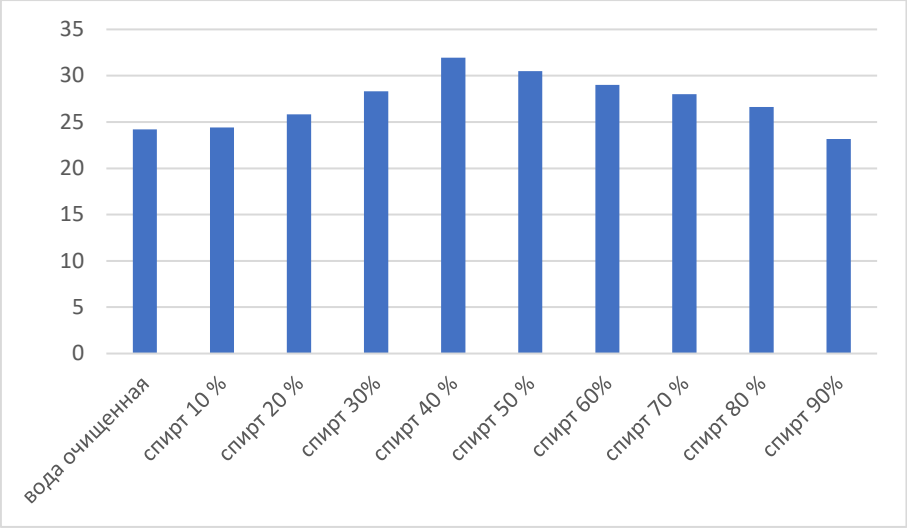


Рисунок 27 – Влияние концентрации растворителя на выход экстрактивных веществ

Таблица 57 – Показатели доброкачественности и установленные нормы количественного содержания для *A. subviscosae herba*

Показатель	Партия					Содержание
	1	2	3	4	5	
Содержание эфирного масла (в пересчете на а.с.с.), %	1,70	1,92	1,05	0,98	1,20	Не менее 0,5%
Содержание суммы флавоноидов (в пересчете на лютеолин-7-гликозид), %	2,00	1,85	2,03	2,20	1,98	Не менее 1,5%
Сумма экстрактивных веществ (экстрагент 40% этиловый спирт), %	30,94	29,65	29,15	29,73	28,40	Не менее 25%
Влажность, %	7,32	7,17	5,41	8,25	7,34	Не более 10%
Зола общая, %	6,16	6,34	7,15	6,81	7,44	Не более 10%
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, %	0,64	0,38	0,40	0,72	0,45	Не более 1%
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, % (для цельного сырья)	0,50	0,50	0,30	0,70	0,50	Не более 1%
Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм	1,50	1,75	2,05	1,53	2,12	Не более 5%
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм	2,55	2,74	1,87	3,58	2,31	Не более 5%
Частиц, изменивших окраску (потемневшие и почерневшие), %	0,58	0,43	0,40	0,35	0,27	Не более 1%
Органическая примесь, %	-	0,10	-	-	0,25	Не более 1%
Минеральная примесь, %	0,50	0,20	0,20	0,2-	0,3	Не более 1%

Таким образом, установлены показатели доброкачественности и их нормы для цельного и измельченного сырья *A. subviscosa, которые вошли в* проект Фармакопейной статьи на *A. subviscosae herba* (приложение 1).

4.4. Разработка способа получения настойки *A. subviscosae herba*

Так как официнальной лекарственной формой, получаемой из полыни горькой травы, является настойка, с целью расширения ассортимента лекарственных средств нами предложен способ получения настойки *A. subviscosae herba*. Исходным сырьем для получения настойки является *A. subviscosae herba*, собранная в с. Ярикта Баргузинского района Республики Бурятия в фазу цветения в 2018 г.

При производстве настоек основной технологической операцией является экстрагирование лекарственного сырья. Совершенствование и интенсификация производства, с целью повышения выхода продукта, требуют детального рассмотрения различных факторов, влияющих на процесс экстрагирования действующих веществ из ЛРС [65, 89, 16].

Фармакопейным методом получения настоек является мацерация [44].

Использование метода экстрагирования с магнитной мешалкой в среде экстрагента позволило значительно увеличить скорость и полноту экстрагирования из сырья. Количественная оценка велась по выходу экстрактивных веществ, суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид (таблица 58).

Таблица 58 – Содержание экстрактивных веществ, суммы флавоноидов в *A. subviscosae herba* в зависимости от метода экстракции

№	Метод экстракции	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1.	Мацерация (7 сут)	22,02	1,40
2.	Экстракция на магнитной мешалке	20,45	1,38
3.	Экстракция на лабораторном шейкере	20,41	1,36

Выход БАВ с использованием экстракции на магнитной мешалке и мацерации в течение 7 суток почти одинаков, применение экстрагирования с магнитной мешалкой позволит значительно увеличить скорость и полноту экстрагирования из сырья.

Для наилучшего выхода БАВ нами были подобраны оптимальные условия экстрагирования *A. subviscosae herba*, влияющие на выход биологически активных веществ: тип экстрагента, степень измельчения сырья, соотношение сырье: экстрагент, время и кратность экстрагирования.

При подборе оптимального экстрагента использовали этанол различной концентрации: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95%. Результаты исследования представлены в таблице 59.

Таблица 59 – Выход БАВ *A. subviscosae herba* в зависимости от концентрации спирта этилового

№	Концентрация спирта,%	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1.	10	21,53	0,37
2.	20	23,12	0,46
3.	30	24,87	0,75
4.	40	27,39	1,35
5.	50	28,34	1,73
6.	60	28,60	1,76
7.	**70**	**28,84**	**1,98**
8.	80	25,21	1,50
9.	90	20,37	1,14
10.	95	15,73	1,10

Из таблицы видно, что при экстрагировании спиртом 50, 60, 70% наблюдаются близкие значения суммы экстрактивных веществ, но наибольший выход суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид отмечен при использовании 70% спирта.

Далее изучали выход БАВ от степени измельченности растительного сырья, *A. subviscosae herba* измельчали до размера частиц 0.5; 1,0; 2,0; 3,0 и 4,0 мм (таблица 60).

Таблица 60 – Выход БАВ *A. subviscosae herba* в зависимости от степени измельчения

№	Степень измельчения, мм	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1.	0,5	26,53	1,90
2.	**1,0**	**28,12**	**1,96**
3.	2,0	27,87	1,76

продолжение таблицы 60

4.	3,0	27,29	1,44
5.	4,0	26,34	1,34

По результатам исследования видно, что наибольший выход экстрактивных веществ и суммы флавоноидов наблюдается при степени измельчения – 1,0 мм.

Изучена зависимость выхода суммы экстрактивных веществ и флавоноидов от соотношения сырья и экстрагента. Оптимальным соотношением сырья к экстрагенту является 1:5. Дальнейшее увеличение соотношения нецелесообразно, так как выход действующих веществ незначителен, а также увеличивает расход экстрагента (таблица 61).

Таблица 61 – Выход БАВ *A. subviscosae herba* в зависимости от соотношения сырье:экстрагент

№	Соотношение сырье:экстрагент	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %
1.	1:1	22,83	1,13
2.	1:2	23,13	1,25
3.	1:3	25,76	1,32
4.	1:4	27,31	1,77
5.	**1:5**	**27,96**	**1,96**
6.	1:6	28,10	1,80
7.	1:7	26,85	1,74
8.	1:8	25,30	1,65
9.	1:9	25,05	1,60
10.	1:10	24,40	1,51

Продолжительность экстракции напрямую влияет на выход биологически активных веществ. Для этого *A. subviscosae herba* экстрагировали трехкратно спиртом 70% в соотношении 1:5 в течение заданного времени (15, 30, 60, 90, 120 мин). После первой экстракции извлечения фильтровали, определяли содержание суммы экстрактивных веществ и флавоноидов. Затем проводили две последующие экстракции отжатого сырья при тех же промежутках времени, в количестве, равном объему предыдущих слитых извлечений, тем же экстрагентом. Извлечения также анализировали на содержание суммы экстрактивных веществ и флавоноидов (таблица 62).

Таблица 62 – Выход БАВ *A. subviscosae herba* в зависимости от времени экстрагирования и кратности экстракции

Время, мин	Сумма экстрактивных веществ, %			Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид, %		
	Контакт фаз			Контакт фаз		
	I	II	III	I	II	III
15	25,06	8,05	3,10	1,10	0,47	0,05
30	**28,35**	**10,15**	**3,55**	**1,90**	**1,05**	**0,08**
60	29,72	12,02	3,50	1,48	0,81	0,06
90	28,15	9,76	3,25	1,20	0,63	0,06
120	26,74	9,40	3,08	0,98	0,50	0,04

Таким образом, установлено оптимальное время экстракции 30 минут, двухкратно. В результате исследования разработаны условия получения настойки *A. subviscosae herba*: экстрагент – спирт 70%, степень измельчения сырья – 1 мм, соотношение экстрагента к сырью – 1:5, кратность – 2 и продолжительность экстракции – 30 минут.

Полученная настойка представляет собой прозрачную жидкость зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом, горького, слегка вяжущего вкуса.

Стандартизация настойки *A. subviscosae herba*

При стандартизации настойки *A. subviscosae herba* использовали качественные реакции и методы тонкослойной хроматографии, для определения БАВ, ранее разработанную методику количественного определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид и изучение летучей фракции настойки *A. subviscosae herba* методом ГХ-МС.

Обнаружение БАВ в настойке *A. subviscosae herba*

Наличие основных групп БАВ в настойке проведено по общепринятым методикам. В результате проведенных качественных реакций в настойке идентифицированы фенольные соединения: флавоноиды, кумарины, дубильные вещества, аскорбиновая кислота.

Обнаружение лютеолин-7-гликозида и хлорогеновой кислоты проводили методом ТСХ согласно методике, описанной в главе 2, п.п. 2.2. На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживали зону адсорбции коричнего цвета (Rf=0,75±0,02) на белом фоне на уровне зоны раствора СО лютеолин-7-гликозида

и зону адсорбции голубого цвета на уровне зоны СО хлорогеновой кислоты (Rf=0,56±0,02).

Обнаружение аскорбиновой кислоты проводили методом ТСХ. На хроматограмме раствора СО аскорбиновой кислоты обнаруживали зону адсорбции белого цвета на розовом фоне (Rf=0,91) На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживали зону адсорбции белого цвета на розовом фоне на уровне зоны на хроматограмме раствора СО аскорбиновой кислоты. Допускается обнаружение других зон адсорбции.

Состав летучей фракции настойки *A. subviscosae herba*

20 мл настойки *A. subviscosae herba* переносили в делительную воронку, добавляли 5 мл гексана, интенсивно встряхивали 1-2 минуты. Отбирали гексановый слой для анализа на ГХ-МС. Результаты представлены на рисунке 28.

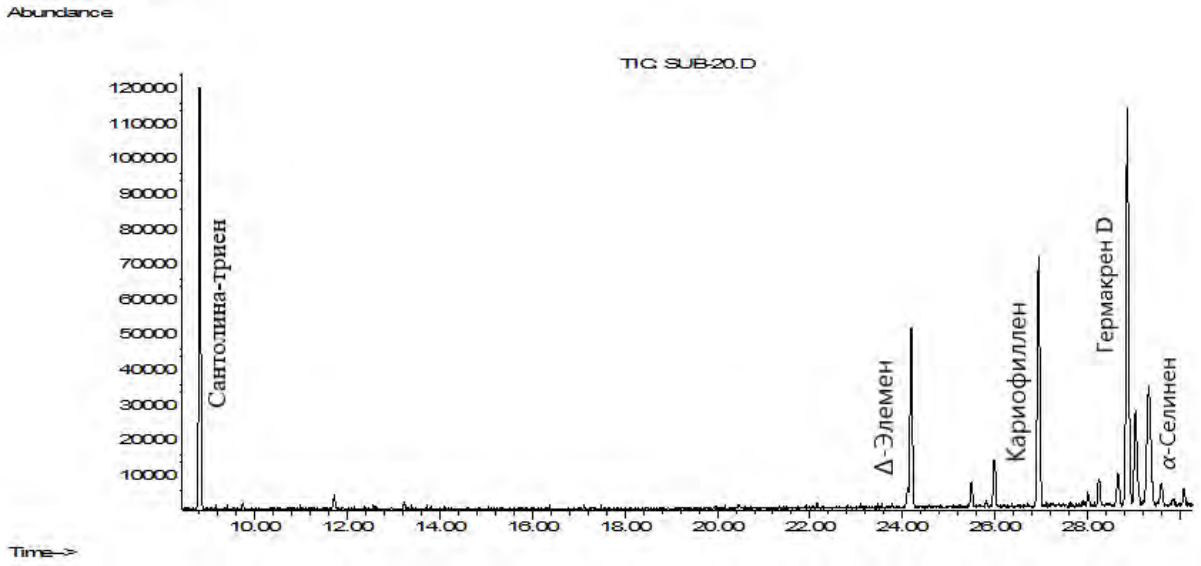


Рисунок 28 – Хроматограмма летучей фракции настойки *A. subviscosae herba*

По результатам анализа, выявлено, что в настойку *A. subviscosae herba* переходят доминирующие компоненты эфирного масла: сантолина-триен (29,50%), Δ-элемен (15,00%), гермакрен D (25,50 %), *α*-селинен (4,55%), кариофиллен (25,45 %).

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что по качественному составу происходит переход основных БАВ.

Для количественной оценки разработана методика количественного определения определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в настойке *A. subviscosae*

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в настойке *A. subviscosae herba*

Около 2,00 мл настойки *A. subviscosae herba* переносят в мерную колбу объемом 25 мл, доводят объем раствора до метки этанолом 70% (раствор А). 2 мл раствора А помещают в мерную колбу объемом 25 мл, прибавляют 2 мл $AlCl_3$ в C_2H_5OH 2% и доводят объем раствора до метки этанолом 70% (испытуемый раствор Б).

Раствор сравнения – раствор без $AlCl_3$ в C_2H_5OH 2% (раствор сравнения Б). Оптическую плотность измеряют при длине волны 400 нм в кювете толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО лютеолин-7-гликозида.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100}{A_0 \times b_1 \times b_2 \times V_0 \times V'_0},$$ где

Где: А – оптическая плотность настойки ; A_0 – оптическая плотность СО; лютеолина-7-гликозида; a_0 – навеска СО лютеолин-7-гликозида, г; V_0 – объем раствора А СО лютеолин-7-гликозида; b_0 – объем аликвоты раствора А СО лютеолин-7-гликозида, взятого для разведения (1 мл); $V^{/}_0$ – объем раствора Б СО лютеолин-7-гликозида (25 мл); b_1 – объем аликвоты настойки, взятой для разведения, мл (2 мл); V_1 – объем разведенной настойки, мл (25 мл); b_2 – объем раствора А настойки, взятого для разведения (2 мл); V_2 – объем раствора Б настойки, мл (25 мл).

Приготовление раствора стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида: Около 0,01 г (точная навеска) СО лютеолин-7-гликозида,

высушенного при температуре 100-105^{0}С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96%, нагревают на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО лютеолин-7-гликозида). Срок годности раствора – 30 сут.

1 мл раствора А СО лютеолин-7-гликозида помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО лютеолин-7-гликозида).

Таблица 63 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в настойке *A. subviscosae herba*

n	f	$\bar{x}$, %	S	S$\bar{x}$	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	1,91	0,04	0,02	95	2,77	0,06	2,88

Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в настойке *A. subviscosae herba* составляет 1,91±0,06 %.

Определение антирадикальной активности настойки *A. subviscosae herba*

Антирадикальную активность образцов растений оценивали в методе с применением стабильного радикала – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ-тест). К настойке *A. subviscosae herba* (в концентрации 2-10 мкл/мл) добавляли раствор ДФПГ (в концентрации 0,006% в 95% этиловом спирте), инкубировали 30 минут в темноте при комнатной температуре. Антирадикальную активность образцов определяли спектрофотометрически при λ= 517 нм. Антирадикальную активность (в % ингибирования) высчитывали по формуле:

$$\% \text{ ингибирования ДФПГ-радикалов} = A_0 - A_1/A_0 \times 100,$$

где A_0 – абсорбция в контроле, A_1 – абсорбция образцов. Показатель IC50 определяли методом регрессионного анализа.

В ходе фармакологического исследования выявлено, что разработанная

настойка обладают высокой антирадикальной активностью – IC50 составил 14,35 мкл/мл (рисунок 29).

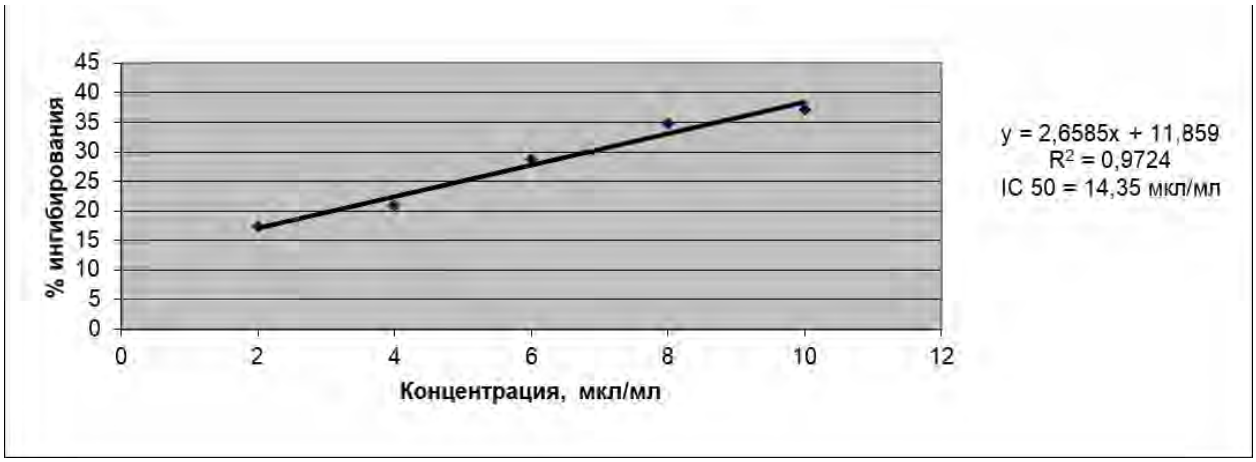


Рисунок 29 – График зависимости процента ингибирования от концентрации настойки *A. subviscosae herba*

Антиоксидантная активность обусловлена влиянием фенольных соединений в настойке: флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Определены запасы *A. subviscosae herba* в Баргузинском районе Республики Бурятия. Урожайность составляет до 416,10 г/м^2, эксплуатационный запас – 300,60 кг, возможный ежегодный объем заготовки с 850 м^2 исследованных зарослей – 92,18 кг сырья.

2. Выявлены основные микроскопические признаки *A. subviscosae herba*: слабоизвилистные клетки верхней стороны листа, сильноизвилистые – нижней; аномоцитный тип устьичного аппарата; крупные овальные эфирномасличные железки с поперечной перегородкой, при виде сбоку – состоят из 6-8 клеток, расположенных в 2 ряда и в 3-4 яруса на верхнем и нижнем эпидермисе листа, стебля и венчике цветка. Имеются многочисленные простые, многоклеточные волоски, Т-образные, состоящие из короткой 2-4-клеточной ножки, несущей длинную тонкостенную клетку с заостренными концами. Венчик цветка с прямостенными прозенхимными клетки эпидермиса, эфирномасличными железками.

3. Разработана методика количественного определения эфирного масла: степень измельчения сырья – 1 мм, продолжительность гидродистилляции – 4 ч. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba*: тип экстрагента – спирт 40%, степень измельченности сырья – 1 мм, соотношение сырье:экстрагент – 1:50, время экстракции 30 мин, двукратно, с добавлением 2 мл 2% раствора алюминия хлорида для комплесообразования в течение 45 мин. Установлена норма содержания – не менее 1,50%.

4. Установлены показатели доброкачественности сырья: экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом 40% (не менее 25%), влажность (не более 10%), зола общая (не более 10%), зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте (не более 1%), частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм (не более 1%), частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиям размером 7 мм (не более 5%), частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм (не

более 5%), частиц, изменивших окраску (потемневшие и почерневшие) (не более 1%), органическая (не более 1%) и минеральная (не более 1%) примеси.

5. Разработан способ получения настойки *A. subviscosae herba*: экстрагент – спирт 70%, соотношение сырье:экстрагент – 1:5, двукратная экстракция в течение 30 мин. Определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в настойке (1,91±0,06 %). В летучей фракции настойки обнаружены сантолина-триен, Δ-элемен, гермакрен D, *α*-селинен, кариофиллен.

ГЛАВА 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАПАСОВ СЫРЬЯ, СТАНДАРТИЗАЦИЯ И РАЗРАБОТКА НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА СЫРЬЕ «*ARTEMISIAE SANTOLINIFOLIAE HERBA*» И НАСТОЙКУ *ARTEMISIAE SANTOLINIFOLIAE HERBA*

5.2. Определение запасов и интродукция сырья

Запасы сырья *A. santolinifoliae herba* определяли в Окинском районе Республики Бурятия в фазу цветения в 2017–2018 гг. Урожайность сырья определяли на конкретных зарослях методом учетных площадок. Закладывали участки размером 1 м^2 в пределах промысловой заросли, всего закладывалось по 15 площадок. Учетные площадки закладывали равномерно на определенном расстоянии друг от друга таким образом, чтобы по возможности охватить всю заросль. После закладки учетных площадок на каждой из них собирали всю сырьевую фитомассу. Сырье взвешивали с точностью до 0,01 кг с каждой учетной площадки отдельно [75, 74]. Ошибка метода не превышала 15%. Результаты исследования представлены в таблице 63.

Таблица 64 – Определение запасов *A. santolinifoliae herba* в Окинском районе Республики Бурятия

Местонахождение ценопопуляции	Площадь заросли, м^2	Урожайность сырья, г/м^2	Биологический запас, кг	Эксплуатационный запас	Возможный ежегодный объем заготовок, кг
Окинский район, Тамгата	60	371,4±29,88	25,87	18,70	3,74
Окинский район, Сайлак	500	352,7±24,69	201,04	151,70	30,34
Итог			226,91	170,40	34,08

В ходе экспедиционных работ нами найдено новое местообитание *A. santolinifolia* в 40 км от с. Орлик в окрестностях водопада Сайлак, вдоль реки Ока. Установлено, что урожайность *A. santolinifolia* на конкретных зарослях в Окинском районе составляет до 371,4 г/м^2, биологический запас – 226,91 кг, эксплуатационный запас – 170,40 кг. Возможный ежегодный объем заготовки с 560 м^2 исследованных зарослей составляет 34,08 кг сырья *A. santolinifolia.*

Запасы *A. santolinifolia* сосредоточены в ограниченной местности, заготовка с одной заросли может проходить раз в 5 лет, поэтому в целях рационального

использования ЛРС нами были получены интродукционные популяции *A. santolinifolia* (рисунок 30).

