

На правах рукописи



**Сулоев
Иван Сергеевич**

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВЫ ЗОЛОТАРНИКА
КАНАДСКОГО (*SOLIDAGO CANADENSIS* L.) КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО
ИСТОЧНИКА ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРОГНОЗИРУЕМОЙ
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Санкт-Петербург

2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Лужанин Владимир Геннадьевич кандидат биологических наук, доцент

Официальные оппоненты:

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

Марахова Анна Игоревна доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, профессор института биохимической технологии и нанотехнологии

Ведущая организация:

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

Защита состоится «30» мая 2023 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.063.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197227, г. Санкт-Петербург, пр. Испытателей, д.14) и на сайте организации (<https://sites.google.com/a/pharminnotech.com/dissovet>).

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.063.01,
кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время одно из ключевых мест в экономическом сегменте большинства стран принадлежит фармацевтической отрасли. Постоянный рост темпов развития науки и потребность в эффективных и безопасных лекарственных препаратах вынуждает учёных заниматься поиском и разработкой новых субстанций, отвечающих этим требованиям. При этом часто предпочтение отдаётся лекарственному растительному сырью как источнику тех субстанций, которые обладают рядом конкурентных преимуществ: комплексностью фармакологического действия, сравнительно низкой токсичностью, возможностью длительного применения. Большая ресурсная база на территории России в совокупности с накопленным объёмом знаний в области фармакогнозии, фитотерапии и этнофармакологии позволяет отечественным учёным динамично развивать фармацевтическую отрасль. В связи с этим изучение лекарственного растительного сырья по-прежнему остается актуальной задачей для современной фармацевтической науки.

Препараты на основе растительного сырья, обладающие комплексным антибактериальным, диуретическим, литолитическим и противовоспалительным действием, играют важную роль в терапии мочекаменной болезни. Подобные фармакологические эффекты в совокупности часто встречаются у представителей семейства Астровые (*Asteraceae* L.), и одним из перспективных представителей этого семейства является род Золотарник (*Solidago* L.).

Наиболее известным видом рода Золотарник является золотарник канадский (*Solidago canadensis* L.). Это растение имеет широкий ареал обитания, многокомпонентный химический состав (более 150 соединений) и активно используется в медицине. Экстракты и настои, полученные из травы золотарника канадского, входят в ряд комплексных препаратов, таких как «Марелин» (Украина) и «Фитолизин» (Польша), применяемые для лечения фосфатного и оксалатного нефроуролитиаза, пиелонефрита, а также при профилактике рецидивов после самостоятельного отхождения почечных камней или их оперативного удаления, и «Простанорм» (Российская Федерация), рекомендованного в качестве средства с противовоспалительным эффектом для нормализации диуреза и лечения хронического неспецифического простатита у взрослых.

С учётом возможностей современных физико-химических методов анализа (ВЭЖХ, ГХ, масс-спектрометрия, ЯМР-спектроскопия, препаративная ВЭЖХ) представляется актуальным углублённое изучение компонентного состава биологически активных веществ травы *Solidago canadensis*, проведение фармакогностического анализа с установлением диагностических показателей качества используемого сырья, а также выделение индивидуальных веществ из экстракта *Solidago canadensis* в чистом виде как потенциальных лекарственных молекул с прогнозируемой фармакологической активностью.

Степень разработанности темы исследования. *Solidago canadensis* ранее подвергался фармакогностическому изучению. Сведения о контроле качества для травы *Solidago canadensis* представлены в Европейской и Британской травяной фармакопеех. В СССР была разработана фармакопейная статья ФС 42-2777-91 «Трава

золотарника канадского (*Herba Solidaginis canadensis*)», однако на настоящий момент данный документ во многом утратил свою актуальность и нуждается в переработке и дополнениях в соответствии с современными требованиями к нормативной документации на официальное лекарственное растительное сырьё. Кроме того, современные физико-химические методы анализа позволяют актуализировать данные по фитохимическому составу указанного сырья, а также рассмотреть индивидуальные вещества в качестве потенциальных лекарственных кандидатов.