Рисунок 30 – *A. santolinifolia,* выращенная в условиях интродукции

Определение лабораторной всхожести семян *A. santolinifolia* осуществляли в соответствии с ГОСТ [42]. Семена отбирали из дикорастущих видов, собранных в фазу плодоношения в 2017, 2019 гг. Для определения всхожести брали четыре пробы по 100 семян, равномерно раскладывали их на смоченной водой фильтровальной бумаге, бумагу с семенами помещали в чашки Петри. Проращивание семян осуществляли при постоянной температуре (29-30^{0}С) в течение 12 дней.

Лабораторная всхожесть семян составила 50±4,45%. Интродукционная площадка располагается в Прибайкальском районе Республики Бурятия, с. Еловка, СНТ «Колос». Растения высаживали семенами, а также подготовленной рассадой. На одной полосе высажено 100 семян, из них взошли только 15. При посадке рассадой процент приживаемости 100%.

5.2. Разработка показателей подлинности *A. santolinifoliae herba*

5.2.1. Внешние и микроскопические признаки

Внешние признаки

Макроскопические исследование проводили в соответствии с [44, 87, 111]. Внешние признаки определяли для цельного, измельченного сырья и порошка *A. santolinifoliae herba.*

Цельное сырье. Высушенная надземная часть растения, длиной до 50 см, состоит из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей. Цветоносный стебель прямостоячий, цилиндрический, слегка ребристый. Листья простые, ямчато-морщинистые, опушенные, листовая пластинка овальная, дважды перисторассеченная, нижние и средние на черешках с ушками. Длина листьев 2,5–3,0 см. Соцветие кистевидное или узкометельчатое, корзинки шаровидные, 4–6 мм в диаметре, на коротких ножках. Плод – семянка.

Цвет стеблей зеленовато-коричневый, листьев сверху темно-зеленый, снизу –серый, цветков – желтый. Запах ароматный, своеобразный, сильный, вкус водного извлечения пряно-горький.

Измельченное сырье. Смесь кусочков стеблей, листьев и цветков различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм. Цвет отзеленого, зелено-серого до коричнево-зеленого сжелтыми вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкус водного извлечения пряно-горький.

Порошок. Смесь кусочков стеблей, листьев и цветков, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Цвет от зеленого, зелено-серого до коричнево-зеленого с желтыми вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкус водного извлечения пряно-горький.

Микроскопические признаки

Микроскопические исследования проводили на временных микропрепаратах, приготовленных согласно методике [44, 133].

Нами были определены основные анатомо-диагностические признаки листовой пластинки, цветка и стебля полыни сантолинолистной. При рассмотрении микропрепаратов с верхней стороны листовой пластинки видны клетки эпидермиса со слабоизвилистыми стенками. Клетки нижнего эпидермиса с сильноизвилистыми стенками. Устьичный аппарат аномоцитного типа (устьица

окружены 3–5 околоустьичными клетками), представлен вытянутыми овальными, крупными устьицами. Устьица расположены преимущественно на нижней стороне листа. Листовая пластинка густо опушена простыми, многоклеточными, Т-образными волосками, чаще оборванными, состоящими из короткой 2-4-клеточной ножки, несущей длинную тонкостенную клетку с заостренными концами, прикрепленную к ножке посередине и лежащую горизонтально, присутствуют железистые и головчатые волоски. На обеих сторонах листа расположены крупные, овальные эфирномасличные железки с поперечной перегородкой, состоящие из 8 выделительных клеток, расположенных в 2 ряда и 4 яруса (рисунок 31).

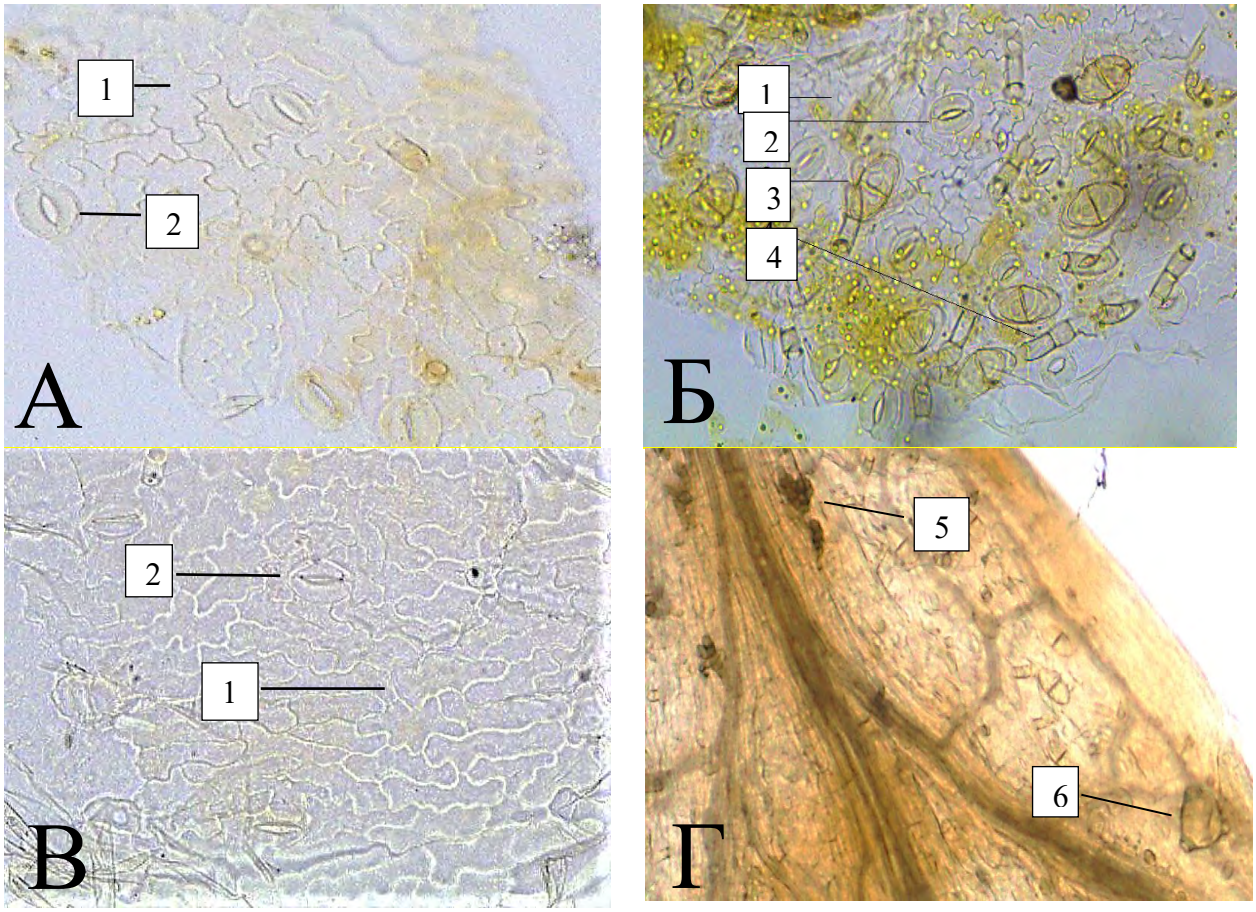


Рисунок 31 - Листовая пластинка *A. santolinifolia* (ув. х150): А, Б – нижняя сторона листа, В, Г – верхняя: 1 – клетки эпидермиса, 2 – устьице, 3 – эфирномасличная железка, 4 – ножка Т-образного волоска, 5 – железистый волосок, 6 – головчатый волосок.

Краевые цветки в корзинках пестичные, срединные – обоеполые. По краю цветка расположены 5 тычинок. Эпидермис цветков представлен клетками почти квадратной формы с прямыми стенками у основания завязи, постепенно удлиняющиеся в середине и извилистые к краю лепестка. Наблюдается многочисленное количество эфирномасличных железок овальной формы, устьичный аппарат аномоцитного типа, устьица встречаются редко, также присутствуют бичевидные и железистые волоски, пыльца шаровидной формы (рисунок 32).

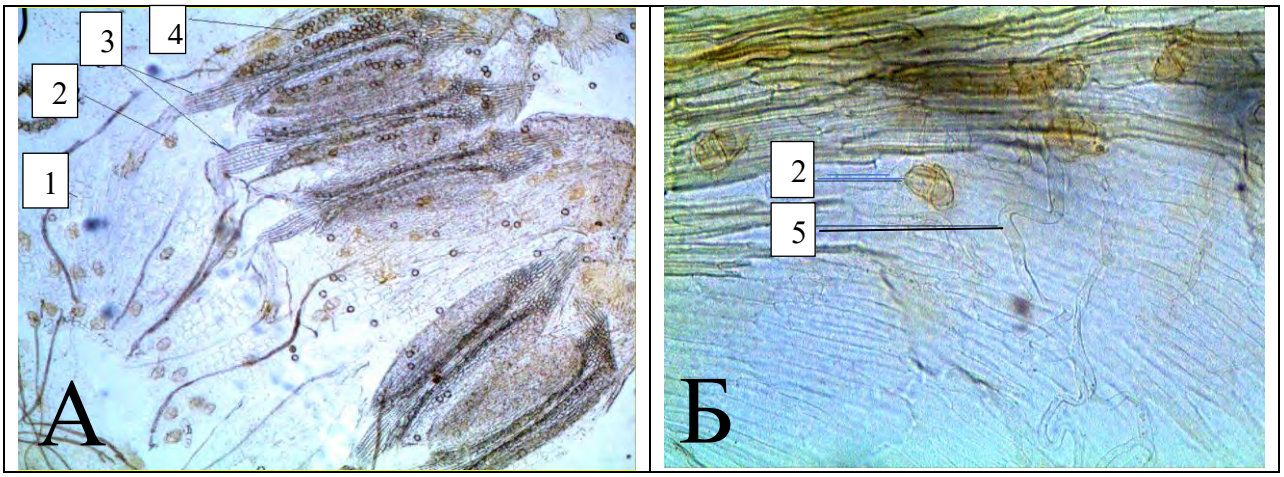


Рисунок 32 – Цветок *A. santolinifolia* (ув. х150): А, Б – эпидермис цветка: 1 – клетка эпидермиса; 2 – эфирномасличная железка; 3 – тычинка; 4. – пыльца, 6 – бичевидный волосок.

Эпидермис на продольном срезе стебля состоит из прямостенных клеток. Устьица овальные, крупные аномоцитногоустьичного типа. Эфирномасличные вместилища многочисленные, округлые. На поперечном срезе стебель многогранный, покрытый 1-слойным эпидермисом, состоящим из прямостенных, удлиненных клеток. По граням локализуются участки уголковой колленхимы. Проводящая система пучкового типа, пучки коллатеральные, открытые, представлены 2-3 рядами мелких клеток флоэмы и ближе к центру – ксилемы. Сердцевина стебля представлена крупными округлыми, рыхло-расположенными клетками сердцевинной паренхимы (рисунок 33).

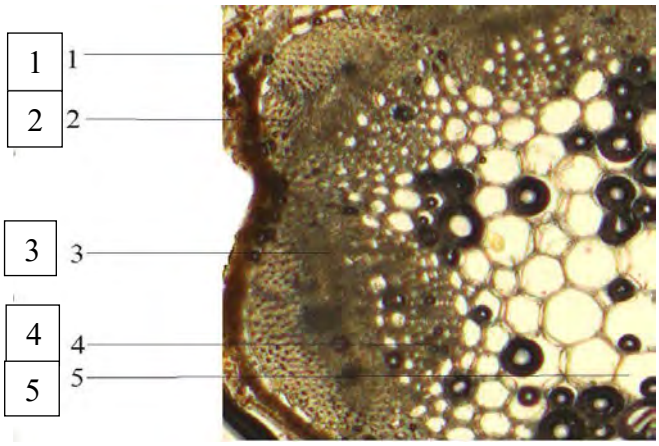


Рисунок 33 – Поперечный срез стебля *A. santolinifolia* (ув. х150): 1 – эпидермис; 2 – колленхима; 3 – флоэма; 4 – ксилема; 5 – паренхима

Так как мы изучаем надземную часть растения, то основные диагностические признаки находятся на листьях. Для определения подлинности сырья, выращенного в условиях интродукции, нами проведена сравнительная характеристика внешних и анатомо-диагностических признаков листьев по сравнению с дикорастущим сырьем (таблица 65).

Таблица 65. Сравнительная характеристика внешних и микроскопических признаков листа дикорастущего и интродуцированного *A. santolinifolia*

Показатель	Дикорастущее растение	Интродуцированное растение
Макроскопические признаки		
Сложность листа	простой	простой
Цельность листовой пластинки	дважды перисторассеченные	дважды перисторассеченные
Форма листовой пластинки	овальная	овальная
Прикрепление к стеблю и черешок	короткий черешок	короткий черешок
Характер жилкования	перистое	перистое
Опушение	сильно опушен с нижней стороны листа	сильно опушен с нижней стороны листа
Цвет	зеленый сверху, серый - снизу	зеленый сверху, серый - снизу
Размеры листовой пластинки	2,5 – 3,0 см	2,5 – 3,5 см
Запах	ароматный	ароматный
Микроскопические признаки		
Характер кутикулы верхнего и нижнего эпидермиса	ровная	ровная
Форма клеток	Изодиаметрические, с верхней стороны слабоизвилистые, с нижней - сильноизвилистые	Изодиаметрические, с верхней стороны слабоизвилистые, с нижней - сильноизвилистые
Наличие устьиц	Крупные устьица овальной формы, аномоцитного типа	Крупные устьица овальной формы, аномоцитного типа

продолжение таблицы 65

Наличие и строение волосков	Т-образные, железистые и головчатые волоски	Т-образные, железистые и головчатые волоски
Наличие желёзок	Овальные эфирномасличные железки ярусного типа	Овальные эфирномасличные железки ярусного типа

Таким образом, внешние и анатомо-диагностические признаки интродуцированного сырья *A. santolinifolia* соответствуют дикорастущему.

5.3. Испытания для определения доброкачественности сырья

5.3.1. Разработка методики определения содержания эфирного масла в *A. santolinifoliae herba*

Нами изучена динамика накопления эфирных масел в зависимости от года, места сбора и морфологических частей *A. santolinifolia*, определено, что наибольшее количество масел содержится в надземной части, собранной в период цветения. Также на выход эфирных масел влияют следующие факторы: степень измельчения сырья, время экстракции. Определение содержания эфирных масел проводили методом 2 с использованием видоизмененной насадки Клевенджера (ОФС.1.5.3.0010.15).

Для установления оптимальной степени измельчения сырья исследованы эфирные масла, полученные из сырья, измельчённого до 1 мм, 2 мм, 3 мм, 5 мм. Гидродистилляцию проводили в течение 3 ч. Наибольший выход эфирного масла – 1,48% получен при экстракции сырья с размером частиц 1 мм, а наименьший выход при измельченности сырья 5 мм – 0,35% (таблица 66).

Таблица 66 – Выход эфирного масла *A. santolinifoliae herba* в зависимости от степени измельчения сырья

№	Степень измельчения, мм	Выход эфирных масел, %
1	**1**	**1,48**
2	2	1,05
3	3	0,40
4	5	0,35

Кроме выхода эфирных масел необходимо учитывать и количественное содержание доминирующих компонентов, таких как: давана эфир, давана эфир (изомер 1), давана эфир (изомер 2), даванон, гермакрен D, кариофиоллен, бициклогермакрен, спатуленол. пресилфиперфолан-9а-ол (таблица 67).

Таблица 67 – Компонентный состав эфирного масла *A. santolinifoliae herba* в зависимости от степени измельчения сырья

Компонент	Степень измельчения, мм			
	1	2	3	4
Давана эфир	5,77%	4,45%	2,47%	3,65%
Давана эфир (изомер 1)	14,79%	6,30%	8,02%	10,31%
Давана эфир (изомер 2)	6,46%	1,71%	3,35%	4,75%
Даванон	40,43%	1,18%	26,09%	27,62%
Гермакрен D	2,97%	5,24%	6,04%	4,99%
Кариофиоллен	0,95%	9,62%	2,16%	+
Бициклогермакрен	2,50%	13,86%	4,95%	2,76%
Спатуленол	9,35%	7,58%	12,42%	16,57%
Пресилфиперфолан-9а-ол	4,34	5,14%	6,15%	7,21%

Наибольшая концентрация большинства мажорных компонентов наблюдается при получении эфирного масла со степенью измельчения *A. santolinifoliae herba* 1 мм.

Далее проводили исследование выхода эфирного масла *A. santolinifoliae herba* в зависимости от времени экстракции: сырье, проходящее сквозь сито диаметром 1 мм, кипятили в течение 1–6 ч (таблица 68).

Таблица 68 – Выход эфирного масла *A. santolinifoliae herba* в зависимости от времени экстракции сырья

№	Время экстракции, ч	Выход эфирных масел, %
1	1	0,40
2	2	0,70
3	3	1,48
4	**4**	**1,50**
5	5	1,05
6	6	1,05

Время экстракции также повлияло на компонентный состав масла (таблица 69).

Таблица 69 – Компонентный состав эфирного масла *A. santolinifoliae herba* в зависимости от времени экстракции

Компонент	Время экстракции, ч					
	1	2	3	4	5	6
Давана эфир	3,61%	2,56%	5,77%	3,78%	4,43%	4,06%
Давана эфир (изомер 1)	10,11%	6,20%	14,79%	9,39%	11,70%	10,37%
Давана эфир (изомер 2)	4,66%	2,75%	6,46%	4,26%	5,60%	4,90%
Даванон	38,92%	29,26%	40,43%	25,61%	21,69%	21,93%
Гермакрен D	3,40%	7,16%	2,97%	8,15%	6,48%	3,61%
Кариофиоллен	+	2,93%	0,95%	4,43%	2,59%	0,90%
Бициклогермакрен	1,64%	7,22%	2,50%	7,70%	6,46%	5,11%
Спатуленол	7,11%	18,59%	9,35%	14,63%	10,92%	10,83%
Пресилфиперфолан-9а-ол	6,78%	3,00%	2,65	2,64%	2,14%	1,80%

Наибольший выход эфирных масел наблюдается при экстракции в течение 4 часов, но количественное содержание доминирующих компонентов больше при нагревании в течение 3 часов. Таким образом, оптимальные условия выделения эфирного масла *A. santolinifoliae herba*: степень измельчения сырья – 1 мм, продолжительность экстракции – 4 ч.

Методика эксперимента: около 30,0 г. (точная навеска) измельченного сырья *A. santolinifoliae herba* до размеров частиц 1 мм, помещают в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 600 мл воды очищенной. Колбу с содержимым соединяют с паропроводной трубкой через шлиф и заполняют водой очищенной градуированную трубку. Присоединяют к обратному холодильнику. Колбу с содержимым нагревают и кипятят с интенсивностью, при которой скорость стекания дистиллята составляет 60-65 капель в минуту в течение 4 ч. Через 5 мин после окончания перегонки измеряют объем и отбирают эфирное масло.

Содержание эфирного масла в абсолютно сухом сырье в массо-объемных процентах (X) вычисляют по формуле:

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

V – объем эфирного масла, мл.;

а – навеска лекарственного растительного сырья, г.;

W – влажность лекарственного растительного сырья, %.

Метрологические характеристики методики представлены в таблице 70.

Таблица 70 – Метрологические характеристики методики выхода эфирного масла из *A. santolinifoliae herba*

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
3	2	1,45	0,003	0,06	95	2,54	0,07	4,82

Таким образом, выход эфирного масла из *A. santolinifoliae herba* составляет 1,45±0,07%

5.3.2. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в *A. santolinifoliae herba*

Так как количественное содержание эфирного масла зависит от разных факторов (климатических условий, места произрастания и др.), необходима стандартизация сырья по другим, более стабильным вторичным метаболитам, поэтому предлагаем методику - по содержанию суммы флавоноидов, поскольку, они являются преобладающей группой БАВ и обладают высокой биологической активностью.

Для разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в *A. santolinifoliae herba* в качестве стандартного образца выбран рутин, максимум поглощения которого приходится на 410 нм (рисунок 34).

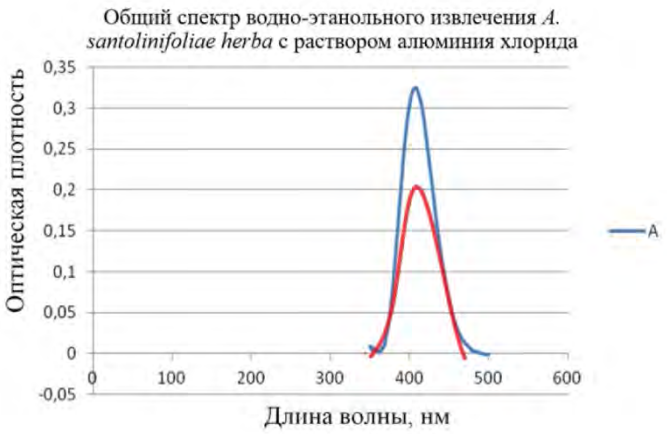


Рисунок 34 – Спектр поглощения 70% спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba* и СО рутина

Определены условия выделения: тип экстрагента, размер частиц сырья, температура, соотношение сырья и экстрагента, продолжительность и количество экстрагирования, объем раствора $AlCl_3$, необходимого для комплексообразования, концентрация спиртового раствора $AlCl_3$, время комплексообразования.

При подборе оптимального экстрагента использовали сырье, проходящее сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. В качестве экстрагента брали спирт разной концентрации, экстрагировали в течение 30 минут (таблица 71).

Таблица 71 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* в зависимости от типа экстрагента

№	Концентрация этилового спирта, %	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	10	1,88
2.	20	2,04
3.	30	2,11
4.	40	2,28
5.	50	2,25
6.	60	2,82
7.	**70**	**2,98**
8.	80	2,46
9.	90	2,05
10.	95	1,69

Максимальный выход суммы флавоноидов наблюдается при использовании этилового спирта 70% в качестве экстрагента.

При выборе оптимальной степени измельчения использовали частицы сырья, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий: 0.5, 1, 2, 3, 4 мм (таблица 72). В качестве экстрагента использовали спирт 40%, время экстракции 30 минут.

Таблица 72 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* в зависимости от степени измельчения сырья

№	Степень измельчения сырья, мм	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	0,5	2,60
2.	**1**	**2,82**
3.	2	2,55
4.	3	2,27
5.	4	2,00

Наибольшее содержание суммы флавоноидов наблюдается при степени измельчения частиц сырья, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм, что составляет 2,82%.

Исследована зависимость выхода суммы флавоноидов от температуры нагрева водяной бани. Использовали следующие температуры: 20; 40; 60; 80; 100 °С (таблица 73)

Таблица 73 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* в зависимости от температуры

№	Температура, °С	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	20	2,10
2.	40	2,18
3.	60	2,21
4.	80	2,35
5.	**100**	**2,85**

При 100 °С (кипящая водяная баня) наблюдается наибольший выход флавоноидов.

Подобраны условия выхода суммы флавоноидов в различных соотношениях сырье:экстрагент (таблица 74).

Таблица 74 - Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* в зависимости от соотношения сырье:экстрагент

№	Соотношение сырье:экстрагент	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	1:25	1,65
2.	**1:50**	**2,03**
3.	1:75	1,84
4.	1:100	1,50
5.	1:150	1,15

Выявлено, что соотношение 1:50 способствует наибольшему выходу суммы флавоноидов из растительного сырья 2,00%.

Для определения продолжительности экстракции *A. santolinifoliae herba* трехкратно экстрагировали 15, 30, 45, 60, 75 и 90 минут. После первой экстракции полученные извлечения отфильтровывали, определяли содержание суммы

флавоноидов. После два раза повторяли экстракцию отжатого сырья в тех же условиях (таблица 75).

Таблица 75 - Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* в зависимости от времени и кратности экстракций

№	Время экстракции, мин	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %		
		Кратность экстракции		
		1	2	3
1.	15	1,55	0,61	0,05
2.	**30**	**2,00**	**0,97**	**0,12**
3.	45	1,86	0,79	0,07
4.	60	1,80	0,64	0,07
5.	75	1,65	0,53	0,05
6.	90	1,57	0,50	0,06

Оптимальное время экстракции – 30 мин двукратно.

Определено содержание суммы флавоноидов в зависимости от концентрации добавляемого раствора алюминия хлорида, его объема и времени комплексообразования (таблица 76).

Таблица 76 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* в зависимости от концентрации и объема $AlCl_3$, времени комплексообразования

№	Показатель	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
Концентрация раствора $AlCl_3$, %		
1	1	1,89
2	**2**	**1,98**
3	3	1,85
4	4	1,85
5	5	1,84
Объем раствора $AlCl_3$, мл		
6	1	1,92
7	**2**	**2,00**
8	3	1,84
9	4	1,76
10	5	1,70
Время комплексообразования, мин		
11	15	1,90
12	30	1,92
13	**45**	**1,95**
14	60	1,93
15	75	1,87
16	90	1,83

Оптимальная концентрация спиртового раствора $AlCl_3$ – 2%, объем – 2 мл, время комплексообразования 45–60 мин.

Таким образом, разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba*

Таким образом, разработаны оптимальные условия извлечения суммы флавоноидов из *A. santolinifoliae herba*: сырье, измельченное до 1 мм двукрастно экстрагируют этанолом 70 % (1:50) 30 минут. Полученные параметры легли в основу методики количественного определения суммы флавоноидов *A. santolinifoliae herba*.

Методика эксперимента:

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, прибавляют 50 мл спирта 70%. Колбу взвешивают с погрешностью ±0,01 г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 минут. После охлаждения до комнатной температуры, колбу вновь взвешивают и доводят до первоначальной массы спиртом 70%.

Извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр, экстракцию повторяют еще раз указанным выше способом. Объединенные извлечения повторно фильтруют через тот же фильтр (раствор А испытуемого раствора). 1 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 2% раствора алюминия хлорида в 96% спирте и 1 каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б измеряют через 45 мин. на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, капли (50 мкл) уксусной кислоты разведенной,

помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом 96% до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина. Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл раствора А СО рутина, добавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты раствора и доводят до метки спиртом 96%, перемешивают.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутина в абсолютно-сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times b_1 \times V_0 \times V'_0 \times (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора Б СО рутина; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; b_0 – объем аликвоты раствора А СО рутина, взятого для разведения (1 мл); b_1 – объем аликвоты раствора А испытуемого раствора, взятого для разведения (1 мл); V_0 – объем раствора А СО рутина (25 мл); V'_0 – объем раствора Б стандартного образца (25 мл); V_1 – объем раствора А испытуемого раствора (100 мл); V_2 – объем раствора Б испытуемого раствора (25 мл); W – влажность сырья, %.

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,01 г (точная навеска) СО рутина, высушенного при температуре 100–105 °С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96%, нагревают на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО рутина). Срок годности раствора – 30 сут.

1,0 мл раствора А СО рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, 2 мл алюминия хлорида раствора 2%, доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО рутина)

Допускается содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом.

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1см}^{1\%} \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)},$$, где

А – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

$A_{1см}^{1\%}$– удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 410 нм, равны 260;

а – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Метрологические характеристики методики количественного определенияпредставлены в таблице 77.

Таблица 77- Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

n	f	$\bar{x}$, %	S^2	S	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	2,01	0,003	0,06	95	2,77	0,07	3,62

Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* составляет 2,01±0,07 %. Относительная ошибка методики не превышает 5%.

5.3.3. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов

Правильность аналитического метода характеризует близость результатов испытаний, полученных данным методом, к истинному значению. Правильность методики проверяли на модельных смесях СО рутина. Модельные смеси готовили в трех концентрациях с содержанием лютеолина в % к исходной концентрации 80, 100, 120. Определение проводили в трех повторностях для каждой концентрации (таблица 78).

Таблица 78 – Результаты правильности количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

№ определения	Содержание СО рутина в модельной смеси, мг	Экспериментально найденное значение	
		Абсолютная величина, мг	Процент восстановления, %
1	8,00	8,15	101,88
2	8,00	8,04	100,50
3	8,00	7,91	98,88
среднее			100,42
1	10,00	10,15	101,50
2	10,00	10,10	101,00
3	10,00	9,85	98,50
среднее			100,33
1	12,00	12,11	100,91
2	12,00	12,07	100,58
3	12,00	11,88	99,00
среднее			100,16
Средний процент восстановления			100,30

Средний процент восстановления правильности методики составил 100,30%, что находится в рекомендуемых пределах 95,0–105,0 %.

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания суммы флавоноидов в растительном сырье с добавлением стандартного образца рутина из расчета 80, 100, 120% от содержания в сырье. Результаты методики представлены в таблице 79.

Таблица 79 – Результаты опытов с добавками СО рутина

Содержание флавоноидов в аликвоте (мкг)	Количество добавленного рутина (мкг)	Ожидаемое количество флавоноидов (мкг)	Полученное количество флавоноидов (мкг)	Ошибка	
				абс., мкг	отн., %
100,00	80,00	180,00	181,02	+1,02	0,67
100,00	80,00	180,00	180,06	+0,06	0,33
100,00	80,00	180,00	178,94	-1,06	0,59
100,00	100,00	200,00	200,18	+0,18	0,09
100,00	100,00	200,00	199,21	-0,79	0,40
100,00	100,00	200,00	202,54	+2,54	1,27
100,00	120,00	220,00	219,95	-0,05	0,02
100,00	120,00	220,00	221,03	+1,03	0,47
100,00	120,00	220,00	218,94	-1,06	0,48

Относительная ошибка в опытах с добавками не превышает относительной ошибки среднего результата (±0,99%), что свидетельствует о правильности методики и об отсутствии систематической ошибки.

Сходимость характеризует степень согласованности результатов измерений, полученных одним и тем же методом на идентичных объектах испытаний, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования, в пределах короткого промежутка времени. Испытание проводили в разные дни с использованием спектрофотометра ПЭ-5400 УФ одним и тем же специалистом на одном образце *A. santolinifoliae herba* в 6 повторностях (таблица 80).

Таблица 80 – Результаты определения сходимости методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Дата испытания	Содержание суммы флавоноидов в сырье 1,00%					
	№	Содержание флавоноидов, %	Стандартное отклонение, S	Относительное стандартное отклонение, %	Критерий Стьюдента	
					Экс.	Таб.
Первый день испытания						
	1	2,00				
	2	2,07				
	3	1,87	0,0881	4,41	1,39	2,57
	4	1,91				
	5	2,05				
	6	2,08				
Среднее		2,00				
Второй день испытания						
	1	2,06				
	2	1,88				
	3	2,05	0,0910	4,57	1,62	2,57
	4	2,01				
	5	1,87				
	6	2,07				
Среднее		1,99				

Сходимость методики количественного определения суммы флавоноидов не превышает 4,47%. Экспериментальное значение Критерия Стьюдента не превышает табличные данные.

Межлабораторная воспроизводимость характеризует меру совпадения результатов измерений, полученных одним и тем же методом, на идентичны образцах, в разных лабораториях, разными операторами, с использование различного оборудования, относительно длинный промежуток времени между измерениями. Воспроизводимость методики проводили на одном образце

A. santolinifoliae herba в двух лабораториях на приборах ПЭ-5400 УФ (Экохим) в шести повторностях. Результаты представлены в таблице 81.

Таблица 81 – Воспроизводимость методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Дата испытания	Содержание суммы флавоноидов в сырье 1,00%					
	№	Содержание флавоноидов, %	Стандартное отклонение, S	Относительное стандартное отклонение, %	Критерий Стьюдента	
					Экс.	Таб.
Лаборатория №1						
	1	2,01				
	2	2,04				
	3	1,87	0,0823	4,13	1,79	2,57
	4	1,99				
	5	2,01				
	6	2,02				
Среднее		1,99				
Лаборатория №2						
	1	2,03				
	2	1,98				
	3	2,01	0,0857	4,29	1,43	2,57
	4	2,03				
	5	1,89				
	6	2,04				
Среднее		2,00				

Относительное стандартное отклонение не превышает 15%.

Специфичность аналитического метода – это способность достоверно определять вещество в присутствии примесных соединений, продуктов деградации и вспомогательных веществ. Специфичность методики определяли путем сравнивания спектров 70% спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba*, полученного по методике количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин, и раствора СО рутина (рисунок 34).

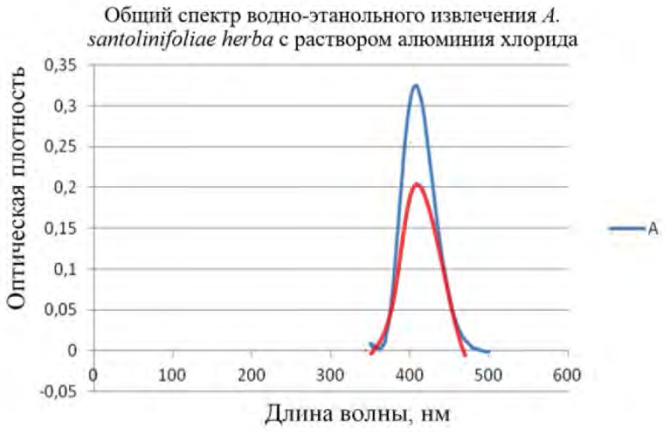


Рисунок 34 – Спектр поглощения 70% спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba* и СО рутина

Максимум поглощения 70% спиртового извлечения *A. santolinifoliae herba* совпадает с максимумом поглощения раствора СО рутина при длине волны 410 нм.

Линейность методики определяли на 6 уровнях концентраций рутина (от нормируемого содержания – 20, 40, 60, 80, 100, 120%) от теоретического содержания рутина в *A santolinifoliae herba* (таблица 82).

Таблица 82 – Зависимость оптической плотности от концентрации СО лютеолин-7-гликозида

Содержание СО рутина в % от нормируемого	Концентрация СО рутина, мкг/мл (в измеряемом растворе)	Оптическая плотность D	Коэффициент корреляции	y=b·x+a	
				b	a
20	2,40	0,28			
40	4,78	0,37			
60	7,19	0,50	0,997	0,0544	0,1270
80	9,56	0,64			
100	10,98	0,74			
120	13,41	0,86			

Установлена зависимость оптической плотности от концентрации рутина. График описывается уравнением y=0,05438 x + 0,1270, коэффициент корреляции составил 0,997 (рисунок 35).

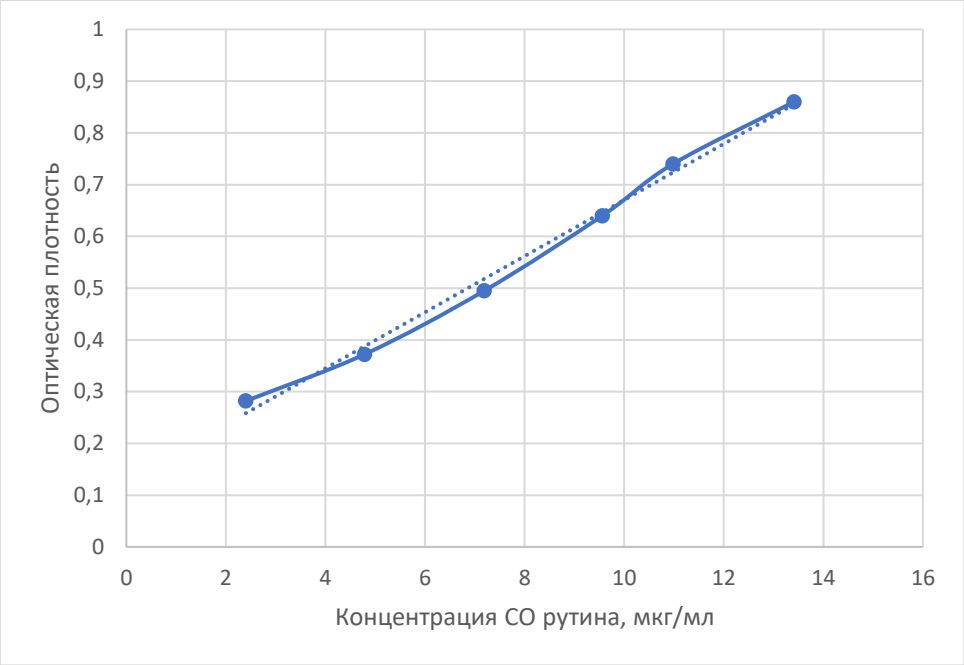


Рисунок 35 – График зависимости оптической плотности от концентрации СО рутина

Линейная зависимость охватывает нижний предел содержания лютеолин-7-гликозида *A. santolinifoliae herba* (не менее 2,00%), линейность метода сохраняется в интервале концентраций 2,40–13,41 мгк/мл.

Таким образом, предложенный спектрофотометрический метод определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba* соответствует показателям валидации: правильности, прецизионности, специфичности и линейности и включен в нормативные документы на сырье.

5.3.4. Показатели доброкачественности сырья

Анализ проводили на 5 партиях сырья, собранного в Окинском районе Республики Бурятия в фазу цветения в период с 2016–2017 гг. Оценку сырья проводили по таким показателям как содержание действующих веществ, сумма экстрактивных веществ (рисунок 36), влажность, зола общая, зола, не растворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты, степень измельченности, посторонние примеси (таблица 83).

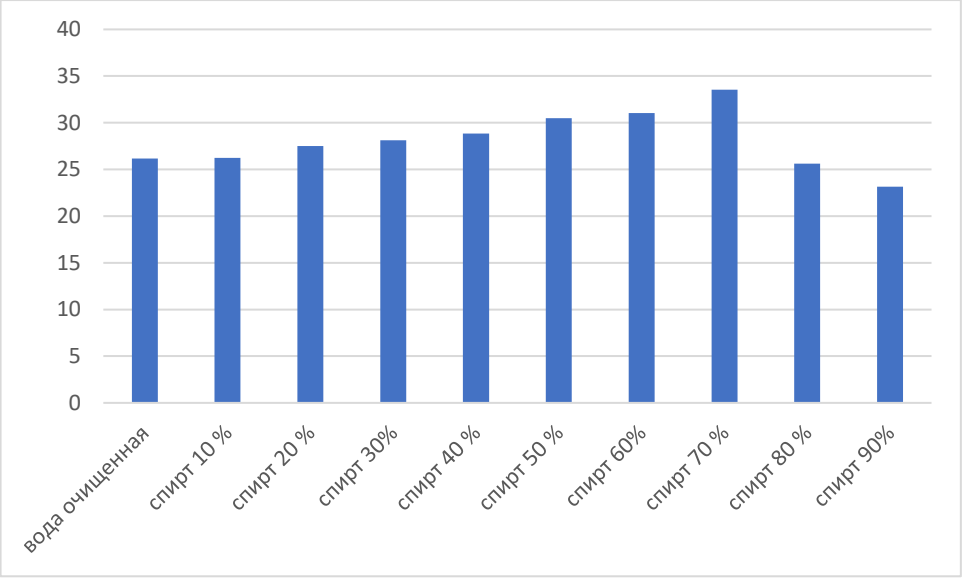


Рисунок 36 – Влияние концентрации растворителя на выход экстрактивных веществ

Таблица 83 – Показатели доброкачественности и нормы для *A. santolinifoliae herba*

Показатель	Партия					Содержание
	1	2	3	4	5	
Содержание эфирного масла (в пересчете на а.с.с.), %	1,45	1,45	1,48	1,35	1,50	Не менее 0,6%
Содержание суммы флавоноидов (в пересчете на рутин), %	2,75	2,67	2,70	2,60	2,73	Не менее 2%
Сумма экстрактивных веществ (экстрагент 70% этиловый спирт), %	33,60	34,12	32,81	33,55	34,00	Не менее 28%
Влажность, %	7,25	6,20	5,61	6,40	7,15	Не более 10%
Зола общая, %	6,85	6,10	7,35	6,50	6,23	Не более 10%
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, %	0,30	0,26	0,41	0,35	0,40	Не более 1%
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, % (для цельного сырья)	0,55	0,60	0,40	0,50	0,70	Не более 1%
Частиц, непроходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм	2,50	1,52	2,41	2,00	1,98	Не более 5%
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм	2,75	2,34	2,75	1,58	2,15	Не более 5%

продолжение таблицы 83

Частиц, изменивших окраску (потемневшие и почерневшие), %	0,45	0,50	0,45	0,55	0,38	Не более 1%
Органическая примесь, %	0,50	0,20	-	0,55	0,25	Не более 1%
Минеральная примесь, %	0,40	0,20	0,20	0,30	0,35	Не более 1%

Таким образом, установлены показатели испытаний доброкачественности и их нормы для цельного и измельченного сырья *A. santolinifolia,* которые вошли в проект Фармакопейной статьи на *A. santolinifoliae herba* (приложение 1).

5.4. Разработка способа получения настойки *A. santolinifoliae herba*

Так как официнальной лекарственной формой, получаемой из полыни горькой травы, является настойка, с целью расширения ассортимента лекарственных средств нами предложен способ получения настойки *A. santolinifoliae herba*. Исходным сырьем для получения настойки является *A. santolinifoliae herba*, собранная в Окинском районе Республики Бурятия в фазу цветения в 2018 г.

При производстве настоек основной технологической операцией является экстрагирование лекарственного сырья [65, 89, 16].

Использование метода экстрагирования с магнитной мешалкой в среде экстрагента позволило значительно увеличить скорость и полноту экстрагирования из сырья. Количественная оценка велась по выходу экстрактивных веществ, суммы флавоноидов в пересчете на рутин (таблица 84).

Таблица 84 – Содержание экстрактивных веществ, суммы флавоноидов в *A. santolinifoliae herba* в зависимости от метода экстракции

№	Метод экстракции	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	Мацерация (7 суток)	26,20	1,24
2.	Экстракция на магнитной мешалке	24,27	1,22
3.	Экстракция на лабораторном шейкере	24,17	1,18

Выход БАВ с использованием экстракции на магнитной мешалке и мацерации в течение 7 суток почти одинаков, экстрагирования с магнитной

мешалкой позволит значительно увеличить скорость и полноту экстрагирования из сырья.

Для наилучшего выхода БАВ нами были подобраны оптимальные условия экстрагирования *A. santolinifoliae herba*, влияющие на выход биологически активных веществ: тип экстрагента, степень измельчения сырья, соотношение сырье: экстрагент, время и кратность экстрагирования.

При подборе оптимального экстрагента использовали этанол различной концентрации: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95%. Результаты исследования представлены в таблице 85.

Таблица 85 – Выход БАВ *A. santolinifoliae herba* в зависимости от концентрации спирта этилового

№	Концентрация спирта,%	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1.	10	19,59	1,05
2.	20	20,90	1,05
3.	30	21,12	1,12
4.	40	22,39	1,15
5.	50	26,20	1,20
6.	**60**	**28,56**	**1,27**
7.	70	26,27	1,23
8.	80	23,01	1,19
9.	90	21,01	1,16
10.	95	20,73	1,10

Из таблицы видно, что экстракция спиртом 60% дает наибольший выход как экстрактивных веществ, так и флавоноидов.

Далее изучали выход БАВ от степени измельченности растительного сырья, *A. santolinifoliae herba* измельчали до размера частиц 0.5; 1,0; 2,0; 3,0 и 4,0 мм (таблица 86).

Таблица 86 – Выход БАВ *A. santolinifoliae herba* в зависимости от степени измельчения

№	Степень измельчения, мм	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1	0,5	22,12	1,24
2	**1,0**	**28,60**	**1,27**
3	2,0	27,75	1,22

продолжение таблицы 86

4	3,0	26,90	1,20
5	4,0	25,34	1,16

По результатам исследования видно, что наибольший выход экстрактивных веществ и суммы флавоноидов наблюдается при степени измельчения – 1,0 мм.

Изучена зависимость выхода суммы экстрактивных веществ и флавоноидов от соотношения сырья и экстрагента. Оптимальным соотношением сырья к экстрагенту является 1:5. Дальнейшее увеличение соотношения нецелесообразно, так как выход действующих веществ незначителен, а также увеличивает расход экстрагента (таблица 87).