Цель диссертационной работы. Целью работы является проведение фармакогностического анализа травы *Solidago canadensis* с применением современных физико-химических методов, а также стандартизация и обоснование перспективы использования травы *Solidago canadensis* в качестве источника индивидуальных соединений с потенциальной фармакологической активностью.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1) Провести анализ современных литературных данных о химическом составе *Solidago canadensis*;

2) Выделить индивидуальные вещества из травы *Solidago canadensis* методом препаративной ВЭЖХ и установить их химическую структуру методами ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения;

3) Разработать методику количественного определения основной группы биологически активных веществ (флавоноидов) в траве *Solidago canadensis* и определить их содержание в различных органах с целью установления оптимальных параметров сырья для заготовки;

4) Провести морфологическое и анатомо-диагностическое изучение травы *Solidago canadensis*. На основании полученных данных актуализировать требования к качеству сырья *Solidaginis canadensis herba*;

5) Провести изучение диуретической активности экстракта *Solidago canadensis* и отдельных фитокомпонентов *in vivo*, а также осуществить прогноз вероятного спектра фармакологической активности выделенных индивидуальных веществ *in silico*.

Научная новизна исследования. Уточнена схема и разработана методика выделения индивидуальных соединений из травы *Solidago canadensis*. Впервые из травы *Solidago canadensis* методом препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии выделены в чистом виде кверцетин, рутин, кверцетин-3-O- β -D-6''-ацетилглюкопиранозид и нарциссин. Актуализирована и экспериментально обоснована методика количественного определения суммы флавоноидов в траве *Solidago canadensis*, а также впервые изучено распределение флавоноидов в различных органах надземной части растения. Уточнено и дополнено морфологическое описание для отдельных органов и частей золотарника канадского (лист, стебель, трубчатый цветок, ложноязычковый цветок), а также уточнены микроскопические диагностические признаки указанного сырья. Впервые был проведён сравнительный эксперимент по исследованию диуретической активности экстракта травы *Solidago canadensis* и его двух основных компонентов – рутина и кверцетина. Впервые выполнен компьютерный прогноз вероятного спектра фармакологической активности отдельных индивидуальных веществ, выделенных из травы *Solidago canadensis*.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы.

Усовершенствованная методика количественного определения суммы флавоноидов, установленные параметры сырья для заготовки и диагностические микроскопические признаки сырья будут использованы для внесения дополнений в проект ФС «Золотарника канадского трава – *Solidaginis canadensis herba*».

Изучены теоретические основы выделения индивидуальных фенольных соединений, уточнённая методика выделения индивидуальных веществ из травы *Solidago canadensis* позволяет существенно снизить потери выделяемых компонентов за счёт уменьшения количества стадий процесса выделения и может стать основой для создания промышленных регламентов получения фармацевтических субстанций из растительного сырья. Результаты исследования по выделению индивидуальных соединений из указанного сырья и изучению их фармакологической активности методами *in vivo* и *in silico* позволяют рассматривать выделенные фитоконпоненты в качестве потенциальных лекарственных кандидатов.

Методика выделения индивидуальных соединений растительного происхождения – потенциальных фармакологических субстанций, относящихся к классам флавоноидов (производных кверцетина) внедрена в учебный (акт от 01 декабря 2022 г.) и научно-исследовательский процесс ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (акт от 02 декабря 2022 г.), также в производство АО «Фармпроект» (акт от 28 ноября 2022 г.).

Методология и методы исследования

Исследование проводилось в период с 2016 по 2021 гг. с использованием современных физико-химических методов анализа: ВЭТСХ, ВЭЖХ-УФ, препаративная ВЭЖХ, ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия высокого разрешения. Также использовались методы световой и сканирующей электронной микроскопии, УФ-спектрофотометрии, методы прогнозирования и изучения фармакологической активности *in silico* и *in vivo*. Теоретическую основу исследования составляли труды зарубежных и отечественных учёных по фитохимическому анализу вторичных метаболитов травы *Solidago canadensis*. Методология исследования заключалась в выделении индивидуальных веществ из травы *Solidago canadensis* и установлении их химической структуры, фитохимическом, анатомо-морфологическом, фармакологическом исследовании и стандартизации лекарственного растительного сырья.

Основные положения, выносимые на защиту.

- 1) Результаты фармакогностического анализа травы *Solidago canadensis*;
- 2) Методика выделения индивидуальных фенольных соединений из травы *Solidago canadensis* с применением метода препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии;
- 3) Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве *Solidago canadensis* и её валидация;
- 4) Результаты сравнительного изучения диуретической активности экстракта травы *Solidago canadensis* и её основных фитоконпонентов;
- 5) Данные компьютерного прогноза вероятного спектра фармакологической активности отдельных фитоконпонентов травы *Solidago canadensis*.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных результатов обусловлена соответствием используемых методов поставленным задачам с учётом особенностей изучаемого объекта, воспроизводимостью полученных результатов и применением методов статистической обработки данных.

Основные положения работы изложены на следующих конференциях:

1) Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, СПХФА, 2017-2019 гг);

2) Международный конгресс «Фитофарм» (Грац (Австрия) 2017), (Хорген (Швейцария) 2018), (Санкт-Петербург (Россия) 2019);

3) Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Инновации в здоровье нации» (Санкт-Петербург, СПХФА, 2017);

4) IV Российско-Финский симпозиум «Опыт сотрудничества ВУЗов и фармацевтических компаний по созданию новых лекарственных препаратов» (Санкт-Петербург, 2017);

5) V Российско-Финский симпозиум «Технологии будущего и основные направления создания новых лекарственных препаратов» (Турку (Финляндия), 2018);

6) IV Международная научно-методическая конференция «Гаммермановские чтения» (Санкт-Петербург, СПХФУ, 2019).

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов. Работа представляет собой самостоятельный научный труд автора и включает его исследования за период с 2016 по 2021 годы.

Во всех работах, выполненных в соавторстве, вклад автора выражается участием в сборе, определении и паспортизации сырья, постановке и выполнении экспериментальных опытов по выделению и идентификации природных соединений физико-химическими и хроматографическими методами, проведению товароведческих, микроскопических исследований, а также обобщении и систематизации полученных результатов.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 12 научных работ, включая 1 статью в журнале Scopus, 1 статью в журнале Web of Science и 2 статьи в журналах перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения работы соответствуют паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно пункту 6 – изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства

здравоохранения Российской Федерации, в рамках тематики государственного задания «Разработка методологической концепции контроля качества лекарственных средств и субстанций природного происхождения с использованием инновационных аналитических методов» (регистрационный номер АААА-А20-120121790032-2 от 17.12.2020 г.).

Структура и объем научно-квалификационной работы. Работа изложена на 136 страницах машинописного текста, иллюстрирована 39 рисунками и 30 таблицами. Диссертационная работа состоит из введения, 8 глав (обзор литературы, материалы и методы и 6 глав, содержащих результаты экспериментальных исследований), заключения, приложения, списка сокращений и списка литературы, включающего 93 источника, из них 51 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы приведена информация об объекте исследования – золотарнике канадском (*Solidago canadensis*), его распространении и местообитании, морфологических особенностях, данные о химическом составе, фармакологической активности и применении в официальной и народной медицине. По результатам изучения литературных данных был сделан вывод об актуальности фитохимического изучения травы *S. canadensis* с использованием современных физико-химических методов анализа и перспективности оценки фармакологического потенциала входящих в его состав молекул – потенциальных лекарственных кандидатов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были образцы травы *S. canadensis*, собранные с 2013 по 2019 гг. в питомнике лекарственных растений СПХФУ (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км), а также один образец, собранный в окрестностях города Прага в Чехии в 2017 г. (таблица 1). Сбор сырья проводился в период окончания цветения.

Для целей микроскопии из образцов травы *S. canadensis* были отобраны листовые пластинки, стебли и цветки. Каждая часть сырья исследовалась отдельно.

Для получения экстракта воздушно-сухое сырье измельчали на электрорезке ТУ 37-53 тип 622-1-М и просеивали через сита по ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ». Для целей анализа использовали сита с отверстиями диаметром 0,5; 1; 2; 3 и 5 мм.

Таблица 1. Сведения об исследуемых образцах сырья

Объект исследования	Место сбора	№ образца	Время сбора сырья
Трава <i>S. canadensis</i>	Россия, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Лемболово	I	Июль 2013
	Россия, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Лемболово	II	Июль 2016

	Чехия, окрестности г. Прага	III	Август 2017
	Россия, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Лемболово)	IV	Август 2018

При проведении товароведческого анализа были определены показатели качества сырья согласно методикам общих фармакопейных статей Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания.