Таблица 87 – Выход БАВ *A. santolinifoliae herba* в зависимости от соотношения сырье:экстрагент

№	Соотношение сырье:экстрагент	Сумма экстрактивных веществ, %	Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %
1	1:1	22,98	1,18
2	1:2	23,13	1,22
3	1:3	25,76	1,26
4	1:4	27,31	1,29
5	**1:5**	**27,96**	**1,36**
6	1:6	28,10	1,20
7	1:7	26,85	1,18
8	1:8	25,30	1,15
9	1:9	25,05	1,10
10	1:10	24,40	1,10

Продолжительность экстракции напрямую влияет на выход биологически активных веществ. Для этого *A. santolinifoliae herba* экстрагировали трехкратно спиртом 60% в соотношении 1:5 в течение заданного времени (15, 30, 60, 90, 120 мин). После первой экстракции извлечения фильтровали, определяли содержание суммы экстрактивных веществ и флавоноидов. Затем проводили две последующие экстракции отжатого сырья при тех же промежутках времени, в количестве, равном объему предыдущих слитых извлечений, тем же экстрагентом. Извлечения также анализировали на содержание суммы экстрактивных веществ и флавоноидов (таблица 88).

Таблица 88 – Выход БАВ *A. santolinifoliae herba* в зависимости от времени экстрагирования и кратности экстракции

Время, мин	Сумма экстрактивных веществ, %			Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, %		
	Контакт фаз			Контакт фаз		
	I	II	III	I	II	III
15	20,15	8,45	3,10	1,13	0,34	0,05
30	**22,75**	**10,15**	**3,15**	**1,18**	**0,41**	**0,06**
60	22,70	10,41	3,31	1,10	0,30	0,04
90	22,24	9,96	3,25	1,10	0,31	0,03
120	21,97	9,40	3,25	1,05	0,27	0,04

Таким образом, установлено оптимальное время экстракции 30 минут. В результате исследования разработаны условия получения настойки *A. santolinifoliae herba*: экстрагент – спирт 60%, степень измельчения сырья – 1 мм, соотношение экстрагента к сырью – 1:5, продолжительность экстракции 30 минут.

Полученная настойка представляет собой прозрачную жидкость желтовато-коричневого цвета с характерным запахом, горького, слегка вяжущего вкуса.

Стандартизация настойки *A. santolinifoliae herba*

При стандартизации настойки *A. santolinifoliae herba* использовали качественные реакции и метод тонкослойной хроматографиидля определения БАВ, ранее разработанную методику количественного определения содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин и изучение летучей фракции настойки *A. santolinifoliae herba* методом ГХ-МС.

Обнаружение БАВ в настойке *A. santolinifoliae herba*

Наличие основных групп БАВ в настойке проведено по общепринятым методикам. В результате проведенных качественных реакций в настойке идентифицированы фенольные соединения: флавоноиды, кумарины, дубильные вещества, аскорбиновая кислота.

Обнаружение рутина и хлорогеновой кислоты проводили методом ТСХ согласно методике, описанной в главе 2, п.п. 2.2.На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживали зону адсорбции желтого цвета (Rf=0,63±0,02) на белом

фоне на уровне зоны раствора СО рутина и зону адсорбции голубого цвета на уровне зоны СО хлорогеновой кислоты (Rf=0,56±0,02).

Обнаружение аскорбиновой кислоты проводили методом ТСХ. На хроматограмме раствора СО аскорбиновой кислоты обнаруживали зону адсорбции белого цвета на розовом фоне (Rf=0,91) На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживали зону адсорбции белого цвета на розовом фоне на уровне зоны на хроматограмме раствора СО аскорбиновой кислоты. Допускается обнаружение других зон адсорбции.

Состав летучей фракции настойки *A. santolinifoliae herba*

20 мл настойки *A. santolinifoliae herba* переносили в делительную воронку, добавляли 5 мл гексана, интенсивно встряхивали 1-2 минуты. Отбирали гексановый слой для анализа на ГХ-МС. В летучей фракции настойки обнаружен только спатуленол.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что по качественному составу происходит переход основных БАВ.

Для количественной оценки разработана методика количественного определения определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке *A. santolinifoliae herba.*

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке *A. santolinifoliae herba*

2 мл настойки *A. santolinifoliae herba* помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом 60% (раствор А). 2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2% и доводят объем раствора до метки спиртом 60% (испытуемый раствор Б).

В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный при тех же условиях, но без добавления алюминия хлорида (раствор сравнения Б). Измерение оптической плотности проводят на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО рутина.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100}{A_0 \times b_1 \times b_2 \times V_0 \times V'_0},$$ где

где А – оптическая плотность настойки ; A_0 – оптическая плотность СО рутина ; a_0 – навеска СО рутина, г; V_0 – объем раствора А СО рутина; b_0 – объем аликвоты раствора А СО рутина, взятого для разведения (1 мл); V'_0 – объем раствора Б СО рутина (25 мл); b_1 – объем аликвоты настойки, взятой для разведения, мл (2 мл); V_1 – объем разведенной настойки, мл (25 мл); b_2 – объем раствора А настойки, взятого для разведения (2 мл); V_2 – объем раствора Б настойки, мл (25 мл).

Приготовление раствора стандартного образца (СО) рутина: Около 0,01 г (точная навеска) СО рутина, высушенного при температуре 100-105°С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96%, нагревают на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО рутина). Срок годности раствора – 30 сут.

1 мл раствора А СО рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО рутина).

Результаты определения количественного содержания суммы флавоноидов в настойке *A. santolinifoliae herba* представленны в таблице 89.

Таблица 89 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке *A. santolinifoliae herba*

n	f	$\bar{x}$, %	S	$S\bar{x}$	P, %	t (P,f)	Δx	E, %
5	4	1,22	0,005	0,03	95	2,77	0,02	2,15

Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке *A. santolinifoliae herba* составляет 1,22±0,02 %.

Определение антирадикальной активности настойки

A. santolinifoliae herba

К настойке *A. santolinifoliae herba* (в концентрации 2-10 мкл/мл) добавляли раствор ДФПГ (в концентрации 0,006% в 95% этиловом спирте), инкубировали 30 минут в темноте при комнатной температуре. Антирадикальную активность образцов определяли спектрофотометрически при λ= 517 нм.

В ходе фармакологического исследования выявлено, что разработанная настойка обладают высокой антирадикальной активностью – IC50 составил 55,56 мкл/мл (рисунок 37).

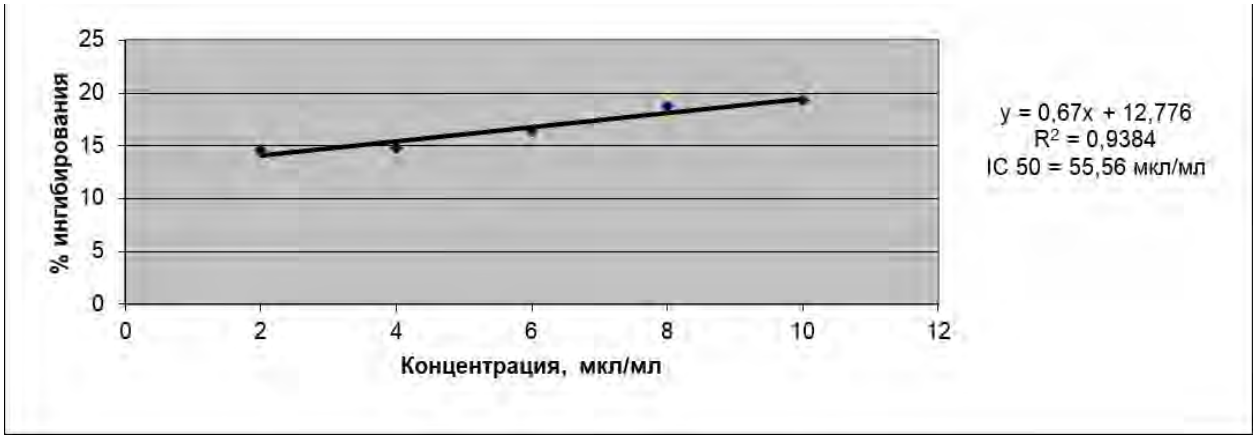


Рисунок 37 – График зависимости процента ингибирования от концентрации

Антиоксидантная активность обсловлена влиянием фенольных соединений в настойке: флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, дубильные вещества.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Определены запасы *A. santolinifoliae herba* в Окинском районе Республики Бурятия. Урожайность составляет до 371,4 г/м^2, эксплуатационный запас – 170,40 кг, возможный ежегодный объем заготовки с 560 м^2 исследованных зарослей – 34,08 кг сырья.

2. Выявлены основные микроскопические признаки *A. santolinifoliae herba*: слабоизвилистные клетки верхней стороны листа, сильноизвилистые – нижней; аномоцитный тип устьичного аппарата; крупные овальные эфирномасличные железки с поперечной перегородкой, при виде сбоку - состоят из 6-8 клеток, расположенных в 2 ряда и в 3-4 яруса на верхнем и нижнем эпидермисе листа, стебля и венчике цветка. Имеются многочисленные простые, многоклеточные волоски, Т-образные, состоящие из короткой 2-4-клеточной ножки, несущей длинную тонкостенную клетку с заостренными концами, головчатые и железистые волоски. Венчик цветка с прямостенными прозенхимными клетками эпидермиса, многочисленными бичевидными и железистыми волосками, эфирномасличными железками.

3. Разработана методика количественного определения эфирного масла: степень измельчения сырья – 1 мм, продолжительность гидродистилляции – 4 ч. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *A. santolinifoliae herba*: тип экстрагента – спирт 70%, степень измельченности сырья – 1 мм, соотношение сырье:экстрагент – 1:50, время экстракции 30 мин, двукратно, с добавлением 2 мл 2% раствора алюминия хлорида для комплесообразования в течение 45 мин. Установлена норма содержания – не менее 2%.

4. Установлены показатели доброкачественности сырья: экстрактивные вещества, извлекаемые 70% спиртом (не менее 28%), влажность (не более 10%), зола общая (не более 10%), зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте (не более 1%), частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, % (не более 1%), частиц, непроходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм

(не более 5%), частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм (не более 5%), части, изменившие окраску (потемневшие и почерневшие) (не более 1%), органическая (не более 1%) и минеральная (не более 1%) примеси.

5. Разработан способ получения настойки *A. santolinifoliae herba*: экстрагент – спирт 60%, соотношение сырье:экстрагент – 1:5, экстракция в течение 30 мин. Определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке (1,22±0,02%). В летучей фракции настойки обнаружен спатуленол.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Определены основные схожие микроскопические признаки *A. subviscosae herba и A. santolinifoliae herba:* слабоизвилистые клетки верхнего эпидермиса, сильноизвилистые – нижнего; аномоцитный тип устьичного аппарата; простые, Т-образные волоски; крупные, погруженные в эпидермис овальные эфирномасличные железки ярусного типа, бичевидные волоски. *A. santolinifoliae herba* отличает наличие головчатых и железистых волосков. Определен возможный ежегодный объем заготовки, который составил 92,18 кг и 34,08 кг для *A. subviscosa* и *A. santolinifolia* соответственно. В виду редкости данных видов и относительно небольших запасов, получены интродуцированные популяции *A. subviscosae herba* и *A.santolinifoliae herba.* Анализ интродуцированного сырья показал соответствие макроскопических и микроскопических признаков дикорастущим видам. Лабораторная всхожесть семян *A. subviscosa* – 80%, *A. santolinifolia* – 50%, приживаемость составила 90 и 100%.

2. Качественно в исследуемых видах обнаружены следующие группы БАВ: флавоноиды, дубильные вещества, кумарины, эфирные масла, жирные масла, гидроксикоричные кислоты, аскорбиновая кислота и полисахариды. Для *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* соответственно определено количественное содержание суммы флавоноидов 1,11±0,04% и 1,55±0,05%; суммы дубильных веществ 3,28±0,03% и 3,72±0,11%; суммы кумаринов 0,20±0,01% и 0,05±0,01%; суммы гидроксикоричных кислот 4,15±0,07% и 4,22±0,10 %; хлорогеновой кислоты 0,40±0,02 % и 0,45±0,02 %; аскорбиновой кислоты 1,08±0,03% и 1,12±0,03%. Основными жирными кислотами *A. subviscosae herba и A. santolinifoliae herba* являются пальмитиновая 9,22% и 20,27%, линолевая 14,63% и 26,40%. В *A. subviscosae herba* также преобладает олеиновая (10,87%), в *A. santolinifoliae herba* - α-линоленовая (17,74%) кислоты. В *A. subviscosae herba* превалируют ВРПС (4,04%) и ПВ (5,37%), в *A. santolinifoliae herba* – ГцА (6,41%) и ГцБ (6,32%).

3. Изучена динамика накопления эфирных масел *A. subviscosa и A. santolinifolia* в зависимости от части и фазы развития растения. Максимальное количество масел накапливается в обоих видах в соцветия (0,70%), в фазу цветения (0,74%) и имеет одинаковое значение. Разработаны методики выделения эфирных масел из исследуемых видов. Установлено, что доминирующими компонентами эфирного масла *A. subviscosae herba* являются сантолина-триен, гермакрен D, β-селинен, α-селинен, α-бульнесен, δ-кадинен, кариофиллен оксид, кариофиллен, γ-мууролен, ацифиллен, ацифилловая кислота, спатчуленол. Основные компоненты эфирного масла *A. santolinifoliae herba* - давана эфир, давана эфир (изомер 1), давана эфир (изомер 2), даванон, гермакрен D, кариофиоллен, бициклогермакрен, пресилфиперфолан-9а-ол, спатуленол. Для обоих видов наблюдается положительная корреляция между выходом эфирного масла и коэффициентом экстремальности.

4. Разработаны и валидированы методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в *A. subviscosae herba* (выход 2,03%, $E_{отн}$=2,18%), на рутин – в *A. santolinifoliae herba* (выход 2,01%, $E_{отн}$=3,62%). Разработаны проекты нормативной документации на *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba*, установлены показатели и нормы доброкачественности цельного, измельченного сырья и порошка для данных видов.

5. Разработаны способы получения настоек *A. subviscosae herba* и *A. santolinifoliae herba* и проекты нормативной документации на *A. subviscosae herbae tinctura, A. santolinifoliae herbae tinctura*. Химический состав полученных настоек представлен следующими группами БАВ: флавоноиды, кумарины, дубильные вещества, хлорогеновая и аскорбиновая кислоты, терпеновые соединения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

а.с.с. – абсолютно-сухое сырье

БАВ – биологически активные вещества

ВРПС – водорастворимые полисахариды

ВЭЖХ-УФ – высокоэффективная жидкостная хроматография с фотометрическим детектированием в УФ-диапазоне длин волн

ГХ-МС – газо-хромато-масс-спектрометрия

ГЦ А – гемицеллюлоза А

ГЦ Б – гемицеллюлоза Б

НЖК – насыщенные жирные кислоты

ННЖК – ненасыщенные жирные кислоты

ПВ – пектиновые вещества

СО – стандартный образец

ТСХ – тонкослойная хроматография

ФС – фармакопейная статья

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абышев, А. З. Химическое исследование кумаринов некоторых видов сем. Зонтичных (Umbelliferae) / А. З. Абышев // Химия природных соединений – 1974. – № 5 – С. 568-574.

2. Абышев, А. З. Полимерные производные кумаринов / А. З. Абышев, П. П. Денисенко, И. В. Бродский [и др.] // Химия природных соединений. - 1974. - № 6 - С.714 – 720.

3. Авдеева, Е. Ю. Динамика содержания флавоноидов и фенолокислот в надземной части *Filipendula ulmaria* (Rosaceae) / Е. Ю, Авдеева, Б. А. Краснов, И. В. Шилова // Растительные ресурсы. – 2009. – Вып.1. – С.107-111.

4. Амельченко, В. П. О полынях из родства *Artemisia obtusiloba* Ledeb. / В. П. Амельченко // Новости систематики высших растений. Л.:Наука, 1976. - Т.13. - С. 234 – 244.

5. Полынь Мартьянова – *Artemisia martjanovii* Krasch. ex Poljak. / В. П. Амельченко, Т. П. Березовская, А. П. Цареградская [и др.] / Биологические особенности растений Сибири, нуждающихся в охране.- Новосибирск, Наука, 1986.- С.179-198.

6. Асеева, Т. А. Лекарственные растения тибетской медицины / Т. А. Асеева, К. Ф. Блинова, Г. П. Яковлев. – Новосибирск:Наука, 1985. – 160 с.

7. Атлас лекарственных растений СССР / И. Э. Акопов, Д. М. Аксельрод, В.П. Алексеев [и др.]; под ред. Н. В. Цицин. - Москва : Медгиз, 1962. - VIII, 703 с.

8. Бабаходжаев, А. О кумаринах *Artemisia santolinifolia* / А. Бабаходжаев, Ш. З. Касимов, Г. П. Сидякин // Химия природных соединений. – 1970. - № 3. - С. 363 —364.

9. Баженова, Е. Д. Влияние арсумина и абсинтина на регенерацию экспериментальных язв желудка / Е. Д. Баженова, Р. А. Ашрафова, Х. У. Алиев // Медицинский журнал Узбекистана. - 1977. - Т 7. – С. 47-52.

10. Базарон, Э.Г. "Вайдурья-онбо" – трактат индо-тибетской медицины / Э. Г. Базарон, Т. А. Асеева – Новосибирск, 1984. - 118 с

11. Базарон, Э. Г. Тибетская рецептура в традиционной монгольской медицине (по материалам трактата «Онцар гадон»): монография / Э. Г. Базарон, С. М. Баторова // Улан–Удэ: Изд–во БНЦ СО РАН, 2002. – 164 с.

12. Балицкий, К.П. Лекарственные растения в терапии злокачественных опухолей / К. П. Балицкий, А. Л. Воронцова, А. М. Карнухина // Киев:Здоровье, 1966. - 230 с.

13. Баторова, С.М. Применение лекарственных растений в тибетской медицине / С. М. Баторова // Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока: сб. науч. тр. – Томск, 1986 - С.17-18.

14. Баторова, С. М. Желчегонная активность отваров из некоторых растений Забайкалья / С. М. Баторова, З. Г. Самбуева, С. М. Николаев // Раститительные ресурсы. - 1983. - Т. 19. - Вып.3. – С.380-383.

15. Беленовская, Л. М. Разнообразие флавоноидных агликонов у видов секции *Abratanum* рода Artemisia (Asteraceae) / Л. М. Беленовская, А. А. Коробков / Растительные ресурсы. - 2010. - Т. 46. - вып. 4. - С. 79 —91.

16. Беленовская, Л.М. Фенольные соединения *Artemisia frigida* / Л.М. Беленовская, Л.П. Маркова, Т.П. Капралова // Химия природных соединений.– 1980. – №6. – 834 с.

17. Беленовская, Л.М. Флавоноиды некоторых видов *Artemisia* L. флоры Монголии/ Л.М. Беленовская, Л.П. Маркова // Растительные ресурсы.– 1992. – Т. 28, вып. 1. – С. 122–125.

18. Березнеговская, Л.Н. О расширении использования природных ресурсов лекарственных растений с учетом опыта народной медицины / Л. Н. Березнеговская, Т. П. Березовская, Н. В. Дощинская // Всесоюз.науч.конф. : Народно-хозяйственные растения Западной Сибири: Матер. - Томск, 1971 – С. 72-74.

19. Березовская, Т.П. Хемотаксономия полыней южной Сибири:автореф. дис. ... д–ра биол. наук: 03.00.05 / Т. П. Березовская. Новосибирск, 1978. – 33 с.

20. Березовская, Т.П. Исследование некоторых представителей сложноцветных из сибирской флоры на содержание в них азуленов / Т.П. Березовская, Р.П. Уралова, Е.А. Серых // Некоторые вопросы фармакогнозии дикорастущих и культивируемых растений Сибири. – Томск, 1969.– С. 77–81.

21. Березовская, Т.П. Сибирские виды полыней в народной медицине растительные ресурсы Южной Сибири, их рациональное использование и охрана / Т.П. Березовская, Е.А. Серых. – Томск: изд–во Томского университета, 1982. – С. 60–65.

22. Блинова, К.Ф. Лекарственные растения тибетской медицины Забайкалья / К. Ф. Блинова, Б. Б. Куваев // Вопросы фармакогнозии - Л., 1965. - Вып.3. – С.163-178.

23. Бодоев, Н.В. Химический состав эфирного масла полыни клейковатой *Artemisia subviscosa* Turcz./ Н. В. Бодоев, С. В. Базарова, Б. Б. Намзалов // Химия растительного сырья. - 2002. - № 1. - С. 81–84.

24. Бойко, Э.В. К таксономии полыни Гмелина *Artemisia gmelinii* (Asteraceae) и близких к ней видов / Э. В. Бойко // Хорология и таксономия растений советского Дальнего Востока. – Владивосток: ДВО АН СССР, 1990. – С. 110–115.

25. Бойков, Т. Г. Редкие и типичные (эталонные) растительные сообщества Байкальской Сибири, нуждающиеся в охране / Т. Г. Бойков. - Улан-Удэ, 1999. – С. 45-46.

26. Борисова, Н.А. К определению запасов лекарственного растительного сырья / Н.А. Борисова // Вопросы фармакогнозии: тр. Ленинград, хим. фармац. ин–та. – Л., 1965. – Т.19 – № 3. – С. 9–16.

27. Таран, Л.В. Ботаническая и производственная характеристика природных сенокосов и пастбищ колхоза имени XXII партсъезда Баргузинског

района Бурятской АССР (по материалам геоботанического обследования 1969 года) / Л. В. Таран, А. М. Зарубин, М. В. Фролова. - Иркутск, 1970. – 112с.

28. Бубенчикова, В.Н. Разработка и валидация методики количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в траве хондриллы ситниковидной / В.Н. Бубенчикова, В.Н. Левченко // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2015. - №16 (213), вып. 31. – С.168-173.

29. Бубенчикова, В.Н. Стандартизация сырья девясила иволистного (*Inula salicina* L.) по содержанию гидроксикоричных кислот / В.Н. Бубенчикова, А.В. Азарова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. - №2. – С.196-200.

30. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 1. Роды Achillea – Doronicum / под ред. А.Л. Буданцева. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 317 с.