Поиск основных групп вторичных метаболитов в экстракте *S. canadensis* был проведён с использованием групповых качественных реакций, а также методов бумажной и тонкослойной хроматографии. Для проведения бумажной хроматографии использовалась хроматографическая бумага «Filtrak» марок FN-1, FN-4. Для анализа методом тонкослойной хроматографии использовались хроматографические пластины марок «Sorbfil» (ПТСХ–П–В–УФ) и «Sorbfil» (ТСХ-АФ-В). Хроматографические камеры для бумажной хроматографии предварительно насыщали парами растворителей в течение 12–16 часов. Хроматографирование осуществляли восходящим способом в герметично закрытой камере сначала в системе БУВ (4:1:2) (I направление), а затем в другой камере с системой 15% уксусная кислота (II направление).

Для выделения индивидуальных соединений траву *S. canadensis* экстрагировали методом мацерации в 80% этиловом спирте. С полученным суммарным извлечением проводили многократную жидкость-жидкостную экстракцию растворителями различной полярности (гексан, дихлорметан, бутанол). Также на наличие фенольных соединений исследовался водный остаток, полученный после выделения из первичного экстракта ЖЖ-экстракцией вторичных метаболитов гексаном, дихлорметаном и бутанолом.

Предварительный фитохимический анализ фенольных соединений проводился методами высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). ВЭТСХ осуществлялась на приборе Camag, оснащённом аппликатором Linomat 5, сканером TLC Scanner 3, визуализатором TLC Visualizer 2 и автоматической камерой для проявления ADC 2 с использованием высокоэффективных пластинок HPTLC Silica gel 60 60 F₂₅₄, 20 x 10. ВЭЖХ проводилась на приборе Prominence фирмы Shimadzu серии LC-20, оснащённом автосамплером SIL-20A, термостатом CTO-20AC и диодно-матричным детектором SPD-M20A с использованием ОФ колонки SUPELCOSIL LC-18 (250 x 4.6 мм, 5 мкм).

Для выделения индивидуальных соединений из травы *S. canadensis* использовался метод открытой колоночной хроматографии на сорбенте Sephadex LH-20. Полученные подфракции подвергались препаративной ВЭЖХ на приборе Knauer системы Smartline, оснащённом препаративным насосом P-1800, программируемым спектрофотометрическим детектором UV Detector 2520 и препаративной колонкой Kromasil (250 x 30, 5 мкм). Химическая структура выделенных соединений устанавливались с помощью метода УФ-спектроскопии (СФ-2000), ЯМР-спектроскопии (Bruker Avance III 400 MHz ЯМР-спектрометре) и масс-спектрометрии высокого разрешения (Bruker Micromass Q-TOF).

Количественное определение флавоноидов в траве *S. canadensis* осуществлялось методом дифференциальной спектрофотометрии по реакции комплексообразования с алюминия хлоридом (III). В качестве стандарта был выбран раствор стандартного образца (СО) рутина в спирте этиловом 80%.

Суммарное содержание флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) определялось по формуле:

$$X = \frac{D_a \times M \times 100 \times 25 \times 100 \times 100}{D_o \times M_o \times 25 \times 25 \times (100 - W)} = \frac{D_a \times M \times 4 \times 100 \times 100}{D_o \times M_o \times (100 - W)},$$

где D_a — оптическая плотность испытуемого раствора; D_o — оптическая плотность раствора СО рутин; M — масса сырья в граммах; M_o — масса СО рутин в граммах; W — потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *S. canadensis* проводилась по показателям линейности, специфичности, правильности и робастности.

Морфолого-анатомическое изучение сырья осуществлялось на образцах травы *S. canadensis*, собранных в августе 2018 года на территории питомника лекарственных растений СПХФУ в фазу цветения. Внешний вид травы изучался визуально и с помощью бинокулярной лупы. Макроскопический анализ сырья проводился в соответствии с требованиями ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы».

Для микроскопического исследования травы *Solidago canadensis* отбирались цельные листья, стебли и корзинки с цветками. Временные препараты органов растений (стебель, лист, цветок) готовили в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи (ОФС) 1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Анатомическое строение листа, стебля и цветков золотарника канадского изучали на продольных и поперечных срезах. Препараты окрашивали 1% раствором толуидинового синего в растворе тетрабората натрия и исследовали с помощью лабораторного светового микроскопа «ZEISS Axioscope Lab.A1 (Zeiss), оснащенного цифровой видеокамерой «AxioCam MC-HD2» и объективами *5, *10, *20, *40, а также просвечивающего электронного микроскопа «ZEISS Libra 120» с программным обеспечением Zen 2011. Полученные фотографии были обработаны на компьютере с помощью программы «Helicon Focus 6.7.1».

Для эксперимента *in vivo* был взят сухой экстракт из травы *S. canadensis*, который был перерастворён в воде с диметилсульфоксидом. В качестве сравнения использовались стандартные водные растворы рутина и кверцетина. Эксперимент проводился на белых крысах-самцах. После введения веществ внутрижелудочно через зонд и водной нагрузки крыс помещали в метаболические камеры с мочеёмником. В ходе опыта ежечасно проводилось наблюдение за диурезом с фиксацией объёма выделенной мочи от каждого животного. Мочу собирали в пластиковые контейнеры на протяжении 6 часов от введения веществ. Во время проведения эксперимента крысы были лишены доступа к воде и пище.

Компьютерный прогноз фармакологической активности был определён методом *in silico* с помощью программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances, версии 2020 Refined) при порогах вероятности 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 и 0.9.

ГЛАВА 3. ТОВАРОВЕДЧЕСКИЙ И ОБЩИЙ ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ *SOLIDAGO CANADENSIS*

Для каждого измельчённого образца травы *S. canadensis* были определены показатели подлинности и показатели качества. Для цельных образцов сырья были определены пределы измельченности сырья, содержание стеблей, в том числе отделённых при анализе, содержание частиц сырья, изменивших окраску, также содержание минеральной и органической примесей. Данные по товароведческому анализу травы *S. canadensis* представлены в таблице 2.

Таблица 2. Товароведческие показатели образцов надземной части *S. canadensis*

№ образца Показатель	I	II	III	IV
Сумма флавоноидов в пересчёте на рутин, % (для измельчённого сырья)	7,58±0,38	7,85±0,39	6,67±0,33	7,33±0,36
Влажность, % (для измельчённого сырья)	6,37±0,33	6,73±0,37	6,28±0,30	7,1±0,31
Зола общая, % (для измельчённого сырья)	7,25±0,20	6,84±0,22	6,92±0,21	6,8±0,23
Зола, нерастворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной, % (для измельчённого сырья)	0,28±0,02	0,24±0,02	0,27±0,02	0,3±0,02
Стеблей, в том числе отделённых при анализе, % (для цельного сырья)	13,13±0,54	11,11±0,51	10,44±0,46	12,04±0,50
Частей сырья, изменивших окраску и повреждённых вредителями, % (для цельного сырья)	0,8±0,12	0,73±0,09	0,79±0,08	0,56±0,07
Частиц сырья, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 5 мм, % (для измельчённого сырья)	5,7±0,38	5,13±0,33	4,9±0,38	6,4±0,40
Частиц сырья, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм, % (для цельного сырья)	3,07±0,31	2,21±0,24	2,34±0,22	3,26±0,31
Органической примеси, % (для цельного сырья)	2,0±0,19	1,73±0,17	2,2±0,23	1,94±0,20
Минеральной примеси, % (для цельного сырья)	0,6±0,06	0,47±0,04	0,51±0,05	0,44±0,04

Примечание: обозначения образцов сырья указаны в таблице 1.

Общий фитохимический анализ проводился для всех собранных образцов травы *S. canadensis*. Из образцов сырья получали водные и спиртовые извлечения, которые подвергали предварительным испытаниям на основные группы биологически активных веществ. Данные по общему фитохимическому анализу представлены в таблице 3.

Таблица 3. Результаты общего фитохимического анализа травы *S. canadensis* на основные группы биологически активных веществ

Образец сырья / Группа	I	II	III	IV
БАВ				
Флавоноиды	+	+	+	+
Фенолкарбоновые кислоты	+	+	+	+
Дубильные вещества	+	+	+	+
Сапонины	+	+	+	+
Полисахариды	+	+	+	+
Эфирные масла	±	±	±	±
Кумарины	±	±	±	±
Алкалоиды	-	-	-	-
Антраценпроизводные	-	-	-	-
Сердечные гликозиды	-	-	-	-

Примечание: + группа веществ присутствует; - группа веществ отсутствует; ± группа веществ присутствует в незначительных количествах. Обозначения образцов сырья указаны в таблице 1.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ТРАВЫ *SOLIDAGO CANADENSIS* ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Для исследования компонентного состава флавоноидов в 80% спиртовом извлечении из травы *S. canadensis* использовались хроматографические методы.