31. Варлаков, М.И. Лекарственные средства тибетской медицины / М. И. Варлаков // Бюл. НИХФИ. - 1931. - N 6. - С. 135-140.

32. Вичканова, С. А. Перспективы поисков новых химиотерапевтических препаратов из высших растений / С. А. Вичканова // Всесоюзн.науч.конф. по фармакологии и клинического изучения лекарств, препаратов из растений (Москва, 1970): Матер. - М.: ВИЛР, 1982 – С. 194-203.

33. Вичканова, С. А. Изучение противотуберкулезной активности эфирных масел / С. А. Вичканова, Л. В. Макарова // Всесоюз.конф. по исследованию лекарственных растений и перспективам их использования в производстве лекарственных препаратов: Матер. - М., 1972 - С. 231-233.

34. Вичканова, С.А., Антимикробные препараты растительного происхождения / С. А. Вичканова, М. А. Рубинчик, Т. С. Федорченко // Фитонциды в народном хозяйстве. - Киев, 1964. - С. 228-231.

35. Влияние эфирных масел полыни на рост и персистентные свойства стафилококков / Т. М. Уткина, Л. П. Потехина, И. В. Валышева, О. Л. Карташова // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 6. - С. 548.

36. Ворошилов, В.Н. О полынях родства *Artemisia gmelinii* / В. Н. Ворошилов // Бюлл. МОИП (отд. биол.). – 1997. - Т. 102(1). - С. 68.

37. Гаммерман, А. Ф. Лекарственные растения дикорастущие / А. Ф. Гаммерман, И. Д. Юркевич. – Минск:Наука и техника, 1965. – 388 с.

38. Гаммерман, А. Ф. Лекарственные растения (растения-целители) / А. Ф. Гаммерман, Г. Н. Кадаев, А. А. Яценко-Хмелевский. - М.:Высшая школа, 1983. – 400 с.

39. Горчаковский, П. Л. Красная книга Челябинской области: животные, растения, грибы / П. Л. Горчаковский. – Екатеринбург, 2005. - 450 с.

40. Горяев, М. И. Изучение химического состава некоторых видов полыней МНР / М. И. Горяев, Ф. С. Шарипова, Л. А. Ельчибекова, С. Шатар // Изв. АН МНР. - 1973. - № 4. С.

41. Горяев, М.И. Химический состав полыней / М. И. Горяев, И. С. Базалицкая, П. П. Поляков– Алма–Ата, 1962. – 152 с.

42. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. - Введ. 07.01. 86. - М.: ИПК Издательство стандартов, 2004

43. ГОСТ Р ИСО 5725–2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений» в 6 ч. – Введ. 23.04.02. – М.: Госстандарт России; Издательство стандартов, 2002.

44. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 томах [Электронный ресурс] / ред. С. В. Емшанова, О. Г. Потанина, Е. В. Буданова, В. В. Чистяков – XIV изд. – М., 2018. – Режим доступа: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 20.05.2020).

45. Гошовская, Н.З. Исследование лиофилизата полыни горькой / Н. З. Гошовская, Л. Я. Роговская, М. Ф. Тимочка // Изыскание и изучение новых фармакологических средств: Тез.докл. - Пермь, 1989 – С. 81

46. Гриневич, М.А. Лекарственные растения Дальнего востока и Сибири, перспективные для изучения в качестве лечебных средств при туберкулезе, диабете и заболеваниях печени / М.А. Гриневич // Бюл.Сиб отд.АМН СССР, 1982. – N 4. – С. 36-42.

47. Гринкевич, И.И. Химический анализ лекарственных растений: учебное пособие для фарм. вузов / И.И. Гринкевич. – М.: Высшая школа, 1983. – 176 с.

48. Грубов, В. И. Определитель сосудистых растений Монголии (с атласом) / В. И. Грубов; под ред. Е. М. Лавренко, Н. Олзийхутаг. – Ленинград: Наука, 1982. – 443 с.

49. Гусакова, С. В. Липофильные экстракты в фитотерапии и фитокосметике, получение и биохимические свойства / С. В. Гусакова, Ш. Ш. Сагдулаев, З. А. Хуштакова // Химия природ. соединений, 1998. – № 4. – С. 437–447.

50. Гусева, А. П. Применение в тибетской медицине забайкальских растений / А. П. Гусева // Вопросы фармакогнозии - Л., 1961. - Вып. 1. – С.363-366.

51. Гусева, А. П. Применение важнейших растений тибетской медицины по рецептам врача П.А.Бадмаева / А. П. Гусева // Элеутерококк и другие адаптогены из дальневосточных растений. - Владивосток, 1966. - Вып. 7. - С. 309-323

52. Дариймаа, Ш. География полыней в Монгольской Народной Республике. / Ш Дариймаа, И. А. Губанов // Бюл. МОИП, 1990. Т.95. - №39. - С. 98 -111.

53. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Издательство СПХФА, 2001. – С. 453–455.

54. Дятловицкая, Э. В. Липиды как биоэффекторы / Э. В. Дятловицкая, В. В. Безуглов // Биохимия. - 1998. - Т. 63.- № 1. - С. 3−6.

55. Дыленова, Е.П. Фармакогностическая характеристика *Artemisia frigida* Willd. и *Artemisia jacutica* Drob. и разработка лекарственных средств на их основе: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02. – Байкальский институт природопользования сибирского отделения российской академии наук, Улан-Удэ, 2019 - 226 с.

56. Жигжитжапова, С.В. Макроскопический, микроскопический, фитохимический анализ лекарственного растительного сырья: учебное пособие: / сост. С.В. Жигжитжапова, Т.Э. Рандалова, Л. Д. Раднаева - Улан-Удэ: Издательство Бурятского Научного Центра, 2014. - 93 с.

57. Жигжитжапова, С. В. Эфирные масла полыней, применяемых в народной медицине Сибири / С. В. Жигжитжапова, Л. Д. Раднаева // Фундаментальные науки. Медицина. – Новосибирск, 2008. – С.35–37.

58. Жигжитжапова, С. В. Эфирное масло полыни клейковатой *Artemisia subviscosa* (Turcz. exBess.) Krasnob./ С. В. Жигжитжапова, Т. Э. Рандалова, Л. Д. Раднаева // Бюллетень ВСНЦ СО РАН. - 2015. - № 2 (102). = С. 133-135.

59. Жонхожаева, Ф. Б. Компоненты *Artemisia santolinifolia* / Ф. Б. Жонхожаева, И. Д. Шамьянов, Д. Батсурен, С. Х. Закиров, В. М. Маликов, А. Абдусаматов // Химия природных соединений – 1990. - № 5. - С. 697-698.

60. Журавская, А.Н. Зависимость радиочувствительности семян растений от экологических условий произрастания/ В. В. Стогний, Б. М. Кершенгольц // Радиционная биология. Радиоэкология. - 1998.№5. - С.531-539

61. Завражнов, В. И. Лекарственные растения Центрального Черноземелья / В. И. Завражнов, Р. И. Китоль, К. Ф. Хмелев // 3-е издание - Воронеж, 1977 – 448 с.

62. Зилфикаров, И.Н. Новые подходы в разработке и стандартизации фитопрепаратов из эфирномасличного сырья: дисс. д-ра фарм. наук (15.00.02) / Зилфикаров И.Н.; Пятигорск.-Пятигорск, 2008-291с.

63. Ибрагимов, Ф. И. Основные лекарственные средства китайской медицины / Ф. И. Ибрагимов, В. С. Ибрагимова - М.,1960. – 412 с.

64. Иванова, М.М. Растительность Ушканьих островов / М.М. Иванова // Природа Ушканьих островов на Байкале. — М.: Наука, 1969. — С. 82 —172

65. Иванова, Л.А. Технология лекарственных форм / Под ред. Л.А. Ивановой // – Т 2, М.: Медицина, 1991. – 554 с

66. Изучение химического состава и антиоксидантной активности полифенолов *Artemisia santolinifolia* / А. В. Прибыткова, С. С Ткачев, С. И. Зоркальцев [и др.] // Сибирский медицинский журнал. - 2011. - Т. 26. - № 1. - Вып. 2. - С. 65-67.

67. Искакова, Ж. Б. Фитохимическое изучение *Artemisia messerschmidtiana* Bess. / Ж. Б. Искакова, Е. М. Сулеймен, М. Ю. Ишмуратова [и др.] // Естественные и математические науки в современном мире. – 2014. - № 20 . – С. 93-104.

68. К проблеме таксономического статуса *Artemisia santolinifolia* Turcz. ex Bess.: хемосистематические аргументы и особенности окинскойценопопуляции вида (Восточный Саян) / Намзалов Б. Б., Жигжитжапова С. В., Раднаева Л. Д. [и др.] // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – Барнаул: АлтГУ, 2017, С. 279-283.

69. Киселева, Т.Л. Растения рода Artemisia в гомеопатии и фитотерапии / Т.Л. Киселева, Е.В. Цветаева, Т.К. Агеева. – М.: Изд-во Федерального научного клинико-экспериментального центра традиционных методов диагностики и лечения МЗРФ, 2004. – 64 с.

70. Ковалева, Н.Г. Лечение растениями / Н.Г. Ковалева. – М.: Советский спорт, 1993. – С. 178–180.

71. Компанцев, Н.Н. Исследование антигельминтных свойств эфирных масел некоторых полыней Средней Азии и Казахстана / Н.Н. Компанцев, С. Н. Бабаджанов, А. Н. Крыженков [и др.] // Научно-практ.конф. по проблемам гельминтологии: Матер. – Самарканд, 1983. - С. 50-52.

72. Коробков, А. А. *Artemisia gmelinii* Weber ex Stechm. (= *A. santolinifolia* auct. non Turcz. ex Besser) – Полынь Гмелина / А. А. Коробков, А. В. Галанин, А. В. Беликович // Флора Даурии. Т. VI (Asteraceae). – Находка: Институт технологии и бизнеса, 2015. – С. 30.

73. Красная книга Республики Бурятия: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных, растений и грибов. — Изд. 3-е, перераб. и доп. / отв. ред. Н.М. Пронин. — Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2013. — 688 с.: ил.

74. Красная книга Республики Саха (Якутия). Т. 1: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов / Мин-во охраны природы РС (Я), Департамент биологических ресурсов. Якутск: НИПК «Сахаполиграфиздат», 2000. 256 с

75. Красноборов, И. М. Высокогорная флора Западного Саяна – Новосибирск : Наука СО АН СССР, 1976 - 350 с.

76. Крашенинников, И. М. Опыт филогенетического анализа некоторых евразийских групп рода Artemisia L. в связи с особенностями палеографии Евразии / И.М. Крашенинников // Матер. по систематике флоры и растительности СССР - М.-Л., 1946. - Вып. 2. - С. 87-196.

77. Крылов, Г. В. Зеленая аптека Кузбасса / Г. В. Крылов, Э. В. Степанов. - Кемерово, 1970. - 230 с.

78. Куприянов, А. Н. Красная книга Кемеровской области, т.1. – Кемерово: Азия принт, 2012, 208 с

79. Куприянов, А. Н. Новые виды полыни (*Artemisia Subgenus Artemisia*, Asteraceae) из Центрального Казахстана / А. Н. Куприянов // Ботанический журнал. - 1995. - Т. 80. - № 7. - С. 82 – 84.

80. Куприянов, А. Н. Полыни Центрального Казахстана (Artemisia L., Asteraceae) // Ботанические исследования Сибири и Казахстана : Сб. научных статей Гербария Алтайского ун-та - Барнаул, 1995 - С. 4 - 10.

81. Куприянов, А. Н. Полыни (*Artemisia* L.) Алтайского края / А. Н. Куприянов, С. К. Пугачева // Ботанические исследования Сибири и Казахстана: Сб. научных статей гербария им. В.В.Сапожкова. Барнаул: изд-во Алтайского ун та, 1996. – С. 3 - 14.

82. Лекарственные растения в монгольской народной медицине / Ц. Хайдав, Б. Алтанчимэг, Т. С. Варламова 2-е изд. - Улан-Батор, 1985. - 390 с.

83. Макаров, А.А. Растительные лечебные средства якутской народной медицины / А.А. Макаров. - Якутск, 1974 – 64 с.

84. Мартынов, А. М. Состав полисахаридных комплексов Viola langsdorfii / А.М. Мартынов, Т.Д. Даргаева. – Сибирский медицинский журнал. – 2010. - №2. – С. 114-116).

85. Махлаюк, В.П. лекарственные растения в народной медицине / В.П. Махлаюк. – М.: Нива России, 1992. – С. 285–286.

86. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: справочник. - 16е изд., доп.- М.:Изд-во «Новая Волна», 2010

87. Мирович, В. М. Макроскопический анализ лекарственного растительного сырья / В. М. Мирович, Е.Г. Горячкина, Г.М. Федосеева, Г.И. Бочарова // Учебное пособие – Иркутск, ИГМУ. – 2013. – 101 с.

88. Муравьев, И. А. Исследование стабильности эфирных масел в мазях физико – химическими методами анализа / И. А. Муравьев, И. И. Ткачева, Э. К. Кравченко // Фармация. – 1989. – №4. – С. 54 – 55.

89. Муравьев, И. А. Технология лекарств / И.А. Муравьев. – изд. 3–е,перераб и доп. // – Пятигорск, 1980. – Т. 1. – 704 с.

90. Муравьева, Д. А. Материалы к изучению полыней Северного Кавказа как противоглистных средств / Д. А. Муравьева, Л. И. Мягкая, М. И. Петров [и др.] // Уч.зап.Пятигорского фармац. ин-та - 1961. - Т. 5. - С. 5-13.

91. Мухаметжанов, М. Н. О противоопухолевой активности экстрактивных веществ из растений сем. Сложноцветных / М. Н.Мухаметжанов, А. Д. Кагарлицкий., С. М. Адекенов [и др] // Проблемы рационального

использования лекарственных и технических растений Казахстана.– 1986. - С. 230 – 232.

92. Намзалов, Б. Б. О некоторых западных степных элементах в растительном покрове Забайкалья / Б.Б. Намзалов, Т.М. Гришкина // Проблемы изучения растительного покрова Сибири. — Томск: Изд-во ТГУ, 1995. — С. 112 —114

93. Намзалов, Б.Б. Эндемизм и реликтовые явления во флоре и растительности степных экосистем Байкальской Сибири / Б.Б. Намзалов [и др.] // Биоразнообразие Байкальской Сибири. — Новосибирск: Наука. Сибирская изд. фирма РАН, 1999. — С. 184-192

94. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / под ред. проф.В.Л. Багировой, проф. В.А. Северцева. - СПб.: СпецЛит, 2001. -223 с.

95. Нестерова, В. М. Фармакогностическое исследование некоторых видов полыни: автореф. дисс. ... канд. биол. наук / В.М. Нестерова. – Томск, 1951. – 18 с.

96. Новый гиполипидемический препарат "Атеролид" / Р.М. Аксартов [и др.] // Фундаментальные проблемы фармакологии: материалы 2 съезда фармакологов. - М., 2003.- Ч. 1. - С. 17.

97. Ноздрюхина, Л. Р. Нарушение микроэлементного обмена и пути его коррекции / Л. Р Ноздрюхина, Н. И. Гринкевич . - М. «Наука», 1980. - 280 с.

98. Носаль, М. А. Лекарственные растения и способы их применения в народе / М. А.Носаль, И. М. Носаль. – Киев, 1962. - 256 с.

99. Носаль, М.А. Лекарственные растения и способы их применения в народе / М.А. Носаль, И.М. Носаль – М.: Профиздат, 1993. – С. 28–31.

100. Определитель растений Бурятии / под ред. О.А. Аненхонова [и др.]. – Улан-Удэ: Республиканская типография, 2001. – 672 с.

101. Осипов, К.И. Количественный состав и ресурсы полезных растений флоры Байкальской Сибири / К. И. Осипов – Улан-Удэ: Ин-т биологии БНЦ СО РАН, 1993. – 48 с.

102. Павелковская, Г. П. Исследование флавоноидов у некоторых видов полыни: автореф. дис. … канд. биол. наук : 03.00.00 / Павелковская Галина Петровна - Алма-Ата, 1968. - 22с.

103. Панкрушева, Т. А. Разработка многокомпонентных мазей для лечения местных гнойно – воспалительных процессов. / Т. А. Панкрушева, Е. В. Кобзарева // Актуальные проблемы медицины и фармации: сб. науч. тр. – Курск, 2001. – С. 264 – 265.

104. Пашинский, В.Г. Растения в терапии и профилактике болезней / В. Г. Пашинский. – Томск : изд - во ТГУ, 1989 – С. 165-166.

105. Полыни Бурятии: анализ разнообразия, экологогеографических особенностей и хемотаксономии секции *Abrotanum* / Б. Б. Намзалов, С. В. Жигжитжапова, Н. Г. Дубровский [и др.] // Acta biologica sibirica. – 2019. - т5. - №3. – С. 178-187

106. Полыни Сибири (систематика, экология, химия, хемосистематика, перспективы использования) / Т. П. Березовская, В. П. Амельченко, И. М. Красноборов, Е. А. Серых. – Новосибирск: Наука СО РАН, 1991 - 124 с.

107. Поляков, П.П. Систематика и происхождение сложноцветных / П.П. Поляков. - Алма-Ата, 1967 - 335 с.

108. Попов, М.Г. Флора Средней Сибири / М.Г. Попов ; отв. ред. Б. Шишкин ; ф.А. Восточно-сибирский. – Москва ; Ленинград : Издательство Академии Наук СССР, 1959. – Т. 2. – 363 с

109. Прудченко, В.А. Опыт применения полынных сигарет в лечении дегенеративно-дистрофических заболеваний костно-хрящевой ткани (остеохондроз и артрозы) / В. А. Прудченко // Практическая фитотерапия. - 2002. - № 4. - С. 23-26.

110. Пыхалова, Т. Д. Новые местонахождения редких видов сосудистых растений в Бурятии / Т. Д. Пыхалова, И. Р. Сэкулич // Turczaninowia. — 2012. — Т. 15, — С. 37 —39.

111. Рандалова, Т. Э. Лабораторный практикум по фармакогнозии: учебное пособие: / сост. Т. Э. Рандалова, С. З. Преловская, С. В. Жигжитжапова, Л. Д. Раднаева - Улан-Удэ: Издательство Бурятского госуниверситета, 2020.— 219 с.

112. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Семейство Asteraceae (Compositae). Роды Achillea–Doronicum / под ред. А.Л. Буданцева // СПб; М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2012. – Т.5.– Ч.1. – 320с.

113. Поляков, П.П. Род Artemisia L. – Полынь / П.П. Поляков // Флора СССР. - М.; Л.: ,1961. - Т. 26. - С. 425 – 631 с.

114. Прибыткова, Л. Н. Изучение химического состава и антиоксидантной активности полифенолов *Artemisia santolinifolia* / Л. Н. Прибыткова, А. В. Ткачев, С. С. Зоркальцев [и др.] // Сибирский медицинский журнал. - 2011. - т. 26. - № 1. Вып.2. - С. 65-67.

115. Рослякова, Т. К. Проазуленсодержащее сырье для косметических целей / Т. К. Рослякова, Е. П. Кошевой, С. А. Попова. - М., 1976. – 47 с.

116. Самойлова, Г. В. Оценка антибактериального действия настоев *Artemisia* L / Г. В. Самойлова, С. В. Трапезников // Вестник Омского государственного педагогического университета. – 2006. – С. 15-17.

117. Семенова, Е. Ф. Фармакологическая и пищевая ценность семян льна посевного *Linum usitatissimum* L. / Е. Ф. Семенова, Т. М. Фадеева, Е. В. Преснякова // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье», 2013. – № 2. – С. 117–124.

118. Соктоева, Т.Э. Фармакогностическое исследование *Artemisia Annua* L. и *Artemisia sieversiana* Willd. флоры Бурятии: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Соктоева Туяна Эрдэмовна. – Улан-Удэ, 2011 - 172 с.

119. Соловьева, М. И. О холеретической активности полыни Гмелина / М. И. Соловьева // Некоторые вопросы фармакогнозии дикорастущих и культурных растений Сибири. – Томск, 1969. – С. 66–69

120. Супильникова, А.В. Разработка методик качественного и количественного анализа сырья и препаратов полыни эстрагон (*Artemisia dracunculus* L.): дис. … канд. фарм. наук: 15.00.02 / Супильникова Анна Владимировна - Самара, 2004. - 294с.

121. Телятьев, В. В. Полезные растения Центральной Сибири / В. В. Телятьев – Иркутск, 1985 - 382 с.

122. Кумарины из *Artemisia obtusiloba* и *Artemisia martjanovii* / Р. В. Усынина, В. В. Дудко, Т. П. Березовская [и др.] // Химия природных соединений. - 1972. – №5. – С. 645.

123. Уткин, Л. А. Народные лекарственные растения Сибири / Л. А. Уткин. – М.-Л.: Государственное научно-техническое издательство, 1931. - Вып. 24. – 135 с.

124. Филатова, Н. С. Определитель полыней Казахстана / Н. С. Филатова. – Алма-Ата, 1963 - 15 с.

125. Филатова Н. С. Систематические заметки о полынях Казахстана / Н. С. Филатова // Ботанические материалы Гербария Института ботаники АН КазССР. Алма-Ата, 1964. Вып. 2. С. 58–70.

126. Филиппова, Г. В. Роль экологических факторов в накоплении биологически активных веществ растениями Якутии: дис. …кандидата биол. Наук 03.00.16 / Филиппова Галина Валерьевна. – Якутск, 2003. - 180с.

127. Флора Сибири. Т. 13: Asteraceae (Compositae)/ под ред. И.М. Красноборова: в 14 т. - Новосибирск: Наука, Сиб. отделение РАН, 1997. - С. 150-164.

128. Фоменко, Ю. М. Эффективность применения арглабина в терапии больных злокачесвтенными опухолями / Ю. М. Фоменко, В. Б. Сирота // Обзоры литературы. Медицина и экология. – 2016. - №4. – С. 38-46.

129. Фруентов, Н. К. Лекарственные растения Дальнего Востока / Н. К/ Фруентов. - 3-е изд. – Хабаровск, 1987. - 349 с.

130. Халматоа, Х. Х Дикорастущие лекарственные растения Узбекистана / Х. Х. Халматоа. – Ташкент: Медицина, 1964. – 280 с.

131. Ханина, М. А. Флавоноидный состав полыни обыкновенной / М. А. Ханина // Лекарственные растения Алтайского края. - Томск, 1986. - С. 35.