На основании данных бумажной хроматографии в траве *S. canadensis* было установлено присутствие не менее 9 соединений, относящихся к флавоноидам, из которых с помощью стандартных образцов было подтверждено наличие следующих компонентов: рутина, изокверцитрина, нарциссина и кемпферол-3-рутинозида.

При проведении тонкослойной хроматографии 80% спиртового извлечения и последующем проявлении хроматограммы спиртовым раствором оксид-дихлорид циркония 2% обнаружено 6 пятен с характерной окраской для флавоноидов, пять из которых по значениям R_f совпали с образцами свидетелей - рутином, изокверцитрином, нарциссином, кемпферол-3-рутинозидом и кемпферол-3-галактозидом. Данный результат позволяет предположить наличие этих соединений в траве *S. canadensis*.

Методом ВЭТСХ был проанализирован компонентный состав соединений, содержащихся в 4 фракциях, выделенных из травы *S. canadensis*. Для поиска наиболее перспективных фракций были сняты ВЭТСХ-УФ хроматограммы. УФ-спектры всех значимых вторичных метаболитов были зарегистрированы отдельно для гексановой, дихлорметановой, бутанольной и водной фракции.

В результате анализа фракций методом ВЭТСХ было выявлено, что наиболее перспективными для дальнейшего изучения фенольных соединений являются

бутанольная и водная фракции, полученные методом жидкость-жидкостной экстракции из этанольного экстракта травы *S. canadensis*, поскольку содержащиеся в них вещества имеют наибольшее сродство к фенольным соединениям. Кроме того, в них отмечено наименьшее содержание хлорофиллов и прочих балластных липофильных веществ в сравнении с гексановой и дихлорметановой фракциями.

Для проведения детального анализа компонентного состава основных вторичных метаболитов, содержащихся в траве *S. canadensis* и определения фракций для выделения индивидуальных соединений были сняты ВЭЖХ-УФ хроматограммы.

По результатам анализа бутанольной фракции отмечено содержание в ней 7 мажорных вторичных метаболитов (рисунок 1). Большое число предполагаемых соединений, высокая интенсивность хроматографических пиков, относительная чистота фракции от балластных и липофильных веществ позволяют рассматривать её в качестве целевой для выделения вторичных метаболитов в чистом виде.

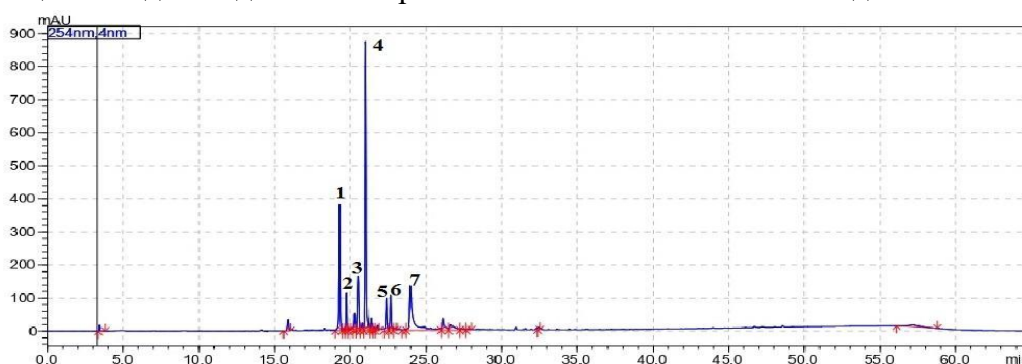


Рисунок 1. ВЭЖХ-УФ хроматограмма бутанольной фракции травы *S. canadensis* при длине волны 254 нм

Среди обнаруженных соединений предположительно 6 относятся к флавонолам и их 3-О-гликозидам, а 1 – к фенолкарбоновым кислотам (таблица 4).

Таблица 4. Интерпретация пиков хроматограммы бутанольной фракции

№ пик а	Время удерживания, мин	Максимумы поглощения, нм	Класс предполагаемого метаболита
1	19,287	254; 352	Флавонол-3-О-гликозид
2	19,747	254; 351	Флавонол-3-О-гликозид
3	20,511	243; 328	Фенолкарбоновая кислота
4	21,028	265; 343	Флавонол-3-О-гликозид
5	22,382	265; 346	Флавонол-3-О-гликозид
6	22,689	253; 354	Флавонол-3-О-гликозид
7	23,969	254; 370	Флавонол

Благодаря наиболее полному разделению пиков, а также литературным данным и ранее полученным результатам бумажной и тонкослойной хроматографии, в качестве целевой была выбрана бутанольная фракция.