132. Ханина, М. А. Полыни Сибири Дальнего Востока (химический состав, систематика, биологическая активность) / М. А. Ханина, М. Г. Ханина. - Орехово-Зуево, 2018. - 246 с.

133. Ханина, М. А. Атлас анатомических признаков полыней / М.А. Ханина, Е. А. Серых, В. П. Амельченко. – Томск, 1999. –55 с.

134. Ходжаева, З. Г. К истории изучения *Artemisia santolinifolia* (Turcz. ex Pamp.) Krasch. и *Artemisia tournefortiana* Rchb / З. Г. Ходжаева, А. К Мирзорахимов // Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение биологических и медицинских наук. – Душанбе: Изд-во Президиум Академии наук Республики Таджикистан. – 2018. – Т.3, - С. 17-23

135. Чемесова, И. И. Фенольные соединения *Artemisia adamsii* / И. И. Чемесова, Л. М. Беленовская, Т. П. Надежина // Химия природных соединений. – 1983. – № 3. – С. 385-336.

136. Чемесова, И. И. Метоксилированные производные 6–оксифлавоноидов в представителях рода Artemisia L. / И. И. Чемесова, К. Ф. Блинова // Тезисы докладов Пятого Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. – Таллин. – 1987. – С. 124–125.

137. Чимитцыренова, Л. И. Фармакогностическое исследование *Artemisia gmelinii* Wed. ex Stechm. и разработка лекарственных средств на ее основе: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Чимитцыренова Людмила Ивановна. – Улан-Удэ, 2017 - 195 с.

138. Чимитцыренова, Л. И., Состав липидной фракции *Artemisia gmelinii* Web. Ex Stechm. из флоры центральной азии / Л. И. Чимитцыренова, В. В. Тараскин, С. В. Жигжитжапова, Л. Д. Раднаева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 2-3. – С. 243.

139. Чиркова, Т. В. Физиологические основы устойчивости растений / Т. В. Чиркова. - СПб.: Изд-во С.-Петерб. университета, 2002. - 244 с.

140. Чуешов, В. И. Промышленная технология лекарств / В. И. Чуешов, Н. Е. Чернов, В. А. Белоусов. – Харьков: Укрфа. – 1999. – Т.2. – 704 с.

141. Чумбалов, Т. К. Флавоноиды некоторых полыней Казахстана / Т. К. Чумбалов, О. В. Фадеева // Прикладная и теоретическая химия. - 1974. - Вып. 5. - С. 71 - 76.

142. Чуролинов, П. Фитотерапия в дерматологии и косметике / П. Чуролинов. - София: Медицина и физкультура, 1979. - 147с.

143. Тхэсоп, Чхве. Лекарственные растения / Чхве Тхэсоп. - М.: Медицина, 1987. – 608 с.

144. Шалдаева, Т. М. Особенности накопления флавоноидов в полынях (*Artemisia* L.) лесостепной зоны Западной Сибири: дис. … канд. б. наук: 03.00.05 / Шалдаева Татьяна Михайловна. – Новосибирск, 2007. - 224 с.

145. Шалдаева, Т. М. Содержание флавоноидов в некоторых сибирских видах рода *Artemisia* L. – полынь / Т.М. Шалдаева // Теоретические и практические аспекты изучения лекарственных растений. – Томск, 1996. – С. 19–21.

146. Шалдаева, Т. М. Содержание флавоноидов в представителях рода *Artemisia* L. из природных популяций Сибири / Т. М. Шалдаева, Г.И. Высочина // Химия растительного сырья. - 2012. - №2. - С. 79-84.

147. Широков, Е. П. Содержание эфирных масел в растениях, используемых при производстве тонизирующих напитков / Е.П. Широков, Д. Бадгаа, И. В. Кобзев // Известия ТСХА. – Москва, 1980. – Вып.3. – С.187-191.

148. Шретер, А. И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока / А. И. Шретер. - М., 1975– 328 с.

149. Шретер, А. И. Методика определения запасов лекарственных растений / А. И. Шретер [и др.]. – М., 1986. – 52с.

150. Яременко, К. В. Препараты природного происхождения как средства профилактической онкологии / К. В. Яременко, В. Г. Пашинский // Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока: Тез. докл. - Томск, 1986 – С. 171-172.

151. Gewali, M.B. Aspects of Traditional Medicine in Nepal / M.B. Gewali // Toyama: Institute of Natural Medicine, University of Toyama. – 2008. – 185 p.

152. 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. – N. 2. – pp. 151–165.

153. Atazhanova, G. A. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia glabella* / G. A. Atazhanova, A. D. Dembitskii, N. I. Zhizhin, S. M. Adekenov // Chemistry of Natural Compounds. – 1999. - Vol. 35, N. 2. - pp. 172-175.

154. Babakhodzhaev, A. Coumarins of *Artemisia santolinifolia* / A. Babakhodzhaev, Sh. Z. Kasymov, G. P. Sidyakin // Chemistry Of Natural Compounds. - 1970. - No.3. - pp 363 – 364.

155. Ballabh, B. Traditional medicinal plants of gold desert Ladakhused in treatment of gold, cough and fever / B. Ballabh, O. P. Chaurasia // Jour. Ethnophatmacol. – 2007. – Vol. 112. – pp. 341–349.

156. Banerjee, S. Some alicyclic terpenoids from the tribe Anthemideae / S. Banerjee, M. Grenz, J. Jakupovic, F. Bohlmann // Planta Med. - 1985. - Vol. 51 – N. 2. – pp. 177 —179.

157. Bicchi, C. Essential oils of three Asiatic Artemisia species / C. Bicchi, C. Frattini, T.Sacco // Phytochemistry. – 1985. – Vol. 24. – N.10. – pp. 2440–2442.

158. Bohlmann, F. Guaianolides related to arborescin from *Artemisia adamsi*i / F. Bohlmann, L. Hartono, J. Jakupovic, S. Huneck // Phytochemistry. – 1985. – N. 24 (5). – pp. 1003-1007.

159. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods–a review / S. Burt // Int J Food Microbiol. – 2004. – № l. – pp. 223 – 253.

160. Nitric oxide inhibitory sesquiterpenoids and its dimers from *Artemisia freyniana* / Chen Zhang, Ran Wen, Xiao-Li Ma et al. // Journal of Natural Products. - 2018. - Vol. 81. – N.84.– pp. 866-878.

161. Könczöl, Á. Finding bioactive compounds in plant extracts by HPLC–coupled assays: novel approaches to natural product–based drug discovery / Á. Könczöl. – Budapest. – 2013. – 15 p.

162. Kukina, T. P. Polyisoprenoids from several *Artemisia* species / T. P. Kukina // Chemistry Of Natural Compounds. - 2016. - No.3. - pp 475-477.

163. Grazul, M. Biological activity of metal ions complexes of chromones, coumarins and flavones / M. Grazul, E. Budzisz // Coordination chemistry reviews. - 2009. - Vol. 253. - N21-22. - pp. 2588–2598.

164. Greger, H. Eudesman-12,8a-olides and other terpenes from Artemisia species / H. Greger, C. Zdero, F. Bohlmann // Phytochemistry. - 1986. - Vol. 25. - N 4. – pp. 891 —897.

165. Gy, H. M. Rapid action of guinghaosu and related drugs on incorporation of [3H] isoleucine by Plosmodium falciparum in vitro / H. M. Gy, D. C. Washurst, W. Peters / Biochem. Pharmacol. - 1983. - Vol. 32. - N 17. - pp. 2463-2466.

166. Hartwell, J. L. Plants used against cancer / J. L. Hartwell // Lloydia. - 1968. - Vol. 31. - N 2. - pp. 71 - 170.

167. Jacupovic, J. Seco- andnor-sesquiterpene lactones with a new carbon skeleton from *Artemisia santolinifolia* / J. Jacupovic, R. X. Tan, F. Bohlmann et al. // Phyrochemistry. - 1991. - Vol. 30. - No. 6. - pp. 1941-1946.

168. Kalinowska, M. Spectroscopic, thermogravimetric and biological studies of Na(I), Ni(II) and Zn(II) complexes of quercetin / M. Kalinowska // J. therm. anal. calorim. 2016. Vol. 126. pp. 141–148.

169. Kates, M. Techniques of lipidology: isolation, analysis, and identification of lipid / M. Kates. - New York: Elsevier, 1972. - 610 p.

170. Khalilov, L. M. Identification and biological activity of volatile organic compounds emitted by plants and insects. IV. Composition of vapour isolated from

certain species of Artemisia plants / L. M. Khalilov, E. A. Paramonov, A. Z. Khalilova et al. // Chem. Nat. Compd. - 2001. - Vol. 37. - N 4. - pp. 339—342.

171. Kletter, C. Tibetan medicinal plants / C. Kletter, M. Kriechbaum. - Stuttgard: Medpharm Scientific Publ. - 2001. - 383p.

172. Ling Yeou-ruenn. The chinese Artemisia Linn – the classification, distribution and application of Artemisia Linn. In China / Yeou-ruenn Ling // Bulletin of Botanical Research, 1988. – Vol. 8, N 4. – pp. 1–61.

173. Marco, J. A. Natural products from the genus *Artemisia* L. / J. A. Marco, O. Barbera // Studies in Natural Products Chemistry. - 1990. - Vol. 7. – pp. 101-115.

174. Randalova, T.E. Comparative analysis of chemical composition of plants of the genus Artemisia containing arglabin of Russian (Buryatia) and Kazakhstan floras/ T. E. Randalova, P. Y.Sakenova, G. A. Atazhanova et al. // Czech Chemical Society Symposium Series. Karaganda, 2015. - pp. 169-173.

175. Shatar, S. Chemotypical character of the eleven *Artemisia* species from Gobi Desert-Mongolia / S. Shatar, S. Altantsetseg, S. Darijimaa // Journal of essential oil bearing plants. – 2006. – № 9(1). – pp. 22-27.

176. Tian, J. Studies on the chemical constituents of quing hao (*Artemisia annua*) a traditionae chinese herb / J. Tian, Zh.Wei, Z. Wu // Zhongcaoyao. - 1982. - V.13. - N 6. – pp. 9-11.

177. Valant-Vetschera, K. Flavonoid aglycones from the leaf surfaces of some *Artemisia* spp. (Compositae-Anthemideae) / K. M. Valant-Vetscheraa, E. Wollenweberb // Verlag der Zeitschriftfür Naturforschung. – 1995. - pp. 353-357.

178. Wollenweber, E. External flavonoid aglycons in *Artemisia* and some further Anthemideae / E Wollenweber, K. Mann., K. Valant-Vetschera // Fitoterapia. – 1989. - Vol. 60. - N 5. – pp. 460-463.

179. Zeng, W.–Zh. Flavonoids from *Artemisia gmelinii* Web. ex Stechm. / W.–Zh. Zeng, Quesheng, Zh. Qingying, et al. // Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 23 (7): – pp. 496–499.

180. Zeng, W.–Zh. Two new oplopane sesquiterpenes from *Artemisia gmelinii* Web. ex Stechm. / Wen–Zhi Zeng [et al.] // Chinese Chemical Letters. – 2014. – Vol. 25, N. 8. – pp.1153–1156.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента государственного контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники Минздрава России
_____ Ф.И.О.
«___» _____ _____ г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ
(Проект)

Полыни клейковатой трава_____ФС.2.5.0000.19
***Artemisiae subviscosae herba*_____Вводится впервые**

Срок введения установлен
с «___» _____ г.
до «___» _____ г.

Собранная в фазу цветения и высушенная надземная часть дикорастущего многолетнего травянистого растения полыни клейковатой – *Artemisia subviscosa* Turcz. ex Bess.
сем. Астровые – *Asteraceae.*

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Цельное сырье. Высушенная надземная часть растения, длиной до 40 см, состоит из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей. Цветоносный стебель прямостоячий, цилиндрический, слегка ребристый. Листья простые с округлой или яйцевидной формой листовой пластинки. Нижние и средние стеблевые листья черешковые, 1,5-2,5 см в длину дважды перисторассеченные, с ушками. Корзинки слегка продолговатые или шаровидные, диаметром 2-3,5 мм плод – семянка. Цвет стеблей зеленовато-серый, листьев сверху серовато-зеленый, снизу – серебристо-серый, цветков – желтый. Запах ароматный, своеобразный, сильный, вкус водного извлечения пряно-горький.

Измельченное сырье. Смесь кусочков стеблей, листьев и цветков различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм. Цвет от зеленого до серебристо-серого со светло-желтыми, желтовато-зелеными вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкус водного извлечения пряно-горький.

Порошок. При рассмотрении сырья под лупой (10х) и стереомикроскопом (16х) видна смесь кусочков стеблей, листьев и цветков, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Цвет от зеленого до серебристо-серого со светло-желтыми, желтовато-зелеными вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкус водного извлечения пряно-горький.

Микроскопические признаки. *Цельное сырье, измельченное сырье.*

При рассмотрении микропрепаратов с верхней стороны листовой пластинки видны клетки эпидермиса со слабоизвилистыми стенками. Клетки нижнего эпидермиса - сильноизвилистыми стенками. Устьичный аппарат аномоцитного типа, представлен овальными, крупными устьицами, расположенными на обеих сторонах листа и окруженными 3–5 клетками. Присутствуют простые, многоклеточные, Т-образные волоски, состоящие из короткой 2-4-клеточной ножки, несущей длинную тонкостенную клетку с заостренными концами, прикрепленную к ножке посередине и лежащую горизонтально. На верхней и нижней стороне листа расположены крупные, овальные эфирномасличные железки с поперечной перегородкой, состоящие из 8 выделительных клеток, расположенных в 2 ряда и 4 яруса. Железки погружены в эпидермис.

Эпидермис цветков представлен прямоугольными клетками со слабоизвилистыми стенками. Цветоложе густо опушено простыми бичевидными волосками, Т-образными волосками, присутствует большое количество эфирномасличных железок.

Эпидермис продольного среза стебля состоит из прямостенных клеток. Устьица овальные, крупные аномоцитного устьичного типа. Эфирномасличные вместилища

многочисленные, округлые. При рассмотрении поперечного среза стебля установлено, что стебель округлой формы, многогранный, с наружной стороны покрыт 1-слойным эпидермисом, состоящим из прямостенных, удлиненных клеток. По углам локализуются участки уголковой колленхимы. Проводящая система пучкового типа, пучки коллатеральные, открытые, представлены 2–3 рядами мелких клеток флоэмы и ближе к центру – ксилемы. Сердцевина стебля представлена крупными округлыми, рыхло-расположенными клетками сердцевинной паренхимы (рисунок 1).

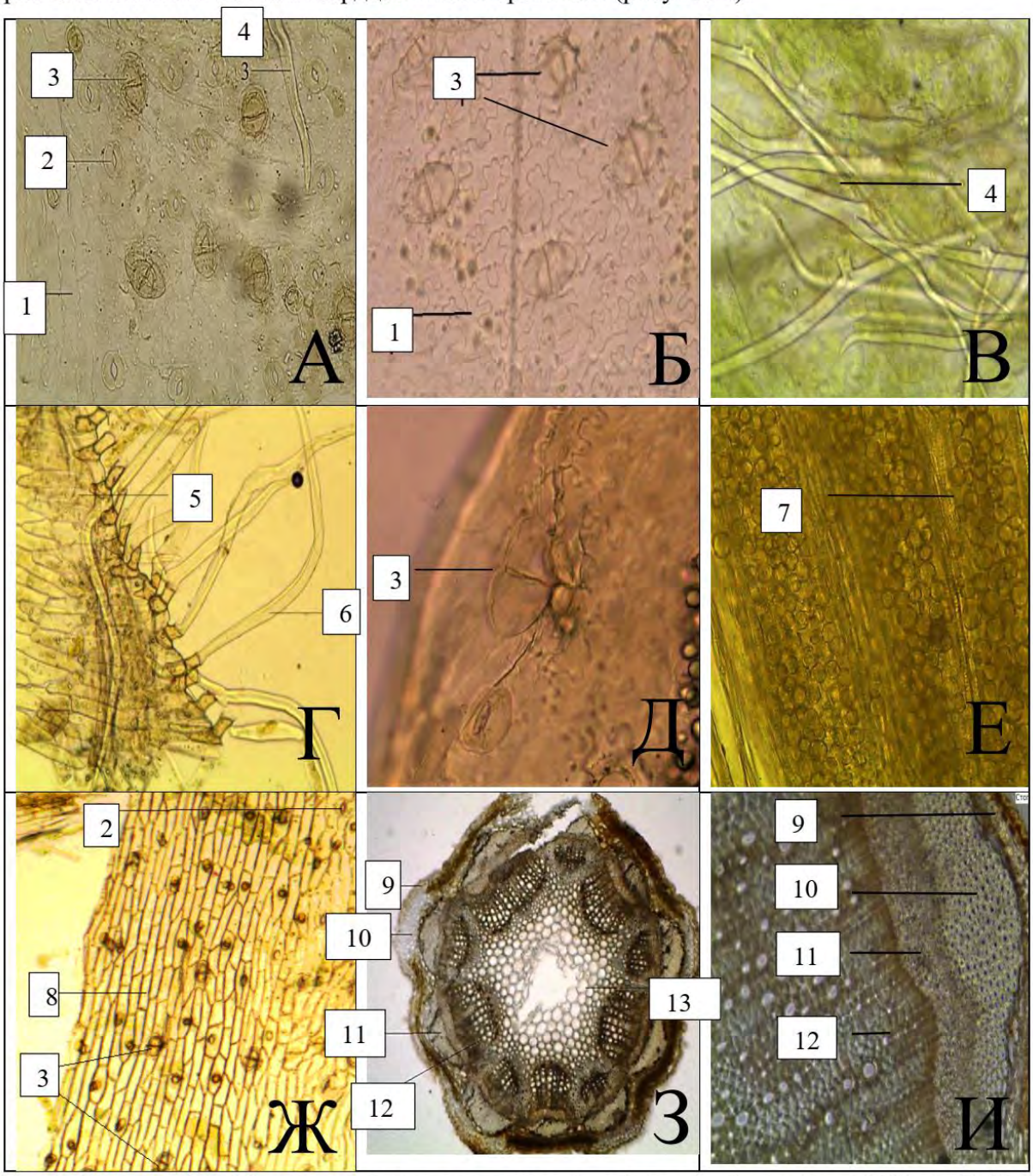


Рисунок 1 - Микроскопическое строение *A. subviscosae herba* (ув. х150): А, Б, В – верхний и нижний эпидермис листа: 1 – клетки эпидермиса, 2 – устьице, 3 – эфирномасличная железка, 4 – Т-образный волосок; Г - эпидермис обвертки: 5 – клетки эпидермиса, 6 – бичевидные волоски; Д– эфирномасличная железка (вид сбоку), Е –

пыльник: 7 – округлая пыльца; Ж – продольный срез стебля: 8 – клетки эпидермиса, 2 – устьица, 3 –эфирномасличная железка; З, И – поперечный срез стебля: 9 – эпидермис; 10 – колленхима; 11 – флоэма; 12 – ксилема; 13 – паренхима.

Порошок. При рассмотрении микропрепаратов порошка видны обрывки извилистостенных клеток эпидермиса, Т-образных, бичевидных волосков, овальных эфирно-масличных железок с поперечной перегородкой, зерна пыльцы сферической формы.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Обнаружение лютеолин-7-гликозида методом ТСХ

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида. Около 0,01 г (точная навеска) лютеолин-7-гликозида растворяют в 25 мл спирта 96%. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2,0 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл спирта 40%, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор). На линию старта аналитической хроматографической пластинки ПТСХ-ПА-УФ «Sorbfil». со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×10 см в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм наносят 10 мкл испытуемого раствора и параллельно в одну полосу 5 мкл раствора СО лютеолин-7-гликозида. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин смесью растворителей бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (4:1:2) и хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт растворителей пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу и рассматривают в УФ-свете. После проявления хроматограммы алюминия хлорида спиртовым раствором 5% зона флавоноидного характера приобретает желтый, желто оранжевый цвет (лютеолин-7-гликозид).

На хроматограмме испытуемого раствора после проявления – зона желто-оранжевого цвета на уровне зоны СО лютеолин-7-гликозида (Rf=0,76±0,02); допускается обнаружение дополнительных зон.

Гистохимические реакции

При обработке плоскостных микропрепаратов листьев, стеблей, соцветий раствором Судана III и метиленовым синим эфирномасличные железки окрашиваются в оранжевый и синий цвет, соответственно.

Качественная реакция

2 г измельченного сырья экстрагируют 25 мл спирта 40% при нагревании с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение охлаждают, фильтруют. В две пробирки с одинаковым количеством извлечения (1 мл) прибавляют по 3 капли концентрированной хлористоводородной кислоты. Затем в одну из пробирок добавляют несколько крупинок металлического магния, обе пробирки нагревают на водяной бане до кипения и оставляют для охлаждения на 10 мин. О присутствии в извлечении флавоноидов свидетельствует появление красной окраски.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 10 %.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 10 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 1 %.

Измельченность сырья. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм – не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм – не более 1%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм – не более 5%.

Посторонние примеси

Части, изменившие окраску (потемневшие и почерневшие). *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 1 %.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 1%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 1%.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок:* сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид – не менее 1,5%; эфирного масла – не менее 0,5%; экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 40% – не менее 25%.

Сумма флавоноидов.

Приготовление растворов

Раствор стандартного образца (СО) лютеолина. Около 0,01 г (точная навеска) СО лютеолина, высушенного при температуре 100–105°С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96%, нагревают на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО лютеолина). Срок годности раствора – 30 сут.

1,0 мл раствора А СО лютеолина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, 2 мл алюминия хлорида раствора 2% и доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО лютеолина).

Пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в плоскодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл и прибавляют 50 мл спирта 40%. Колбу закрывают и взвешивают с погрешностью ±0,01 г, затем присоединяют к обратному и нагревают на кипящей водяной бане в течении 30 минут. Колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и доводят массу колбы до первоначальной спиртом 40%. Извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр, экстракцию повторяют еще раз указанным выше способом. Объединенные извлечения повторно фильтруют через тот же фильтр (раствор А испытуемого раствора).