ГЛАВА 5. ВЫДЕЛЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ТРАВЫ *SOLIDAGO CANADENSIS* МЕТОДОМ ПРЕПАРАТИВНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И ИХ ИДЕНТИФИКАЦИЯ

По результатам комплексного хроматографического анализа травы *S. canadensis* было установлено, что бутанольная фракция является наиболее перспективной для выделения индивидуальных веществ. Данную фракцию в необходимом количестве нарабатывали методом жидкость-жидкостной экстракции, концентрировали под вакуумом с использованием роторного испарителя при температуре 40°C до приблизительного объёма 100 мл и подвергали дальнейшей очистке методом эксклюзионной открытой колоночной хроматографии. Сбор элюатов из колонки проводился в пробирки. Предварительный контроль элюирования проводился с помощью тонкослойной хроматографии в системах хлороформ:этанол (2:3) и БУВ (4:1:2). На основании сходства хроматографических пятен и индексов удерживания растворы-элюаты из пробирок объединялись в подфракции. В результате было получено 4 подфракции. Детально степень разделения компонентов подфракций контролировалась через ВЭЖХ-УФ по полученным хроматограммам.

Индивидуальные вещества из подфракций были выделены методом препаративной ВЭЖХ. В чистом виде было выделено 4 соединения (1-4): кверцетин, кверцетин-3-О-β-D-6''-ацетилгликопиранозид, рутин и нарциссин (рисунок 2).

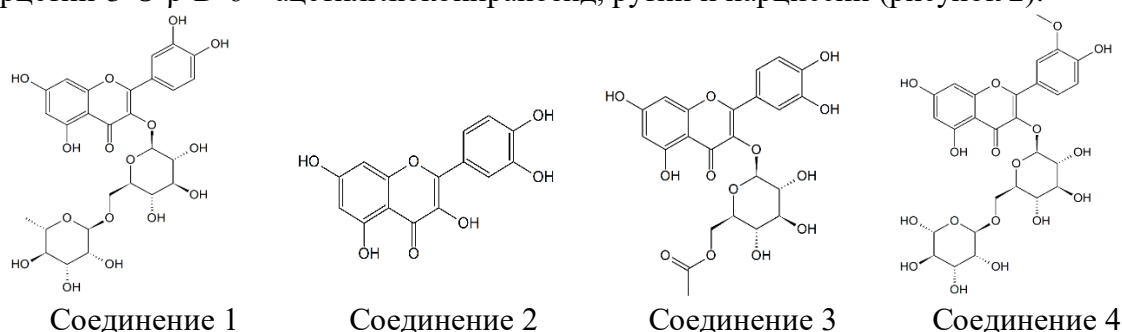


Рисунок 2. Структуры 4 выделенных в индивидуальном виде соединений – рутин (1), кверцетин (2), кверцетин-3-О-β-D-6''-ацетилгликопиранозид (3), нарциссин (4).

Химическая структура выделенных веществ была установлена и подтверждена методами УФ-спектрофотометрии, ЯМР- и масс-спектроскопии высокого разрешения.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ *SOLIDAGO CANADENSIS*

Для разработки методики количественного определения флавоноидов было изучено влияние на выход суммы флавоноидов различных технологических параметров.

Выбор стандартного образца индивидуального флавоноида осуществлялся на основании проведенных хроматографических и спектрофотометрических исследований отдельных компонентов, обнаруженных в образцах травы *S. canadensis*. С помощью хроматографических методов анализа было установлено, что относительное

содержание рутина в водно-спиртовом извлечении превышает содержание других флавоноидов, а максимумы поглощения комплексов с алюминия хлоридом рутина и суммы флавоноидов *S. canadensis* после реакции с раствором алюминия хлорида в длинноволновой области совпадают. Поэтому данное вещество было выбрано в качестве стандарта.

При исследовании УФ спектров спиртовых извлечений, содержащих комплекс флавоноидов и раствора стандартного образца рутина с хлоридом алюминия было установлено, что их максимумы поглощения совпадают при длине волны 409 ± 2 нм. Это значение было взято в качестве аналитической длины волны.