1 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 2% раствора алюминия хлорида в 96% спирте и 1 каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б измеряют через 45 мин. На спектрофотометре при длине волны 400 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, капли (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом 96% до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО лютеолин-7-гликозида. Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл раствора А СО лютеолин7-гликозида, добавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты раствора и доводят до метки спиртом 96%, перемешивают.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в абсолютно-сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times b_1 \times V_0 \times V'_0 \times (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора Б СО лютеолин-7-гликозида; а – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО лютеолин-7-гликозида, г; b_0 – объем аликвоты раствора А СО лютеолин-7-гликозида, взятого для разведения (1 мл); b^1 – объем аликвоты раствора А испытуемого раствора, взятого для разведения (1 мл); V_0 – объем раствора А СО лютеолин-7-гликозида (25 мл); $V^{/}_0$ – объем раствора Б стандартного образца (25 мл); V_1 – объем раствора А испытуемого раствора (100 мл); V_2 – объем раствора Б испытуемого раствора (25 мл); W – влажность сырья, %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (метод 1, экстрагент – спирт 40%)».

Эфирные масла. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 2, из навески 30,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, время перегонки – 4 ч.).

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

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

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента государственного контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники Минздрава России
_____ Ф.И.О.
«___» _____ _____ г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ
(Проект)

Полыни сантолинолистной трава_____ФС.2.5.0000.19
***Artemisiae santolinifoliae herba*_____Вводится впервые**

Срок введения установлен
с «___» _____ г.
до «___» _____ г.

Собранная в фазу цветения и высушенная надземная часть дикорастущего многолетнего травянистого растения полыни клейковатой – *Artemisia santolinifoliae* Turcz. ex Bess. сем. астровые – *Asteraceae.*

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Высушенная надземная часть растения, длиной до 50 см, состоит из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей. Цветоносный стебель прямостоячий, цилиндрический, слегка ребристый. Листья простые, ямчато-морщинистые, опушенные, листовая пластинка овальная, дважды перисторассеченная, нижние и средние на черешках с ушками. Соцветие кистевидное или узкометельчатое, корзинки шаровидные, 4–6 мм в диаметре, на коротких ножках. Плод – семянка. Цвет стеблей зеленовато-коричневый, листьев сверху темно-зеленый, снизу – серый, цветков – желтый. Запах ароматный, своеобразный, сильный, вкус водного извлечения пряно-горький.

Измельченное сырье. Смесь кусочков стеблей, листьев и цветков различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм. Цвет от зеленого, зелено-серого до коричнево-зеленого с желтыми вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкус водного извлечения пряно-горький.

Порошок. При рассмотрении сырья под лупой (10х) и стереомикроскопом (16х) видна смесь кусочков стеблей, листьев и цветков, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Цвет от зеленого, зелено-серого до коричнево-зеленого с желтыми вкраплениями. Запах сильный, ароматный, специфический. Вкус водного извлечения пряно-горький.

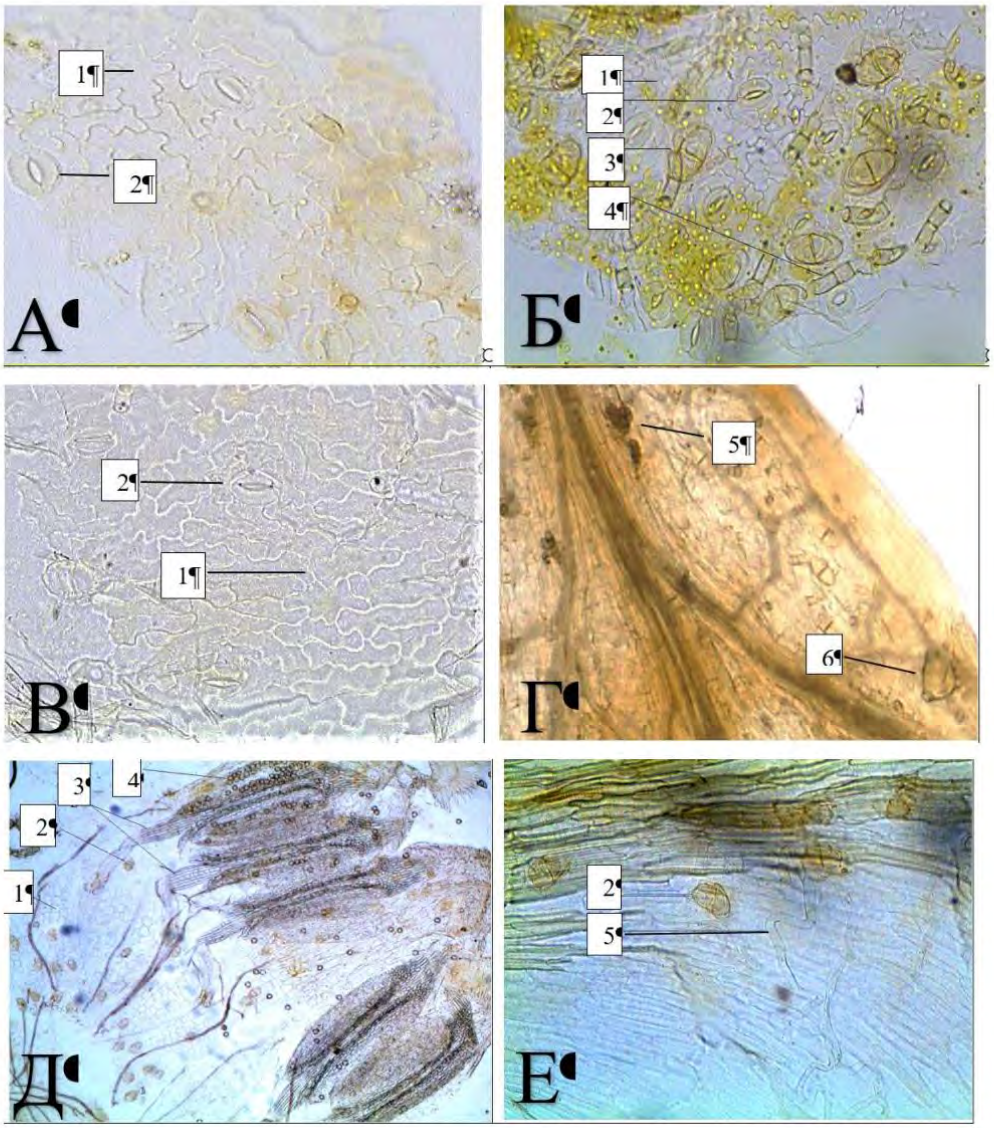
Микроскопические признаки. *Цельное сырье, измельченное сырье.*

При рассмотрении микропрепаратов с верхней стороны листовой пластинки видны клетки эпидермиса со слабоизвилистыми стенками. Клетки нижнего эпидермиса с сильноизвилистыми стенками. Устьичный аппарат аномоцитного типа (устьица окружены 3–5 околоустьичными клетками), представлен вытянутыми овальными, крупными устьицами. Устьица расположены преимущественно на нижней стороне листа. Листовая пластинка густо опушена простыми, многоклеточными, Т – образными волосками, чаще оборванными, состоящими из короткой 2-4-клеточной ножки, несущей длинную тонкостенную клетку с заостренными концами, прикрепленную к ножке посередине и лежащую горизонтально, присутствуют железистые и головчатые волоски. На обеих сторонах листа расположены крупные, овальные эфирномасличные железки с поперечной перегородкой, состоящие из 8 выделительных клеток, расположенных в 2 ряда и 4 яруса

Краевые цветки в корзинках пестичные, срединные – обоеполые. По краю цветка расположены 5 тычинок. Эпидермис цветков представлен клетками почти квадратной формы с прямыми стенками у основания завязи, постепенно удлиняющиеся в середине и извилистые к краю лепестка. Наблюдается многочисленное количество эфирномасличных

железок овальной формы, устьичный аппарат аномоцитного типа, устьица встречаются редко, также присутствуют бичевидные и железистые волоски, пыльца шаровидной формы.

Эпидермис на продольном срезе стебля состоит из прямостенных клеток. Устьица овальные, крупные аномоцитного устьичного типа. Эфирномасличные вместилища многочисленные, округлые. На поперечном срезе стебель многогранный, покрытый 1-слойным эпидермисом, состоящим из прямостенных, удлиненных клеток. По граням локализуются участки уголковой колленхимы. Проводящая система пучкового типа, пучки коллатеральные, открытые, представлены 2–3 рядами мелких клеток флоэмы и ближе к центру – ксилемы. Сердцевина стебля представлена крупными округлыми, рыхло-расположенными клетками сердцевинной паренхимы (рисунок 1).



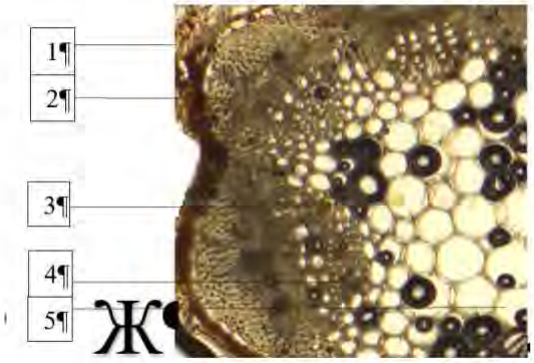


Рисунок 1 – Микроскопическое строение *Artemisia santolinifoliae herba* (ув. Х150): А, Б – нижняя сторона листа, В, Г – верхняя сторона листа: 1 – клетки эпидермиса, 2 – устьице, 3 – эфирномасличная железка, 4 – ножка Т-образного волоска, 5 – железистый волосок, 6 – головчатый волосок., Д, Е – эпидермис цветка: 1 – клетка эпидермиса; 2 – эфирномасличная железка; 3 – тычинка; 4. – пыльца, 6 – бичевидный волосок; Ж - поперечный срез стебля: 1 – эпидермис; 2 – колленхима; 3 – флоэма; 4 – ксилема; 5 – паренхима.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Обнаружение лютеолина методом ТСХ

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,01 г (точная навеска) рутина растворяют в 25 мл спирта 96%. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2,0 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл спирта 70%, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки ПТСХ-ПА-УФ «Sorbfil». со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×10 см в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм наносят 10 мкл испытуемого раствора и параллельно в одну полосу 5 мкл раствора СО рутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин смесью растворителей бутанол-уксусная кислота ледяная-вода (4:1:2) и хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт растворителей пройдет около 80-90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу и рассматривают в УФ-свете. После проявления хроматограммы алюминия хлорида

спиртовым раствором 5% зона флавоноидного характера приобретает желтый, желто-оранжевый цвет (рутин).

На хроматограмме испытуемого раствора после проявления – зона желто-оранжевого цвета на уровне зоны СО рутина (Rf=0,76±0,02); допускается обнаружение дополнительных зон.

Гистохимические реакции

При обработке плоскостных микропрепаратов листьев, стеблей, соцветий раствором Судана III и метиленовым синим эфирномасличные железки окрашиваются в оранжевый и синий цвет, соответственно.

Качественная реакция

2 г измельченного сырья экстрагируют 25 мл спирта 70% при нагревании с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 мин. Извлечение охлаждают, фильтруют. В две пробирки с одинаковым количеством извлечения (1 мл) прибавляют по 3 капли концентрированной хлористоводородной кислоты. Затем в одну из пробирок добавляют несколько крупинок металлического магния, обе пробирки нагревают на водяной бане до кипения и оставляют для охлаждения на 10 мин. О присутствии в извлечении флавоноидов свидетельствует появление красной окраски.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 10 %.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 10 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 1 %.

Измельченность сырья. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм – не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, % (не более 1%), частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм - не более 5%.

Посторонние примеси

Части, изменившие окраску (потемневшие и почерневшие). *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 1 %.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 1%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* – не более 1%.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок:* сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 2%; эфирного масла – не менее 0,6%; экстрактивных веществ, извлекаемых водой – не менее 20%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70% - не менее 28%.

Сумма флавоноидов.

Приготовление растворов

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,01 г (точная навеска) СО рутина, высушенного при температуре 100-105 0С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96%, нагревают на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО рутина). Срок годности раствора – 30 сут.

1,0 мл раствора А СО рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, 2 мл алюминия хлорида раствора 2% и доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО рутина).

Пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в плоскодонную колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл и прибавляют 50 мл спирта 70%. Колбу закрывают и взвешивают с погрешностью ±0,01 г, затем присоединяют к обратному и нагревают на кипящей водяной бане в течении 30 минут. После охлаждения до комнатной температуры, колбу вновь взвешивают и доводят до первоначальной массы спиртом 70%. Извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр, экстракцию повторяют еще раз указанным выше способом. Объединенные извлечения повторно фильтруют через тот же фильтр (раствор А испытуемого раствора).

1 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида раствора 2% и 1 каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, доводят объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б измеряют через 45 мин. На спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, капли (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом 96% до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина. Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл раствора А СО рутина, добавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты раствора и доводят до метки спиртом 96%, перемешивают.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутина в абсолютно-сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times b_1 \times V_0 \times V'_0 \times (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора Б СО рутина; а – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; b_0 – объем аликвоты раствора А СО рутина, взятого для разведения (1 мл); b^1 – объем аликвоты раствора А испытуемого раствора, взятого для разведения (1 мл); V_0 – объем раствора А СО рутина (25 мл); $V^/_0$ – объем раствора Б стандартного образца (25 мл); V_1 – объем раствора А испытуемого раствора (100 мл); V_2 – объем раствора Б испытуемого раствора (25 мл); W – влажность сырья, %.

Экстрактивные вещества. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (метод 1, экстрагент – спирт 70%)».

Эфирные масла. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 2, из навески 30,0 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, время перегонки – 4 ч.).

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

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

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО «Бурятский
государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.т.н., профессор
_____ Н.И. Мошкин
«02» 09 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ И СУШКЕ ПОЛЫНИ КЛЕЙКОВАТОЙ ТРАВЫ И ПОЛЫНИ САНТОЛИНОЛИСТНОЙ ТРАВЫ

Улан-Удэ
2020

Полынь клейковатая – *Artemisia subviscosa* Turcz. ex Bess., семейство Астровые (*Asteraceae*).

Описание растения: полукустарничек высотой 25-45 см. Нижняя часть стеблей многолетняя, одревесневшая, с черно-бурой корой. Однолетняя – покрыта прижатыми двухконечными и редко простыми волосками на фоне ямчатых железок. Иногда волоски единичны. Однолетние побеги двух родов: вегетативные – олиственные, укороченные и цветоносные. Нижние и средние стеблевые листья черешковые, 1.5-2.5 см дл. Дважды перисторассеченные, с ушками. Первичные доли в свою очередь тройчаторассеченные. Конечные доли линейные, 5-8(10) мм дл. И 0.4-0.8 мм шир. Корзинки почти шаровидные, 3-5 мм в диам., в узком кистевидно-метельчатом или кистевидном соцветии. Листочки обертки волосистые, ланцетные или продолговатые. Цветоложе волосистое. Краевые цветки пестичные в числе 10. Срединные цветки обоеполые в числе 20-22. Лопасти рыльца на верхушке реснитчатые. Семянки около 1 мм дл., продолговато-конические, плосковатые, бороздчатые.

A. subviscosa – эндемичный вид Прибайкалья, произрастает только в Баргузинской долине и на северо – западном побережье Байкала. Полынь клейковатая – степной ксерофит. Растет в степях, на солонцах, щебнистых и песчаных склонах.

Заготовка сырья, первичная обработка и сушка: заготавливать *A. subviscosae herba* следует в июле – августе. Цветущую траву срезают серпами или ножами близ поверхности почвы. На 1 м^2 оставляют для семенного возобновления не менее 10% растений. Собранное сырье укладывают в ящики или корзины и в течение 2-х часов доставляют к месту сушки.

Сушат *A. subviscosae herba* на свежем воздухе в тени (под навесами) либо в хорошо проветриваемом помещении, рассыпав слоем не толще 3—5 см. Возможна искусственная сушка при температуре 35-40°С. После сушки из сырья удаляют пожелтевшие, побуревшие и почерневшие части сырья, а также одревесневшие стебли и посторонние примеси.

Внешние признаки сырья: Сырье представляет собой смесь цельной или частично измельченной травы, листьев, цветков. Цельное сырье представляет собой надземную часть растения, длиной до 40 см., состоящую из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей. Цветоносный стебель прямостоячий, цилиндрический, слегка ребристый. Листья простые с округлой или яйцевидной формой листовой пластинки. Нижние и средние стеблевые листья черешковые, 1,5-2,5 см в длину дважды перисторассеченные, с ушками. Корзинки слегка продолговатые или шаровидные, диаметром 2-3,5 мм плод – семянка. Цвет стеблей зеленовато-серый, листьев сверху серовато-зеленый, снизу – серебристо-серый, цветков – желтый. Запах ароматный, своеобразный, сильный, вкус водного извлечения пряно-горький.

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

Хранение. Высушенное сырье хранят отдельно от других видов сырья в хорошо укупоренной таре. В сухом, защищенном от света месте.

Срок годности: 2 года.

Применение: Artemisiae subviscosae herba используется как противовоспалительное и антиоксидантное средство.

Полынь сантолинолистная – *Artemisia santolinifolia* Turcz. ex Bess., семейство Астровые (*Asteraceae*).

Описание растения: полукустарник высотой 12–45 см.с многолетнейразветвленной и раскидистой одревесневшейчастью стебля, с бурой корой, от которой отходят однолетние вегетативные и генеративные побеги. Листья ямчато-морщинистые, опушеные, нижние и средние на черешках с ушками, листовая пластинка овальная, дважды перисторассеченная, цвет листьев сверху темно-зеленый, снизу – серый.

Соцветие кистевидное или узкометельчатое. Корзинки шаровидные, 4–6 мм в диаметре, на коротких ножках. Плод – семянка

Встречается в Западной и Средней Сибири, на территории Республики Бурятия известно несколько местонахождений: в Баргузинском , Баунтовском, Тарбагатайском, Селенгинском; Хоринском, Окинском, изредка в Прибайкальском районах. За пределами России – Монголия, Средняя Азия. Произрастает на каменистых степях, расщелинах скал, осыпях, опушках травяных лиственничников, песчано-галечниковых отмелях долин горных рек.

Заготовка сырья, первичная обработка и сушка: Заготавливать *A. santolinifoliae herba* следует в июле – августе. Цветущую траву срезают серпами или ножами близ поверхности почвы. На 1 м^2 оставляют для семенного возобновления не менее 10% растений. Собранное сырье укладывают в ящики или корзины и в течение 2-х часов доставляют к месту сушки.

Сушат *A. santolinifoliae herba* на свежем воздухе в тени (под навесами) либо в хорошо проветриваемом помещении, рассыпав слоем не толще 3—5 см. Возможна искусственная сушка при температуре 35-40°С. После сушки из сырья удаляют пожелтевшие, побуревшие и почерневшие части сырья, а также одревесневшие стебли и посторонние примеси.

Внешние признаки сырья: Сырье представляет собой смесь цельной или частично измельченной травы, листьев, цветков. Надземная часть растения, длиной до 50 см., состоит из цельных или частично облиственных цветоносных стеблей. Цветоносный стебель прямостоячий, цилиндрический, слегка ребристый. Листья простые, ямчато-морщинистые, опушенные, листовая пластинка овальная, дважды перисторассеченная, нижние и средние на черешках с ушками. Соцветие кистевидное или узкометельчатое, корзинки шаровидные, 4–6 мм в диаметре, на коротких ножках. Плод – семянка. Цвет стеблей зеленовато-коричневый, листьев сверху темно-зеленый, снизу –

серый, цветков – желтый. Запах ароматный, своеобразный, сильный, вкус водного извлечения пряно-горький.

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

Хранение. Высушенное сырье хранят отдельно от других видов сырья в хорошо укупоренной таре. В сухом, защищенном от света месте.

Срок годности: 2 года.

Применение: Artemisiae santolinifoliae herba используется как противовоспалительное и антиоксидантное средство.

Инструкцию составили:

_____ С.З. Преловская

_____ д.х.н., проф. Л.Д. Раднаева

_____ к.фарм.н., Т.Э. Рандалова

Общий отдел
Правильность подписи Преловской С.З., Раднаевой Л.Д., Рандаловой Т.Э., вед. фармацевтов-провизоров Угрюмовой Л.Б.
"02" 09 2020г.

ОБЩИЙ ОТДЕЛ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента государственного контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники Минздрава России
_____ Ф.И.О.
«___» _____ _____ г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ
(Проект)

Полыни клейковатой настойка_____ФС.2.5.0000.19
***Artemisiae subviscosae herba*e tinctura_____Вводится впервые**

Срок введения установлен
с «___» _____ г.
до «___» _____ г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на полыни клейковатой травы настойку, получаемую из высушенной травы дикорастущего одно-, двулетнего травянистого растения полыни клейковатой – *Artemisia subviscosa* Turcz. ex Bess. сем. астровые – *Asteraceae.*

Для получения настойки используют:

Полыни клейковатой травы	– 200 г
Этанола (спирта этилового) 70%	– достаточное количество для получения 1000 мл.

СПЕЦИФИКАЦИЯ

ПОЛЫНИ КЛЕЙКОВАТОЙ ТРАВЫ НАСТОЙКА

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»

ПОКАЗАТЕЛИ	МЕТОДЫ	НОРМЫ
Описание	ГФ XIV, ОФС.1.4.1.0019.15	Прозрачная жидкость коричнево - зеленого цвета с характерным запахом, горького, слегка вяжущего вкуса.
Плотность	ГФ XIV, ОФС.1.2.1.2214.15	0,912
Хроматография	Тонкослойная	Наличие доминирующего пятна желто-оранжевого цвета, Rf – 0,76±0,02
Качественная реакция Флавоноиды	Цианидиновая проба	Красное окрашивание
Спирт этиловый	ГФ XIV, ОФС.1.2.1.0016.15	Не менее 55%
Метанол и 2-пропанол	ГФ XIV, ОФС.1.2.3.0024.18	Не более 0,05% и не более 0,05%
Сухой остаток	ГФ XIV, ОФС.1.4.1.0019.15	Не менее 0,8%
Тяжелые металлы	ГФ XIV, ОФС.1.5.3.0009.15	Не более 0,001%
Объем содержимого упаковки	ГФ XIV, ОФС.1.4.2.0007.15	В соответствии с требованиями ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»
Микробиологическая чистота	ГФ XIV, ОФС.1.2.4.0002.15	Категория 4Б
Сумма флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид	Спектрофотометрия	Не менее 1,0%
Упаковка	ГФ XIV, ОФС.1.1.0019.15	По 25 мл во флаконы из оранжевого стекла
Маркировка	ГФ XIV, ОФС.1.1.0019.15	В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование ЛРС и ЛРП»
Хранение	ГФ XIV, ОФС.1.1.0011.15	Хранят в защищенном от света месте при температуре 15˚ С

Описание. Прозрачная жидкость коричнево-зеленого цвета с характерным запахом, горького, слегка вяжущего вкуса.

Плотность. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

Подлинность.

Тонкослойная хроматография

Обнаружение лютеолин-7-гликозида методом ТСХ

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) лютеолин-7-гликозида. Около 0,01 г (точная навеска) лютеолин-7-гликозида растворяют в 25 мл спирта 96%. Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10×10 см в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм наносят 10 мкл настойки и параллельно в одну полосу по 5 мкл растворов СО лютеолин-7-гликозида. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин смесью растворителей бутанол – уксусная кислота ледяная – вода (4:1:2) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу и рассматривают в УФ-свете. После проявления хроматограммы алюминия хлорида спиртовым раствором 5% второй зоны окраска усиливается, и зона флавоноидного характера приобретает оранжевый цвет (лютеолин-7-гликозид). На хроматограмме испытуемого раствора после проявления образуется зона желто-оранжевого цвета на уровне зоны СО лютеолин-7-гликозида (Rf – 0,76±0,02); допускается обнаружение дополнительных зон.

Качественные реакции

В две пробирки с одинаковым количеством настойки (1 мл) прибавляют по 3 капли концентрированной хлористоводородной кислоты. Затем в одну из пробирок добавляют несколько крупинок металлического магния, обе пробирки нагревают на водяной бане до кипения и оставляют для охлаждения на 10 мин. О присутствии в извлечении флавоноидов свидетельствует появление красной окраски.

Спирт этиловый. Не менее 45%. В соответствии с ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

Метанол и 2-пропанол. Не более 0,05% метанола и не более 0,05% 2-пропанола. В соответствии с требованиями ОФС «Определение метанола и 2-пропанола» (контролируется в течение технологического процесса).

Сухой остаток. Не менее 0,6%. В соответствии с ОФС «Настойки».

Тяжелые металлы. Не более 0,001%. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Объем содержимого упаковки. В соответствии с требованиями ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в препарате должен быть не менее 1%.

Приготовление раствора стандартного образца(СО) лютеолин-7-гликозида: Около 0,01 г (точная навеска) СО лютеолин-7-гликозида, высушенного при температуре 100–105^{0}С до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 10 мл спирта 96%, нагревают на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждают, доводят объем спиртом 96% до метки и перемешивают (раствор А СО лютеолин-7-гликозида). Срок годности раствора – 30 сут.

1 мл раствора А СО лютеолин-7-гликозида помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, доводят до метки спиртом 96% и перемешивают (раствор Б СО лютеолин-7-гликозида).

2 мл настойки *A. subviscosae herba* помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом 70% (раствор А). 2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2% и доводят объем раствора до метки спиртом 70% (испытуемый раствор Б).

В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный при тех же условиях, но без добавления алюминия хлорида (раствор сравнения Б). Измерение оптической плотности проводят на спектрофотометре при длине волны 400 нм в кювете толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора СО лютеолин-7-гликозида.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид (Х) в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100}{A_0 \times b_1 \times b_2 \times V_0 \times V'_0},$$ где

где А – оптическая плотность настойки ; A_0 - оптическая плотность СО лютеолина-7-гликозида; a_0 – навеска СО лютеолин-7-гликозида, г; V_0 – объем раствора А СО лютеолин-7-гликозида; b_0 – объем аликвоты раствора А СО лютеолин-7-гликозида, взятого для разведения (1 мл); V'_0 – объем раствора Б СО лютеолин-7-гликозида (25 мл); b_1

– объем аликвоты настойки, взятой для разведения, мл (2 мл); V_1 – объем разведенной настойки, мл (25 мл); b_2 – объем раствора А настойки, взятого для разведения (2 мл); V_2 – объем раствора Б настойки, мл (25 мл).

Упаковка, маркировка. По 25 млм во флавоны из оранжевого стекла. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В защищенном от света месте при температуре 15˚С. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента государственного контроля качества, эффективности, безопасности лекарственных средств и медицинской техники Минздрава России
_____ Ф.И.О.
«___» _____ _____ г.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ
(Проект)

Полыни сантолинолистной настойка_____ФС.2.5.0000.19
***Artemisiae santolinifoliae herba*e tinctura_____Вводится впервые**

Срок введения установлен
с «___» _____ г.
до «___» _____ г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на полыни сантолинолистной травы настойку, получаемую из высушенной травы дикорастущего одно-, двулетнего травянистого растения полыни сантолинолистной – *Artemisia santolinifolia* Turcz. ex Bess. *сем. астровые – Asteraceae.*

Для получения настойки используют:

Полыни сантолинолистной травы	– 200 г
Этанола (спирта этилового) 60%	– достаточное количество для получения 1000 мл.

СПЕЦИФИКАЦИЯ

ПОЛЫНИ САНТОЛИНОЛИСТНОЙ ТРАВЫ НАСТОЙКА

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»

ПОКАЗАТЕЛИ	МЕТОДЫ	НОРМЫ
Описание	ГФ XIV, ОФС.1.4.1.0019.15	Прозрачная жидкость желто - коричнево - зеленого цвета с характерным запахом, горького, слегка вяжущего вкуса.
Плотность	ГФ XIV, ОФС.1.2.1.2214.15	0,922
Хроматография	Тонкослойная	Наличие доминирующего пятна желто-оранжевого цвета, Rf – 0,70±0,02
Качественная реакция Флавоноиды	Цианидиновая проба	Красное окрашивание
Спирт этиловый	ГФ XIV, ОФС.1.2.1.0016.15	Не менее 50%
Метанол и 2-пропанол	ГФ XIV, ОФС.1.2.3.0024.18	Не более 0,05% и не более 0,05%
Сухой остаток	ГФ XIV, ОФС.1.4.1.0019.15	Не менее 0,6%
Тяжелые металлы	ГФ XIV, ОФС.1.5.3.0009.15	Не более 0,001%
Объем содержимого упаковки	ГФ XIV, ОФС.1.4.2.0007.15	В соответствии с требованиями ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»
Микробиологическая чистота	ГФ XIV, ОФС.1.2.4.0002.15	Категория 4Б
Сумма флавоноидов в пересчете на рутин	Спектрофотометрия	Не менее 1,5%
Упаковка	ГФ XIV, ОФС.1.1.0019.15	По 25 мл во флаконы из оранжевого стекла
Маркировка	ГФ XIV, ОФС.1.1.0019.15	В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование ЛРС и ЛРП»
Хранение	ГФ XIV, ОФС.1.1.0011.15	Хранят в защищенном от света месте при температуре 15˚ С

Описание. Прозрачная жидкость коричнево-зеленого цвета с характерным запахом, горького, слегка вяжущего вкуса.

Плотность. В соответствии с требованиями ОФС «Плотность».

Подлинность.

Тонкослойная хроматография

Обнаружение рутина методом ТСХ

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,01 г (точная навеска) рутина растворяют в 25 мл спирта 96%. Срок годности раствора не более 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10х10 см в виде полос длиной 10 мм, шириной не более 3 мм наносят 10 мкл настойки и параллельно в одну полосу по 5 мкл растворов СО рутина. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 5 мин, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 30 мин смесью растворителей бутанол – уксусная кислота ледяная – вода (4:1:2) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80-90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей в вытяжном шкафу и рассматривают в УФ-свете. После проявления хроматограммы алюминия хлорида спиртовым раствором 5% второй зоны окраска усиливается, и зона флавоноидного характера приобретает желтый, оранжевый цвет (рутин). На хроматограмме испытуемого раствора после проявления образуется зона желто-оранжевого цвета на уровне зоны СО рутина (Rf – 0,70±0,02); допускается обнаружение дополнительных зон.

Качественные реакции

В две пробирки с одинаковым количеством настойки (1 мл) прибавляют по 3 капли концентрированной хлористоводородной кислоты. Затем в одну из пробирок добавляют несколько крупинок металлического магния, обе пробирки нагревают на водяной бане до кипения и оставляют для охлаждения на 10 мин. О присутствии в извлечении флавоноидов свидетельствует появление красной окраски.

Спирт этиловый. Не менее 45%. В соответствии с ОФС «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

Метанол и 2-пропанол. Не более 0,05% метанола и не более 0,05% 2-пропанола. В соответствии с требованиями ОФС «Определение метанола и 2-пропанола» (контролируется в течение технологического процесса).

Сухой остаток. Не менее 0,6%. В соответствии с ОФС «Настойки».

Тяжелые металлы. Не более 0,001%. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Объем содержимого упаковки. В соответствии с требованиями ОФС «Масса (объем) содержимого упаковки»

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в препарате должен быть не менее 1 %.

Приготовление раствора стандартного образца (СО) рутина. Около 0,01 г (точная навеска) СО рутина, высушенного при температуре 100–105 ^{0}С до постоянной массы, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл спирта 96%, нагревали на водяной бане до полного растворения кристаллов, охлаждали, доводили объем спиртом 96% до метки и перемешивали (раствор А СО рутина). Срок годности раствора – 30 сут.

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 5 мл настойки и доводили объем раствора до метки спиртом 70% (раствор А испытуемого раствора). 1 мл раствора А испытуемого раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида раствора 2% и 1 каплю (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, довели объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивали (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б измеряют через 45 мин. На спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, капли (50 мкл) уксусной кислоты разведенной, помещенный в мерную колбу вместимостью 25 мл и доведенный спиртом 96% до метки.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина. Для приготовления раствора сравнения в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл раствора А СО рутина, добавляют каплю (50 мкл) уксусной кислоты раствора и доводят до метки спиртом 96%, перемешивают.

Содержание суммы флавоноидов в настойке, в процентах в пересчете на рутин в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times V_1 \times V_2 \times b_0 \times 100}{A_0 \times b_1 \times b_2 \times V_0 \times V'_0},$$

где А – оптическая плотность настойки; A_0 – оптическая плотность СО рутина; a_0 – навеска СО рутина, г; V_0 – объем раствора А СО рутина; b_0 – объем аликвоты раствора А

СО рутина, взятого для разведения (1 мл); $V^{/}_{0}$ – объем раствора Б СО рутина (25 мл); b_1 – объем аликвоты настойки, взятой для разведения, мл (5 мл); V_1 – объем разведенной настойки, мл (25 мл); b_2 – объем раствора А настойки, взятого для разведения (1 мл); V_2 – объем раствора Б настойки, мл (25 мл); W – влажность сырья, %.

Упаковка, маркировка. По 25 млм во флавоны из оранжевого стекла. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В защищенном от света месте при температуре 15˚С. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Установление срока годности полыни клейковатой травы

Результаты анализа образцов *A. subviscosae herba* в процессе хранения

№ серии	Срок хранения	Описание	Содержание эфирного масла	Содержание суммы флавоноидов	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой	Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым	Влажность	Зола общая	Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7	Части, изменившие окраску (потемневшие и почерневшие	Органическая примесь	Минеральная примесь
1	сх	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв.
	6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 год	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 г 6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 года	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г 6 мес	Соотв	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Не соотв	Соотв.	Соотв.
2	Исх.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 год	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 г 6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 года	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г 6 мес	Соотв	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Не соотв	Соотв.	Соотв.
3	Исх.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 год	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 г 6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г 6 мес	Соотв	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Не соотв	Соотв.	Соот

Установление срока годности полыни сантолинолистной травы

Результаты анализа образцов *A. santolinifoliae herba* в процессе хранения

№ серии	Срок хранения	Описание	Содержание эфирного масла	Содержание суммы флавоноидов	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой	Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 50%	Влажность	Зола общая	Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм	Части, изменившие окраску (потемневшие и почерневшие	Органическая примесь	Минеральная примесь
1	сх	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв	Соотв.
	6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 год	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 г 6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 года	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г 6 мес	Соотв	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Не соотв	Соотв.	Соотв.
2	Исх.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 год	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 г 6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 года	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г 6 мес	Соотв	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Не соотв	Соотв.	Соотв.
3	Исх.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 год	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	1 г 6 мес	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
	2 г 6 мес	Соотв	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Не соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Не соотв	Соотв.	Соот

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия»

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР

Юридический адрес: 670047, Республика Бурятия,
г. Улан-Удэ, ул. Спартака, дом № 5,
тел/факс (3012) 41-65-76, 43-70-15
e-mail: cgebur@mail.ru
ИНН 0323121958, КПП 032301001
Фактический адрес:
670047, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Спартака, дом № 5
670047, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Спартака, дом № 1
670013, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, дом № 45 «б»
Уникальный номер записи об аккредитации в реестре аккредитованных лиц № RA.RU.516360

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ИЛЦ/Заместитель
Болошинова Н.П.
(подпись) (ФИО)
М.П.

ПРОТОКОЛ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ
№ 3805 от 25 февраля 2020 г.

1. Наименование предприятия, организации (заявитель): Рандалова Туяна Эрдэмовна

2. Адрес заявителя: Республика Бурятия, г.Улан-Удэ, ул. Испытательная, д. 50

3. Наименование образца (пробы), дата изготовления: Полынь сантолинолистная; дата изготовления: Август 2017 г

4. Изготовитель (фирма, предприятие, организация): -
страна: -

5. Место отбора: Трава полынь, Республика Бурятия, Окинский район, Скальный останец Тамгата

6. Условия отбора, доставки
Дата и время отбора: отбор произведен заказчиком
Ф.И.О., должность: отбор проб произведен заказчиком
Условия доставки: автотранспортом в термоконтейнере с хладоэлементами
Дата и время доставки в ИЛЦ: 18.02.2020 15:00

7. Дополнительные сведения:
Цель исследований, основание: (20) Санитарно-эпидемиологическая экспертиза по заявкам, договор № 47/ЛСЦ от 17.02.2020г; Заявление(заявка) № 274 от 17.02.2020г

8. НД на продукцию: -

9. НД, регламентирующие объем лабораторных испытаний и их оценку:
Государственная фармакопея "Государственная фармакопея"

10. Год, код образца (пробы), индекс: 20.3805 .1

11. Условия проведения испытаний: Условия проведения испытаний соответствуют нормативным требованиям

Ф.И.О., лица, ответственного за оформление протокола:

Гармаева Л. В.

помощник санитарного врача Отдела по работе с заказчиком ИЛЦ

Настоящий протокол не может быть частично воспроизведен без письменного разрешения ИЛЦ

Результаты испытаний

№№ п/п	Определяемые показатели	Единицы измерения	Результаты испытаний	Величина допустимого уровня	НД на методы исследований
НЕОПРЕДЕЛЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ Образец поступил 18.02.2020 15:30 Год, код образца (пробы): 20. 3805 дата начала испытаний 18.02.2020 15:30 дата выдачи результата 21.02.2020					
1	Удельная активность стронция-90	Бк/кг	менее 11,1	не более 200	МУК 2.6.1.1194-03
2	Удельная активность цезия-137	Бк/кг	менее 7,6	не более 400	МУК 2.6.1.1194-03
ФИО проводившего исследования: Гороховская Е. М., эксперт-химик лаборатории ионизирующих и неионизирующих излучений					

Настоящий протокол не может быть частично воспроизведен без письменного разрешения ИЛЦ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия»

ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ ЦЕНТР

Юридический адрес: 670047, Республика Бурятия,
г. Улан-Удэ, ул. Спартака, дом № 5,
тел/факс (3012) 41-65-76, 43-70-15
e-mail: cgeburr@mail.ru
ИНН 0323121958, КПП 032301001
Фактический адрес:
670047, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Спартака, дом № 5
670047, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Спартака, дом № 1
670013, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, дом № 45 «б»
Уникальный номер записи об аккредитации в реестре аккредитованных лиц № RA.RU.516360

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ИЛЦ/Заместитель
Болошинова Н.П.
(подпись) (ФИО)
М.П.

ПРОТОКОЛ
ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ
№ 3802 от 25 февраля 2020 г.

1. Наименование предприятия, организации (заявитель): Рандалова Туяна Эрдэмовна

2. Адрес заявителя: Республика Бурятия, г.Улан-Удэ, ул. Испытательная, д. 50

3. Наименование образца (пробы), дата изготовления: Полынь клейковатая; дата изготовления: Август 2017 г

4. Изготовитель (фирма, предприятие, организация): -
страна: -

5. Место отбора: Трава полынь, Республика Бурятия, Баргузинский район, с. Улюн

6. Условия отбора, доставки
Дата и время отбора: отбор произведен заказчиком
Ф.И.О., должность: отбор проб произведен заказчиком
Условия доставки: автотранспортом в термоконтейнере с хладоэлементами
Дата и время доставки в ИЛЦ: 18.02.2020 15:00

7. Дополнительные сведения:
Цель исследований, основание: (20) Санитарно-эпидемиологическая экспертиза по заявкам, договор № 47/ЛСЦ от 17.02.2020г; Заявление(заявка) № 274 от 17.02.2020г

8. НД на продукцию: -

9. НД, регламентирующие объем лабораторных испытаний и их оценку:
Государственная фармакопея "Государственная фармакопея"

10. Год, код образца (пробы), индекс: 20.3802 .1

11. Условия проведения испытаний: Условия проведения испытаний соответствуют нормативным требованиям

Ф.И.О., лица, ответственного за оформление протокола:

Гармаева Л. В.

помощник санитарного врача Отдела по работе с заказчиком ИЛЦ

Настоящий протокол не может быть частично воспроизведен без письменного разрешения ИЛЦ

Результаты испытаний

№№ п/п	Определяемые показатели	Единицы измерения	Результаты испытаний	Величина допустимого уровня	НД на методы исследований
НЕОПРЕДЕЛЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ Образец поступил 18.02.2020 15:30 Год, код образца (пробы): 20. 3802 дата начала испытаний 18.02.2020 15:30 дата выдачи результата 21.02.2020					
1	Удельная активность стронция-90	Бк/кг	менее 5,5	не более 200	МУК 2.6.1.1194-03
2	Удельная активность цезия-137	Бк/кг	менее 12,3	не более 400	МУК 2.6.1.1194-03
ФИО проводившего исследования: Гороховская Е. М., эксперт-химик лаборатории ионизирующих и неионизирующих излучений					

Настоящий протокол не может быть частично воспроизведен без письменного разрешения ИЛЦ

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО «Бурятский
государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.т.н., профессор
_____ Н.И. Мошкин
«02» 05 2020 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

(разработки, рекомендации, материалов)

Наименование разработки:

- микроскопические признаки лекарственного растительного сырья *Artemisiae subviscosae herba*;
- методика получения эфирного масла *Artemisiae subviscosae herba*;
- методика определения количественного содержания суммы флавоноидов в *Artemisiae subviscosae herba*.

Авторы: Преловская С.З., Раднаева Л.Д., Рандалова Т.Э.

Используетя в учебном процессе на кафедре фармации Медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова».

В виде (как используется): как метод контроля качества лекарственного растительного сырья (*Artemisiae subviscosae herba*) на практических занятиях по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия».

«02» 05 2020 г.

Зав. каф. фармации
медицинского института ФГБОУ ВО
«Бурятский государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.х.н., профессор
_____ Л.Д. Раднаева

Общий отдел
Правильность подписи Раднаевой Л.Д.
вед. документовед заверяю
Цыренова Б.Б.
«02» 09 2020 г.

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»
д.т.н., профессор
_____ Н.И. Мошкин
«02» 09 2020 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

(разработки, рекомендации, материалов)

Наименование разработки:

- микроскопические признаки лекарственного растительного сырья *Artemisiae santolinifoliae herba*;
- методика получения эфирного масла *Artemisiae santolinifoliae herba*;
- методика определения количественного содержания суммы флавоноидов в *Artemisiae santolinifoliae herba*.

Авторы: Преловская С.З., Раднаева Л.Д., Рандалова Т.Э.

Используетя в учебном процессе на кафедре фармации Медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова».

В виде (как используется): как метод контроля качества лекарственного растительного сырья (*Artemisiae santolinifoliae herba*) на практических занятиях по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия»

«02» 09 2020 г.

Зав. каф. фармации
медицинского института ФГБОУ ВО
«Бурятский государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.х.н., профессор
_____ Л.Д. Раднаева

Общий отдел
Правильность подписи Раднаевой Л.Д.
заверяю
вед. документовед
Цоренова Т.Б.
"02" 09 2020 г.

ОБЩИЙ ОТДЕЛ

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО «Бурятский
государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.т.н., профессор
_____ Н.И. Мошкин
«02» 09 2020 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

(разработки, рекомендации, материалов)

Наименование разработки:

- разработка состава и технология получения *Artemisiae subviscosae herba tinctura* (полыни клейковатой настойки):

Авторы: Преловская С.З., Раднаева Л.Д., Рандалова Т.Э.

Используетя в учебном процессе на кафедре фармации Медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова».

В виде (как используется): как изучение способа получения жидких лекарственных форм на практических занятиях по дисциплинам «Фармацевтическая технология»

«02» 09 2020 г.

Зав. каф. фармации
медицинского института ФГБОУ ВО
«Бурятский государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.х.н., профессор
_____ Л.Д. Раднаева

Общий отдел
Правильность подписи Агдамовой Л.Д.
вед. документовед заверяю
02 09 2020 г.

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО «Бурятский
государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.т.н., профессор
_____ Н.И. Мошкин
«02» 09 2020 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

(разработки, рекомендации, материалов)

Наименование разработки:

- разработка состава и технология получения *Artemisiae santolinifoliae herba tinctura* (полыни сантолинолистной настойки);

Авторы: Преловская С.З., Раднаева Л.Д., Рандалова Т.Э.

Используетя в учебном процессе на кафедре фармации Медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова».

В виде (как используется): как изучение способа получения жидких лекарственных форм на практических занятиях по дисциплинам «Фармацевтическая технология»

«02» 09 2020 г.

Зав. каф. фармации
медицинского института ФГБОУ ВО
«Бурятский государственный университет
имени Доржи Банзарова»
д.х.н., профессор _____ Л.Д. Раднаева

Общий отдел
Правильность подписи Раднаевой Л.Д.
заверяю
вед. документовед Ипренова А.Б.
«02» 09 2020 г.

ОБЩИЙ ОТДЕЛ