При подборе условий экстракции суммы флавоноидов из сырья были учтены значения следующих параметров: оптимальный экстрагент (вода, этиловый спирт 60%, 70%, 80% и 90%); степень измельчения сырья (частицы, проходящие сквозь сито с диаметрами отверстий 1, 2 и 3 мм); длительность экстракции (30, 60, 90 и 120 минут); время реакции исследуемого раствора, содержащего флавоноиды, с раствором алюминия хлорида (30, 40, 50 и 60 минут); температурный режим экстракции (60°C, 80°C и 100°C); количество добавляемого к исследуемому раствору, содержащему флавоноиды, реактива-комплексобразователя (1, 2, 3, 4 и 5 мл); количество добавляемого реактива-комплексобразователя к раствору стандартного образца рутина (1, 2 и 3 мл).

Результаты исследований по подбору оптимальных условий экстракции сырья представлены в таблице 5:

Таблица 5. Влияние технологических параметров на полноту экстракции флавоноидов из травы *S. canadensis*

Параметр	Условие экстракции	Содержание флавоноидов, %
Природа и концентрация экстрагента	Вода	4,83
	Спирт этиловый, 90 %	6,63
	Спирт этиловый, 80 %	7,46
	Спирт этиловый, 70 %	7,14
	Спирт этиловый, 60 %	6,81
Степень измельченности сырья	1 мм	7,13
	2 мм	7,01
	3 мм	4,49
Температурный режим экстракции	60°C	7,52
	80°C	7,57
	100°C	7,85
Длительность экстракции	30 мин	5,87
	60 мин	7,85
	90 мин	8,05
	120 мин	7,25
Добавление 1 мл раствора $AlCl_3$ 2% через разные	30 мин	0,628
	40 мин	0,627
	50 мин	0,620

промежутки времени	60 мин	0,620
Количество добавленного раствора $AlCl_3$ 2%	1 мл	7,24
	2 мл	7,34
	3 мл	7,63
	4 мл	7,71
	5 мл	7,46

Результаты исследований показывают, что максимальное извлечение флавоноидов из травы *S. canadensis* достигается экстракцией сырья с размером частиц 1 мм этиловым спиртом 80%. Также предлагается экстрагирование флавоноидов проводить при температуре кипения водяной бани в течение 90 минут, при этом восполнение потери растворителя в результате нагревания проводить путем взвешивания колбы с навеской сырья и добавленного экстрагента после окончания нагревания и последующего охлаждения колбы до комнатной температуры.

Для проверки воспроизводимости методики было проведено количественное определение флавоноидов на примере одного образца для шести независимых определений, в результате чего было установлено, что содержание флавоноидов в траве *S. canadensis* в пересчете на рутин составляет $7,33 \pm 0,35\%$. Относительная ошибка среднего значения содержания флавоноидов в траве *S. canadensis* с доверительной вероятностью 95% составляет 4,44%.

Для установления оптимальных размеров сырья *S. canadensis* и рекомендаций по его заготовке с учетом содержания в сырье суммы флавоноидов было проведено их количественное определение в различных частях растения (листьях, соцветиях и стеблях). Учитывая, что длина стеблей достигает 100 см и более, дополнительно было проведено определение содержания флавоноидов в верхней (длиной от верхушки до 40 см), средней (от 40 до 80 см) и нижней трети стебля (таблица 6).

Таблица 6. Данные по содержанию суммы флавоноидов в различных образцах и частях сырья *S. canadensis*

Содержание суммы флавоноидов в различных образцах сырья <i>S. canadensis</i>	
<i>Место и время сбора сырья</i>	<i>Содержание флавоноидов (%)</i>
Ленинградская область, Всеволожский район, пос. Лемболово, питомник лек. растений СПХФУ, июль 2016	7,85±0,37
Чехия, окрестности г. Прага, август 2017	6,67±0,31
Ленинградская область, Всеволожский район, пос. Лемболово, питомник лек. растений СПХФУ, август 2018	7,33±0,34
Содержание суммы флавоноидов в отдельных частях растения	
<i>Орган растения</i>	<i>Содержание флавоноидов (%)</i>
Стебли	2,75±0,12
Листья	9,12±0,28
Соцветия	7,8±0,24
Содержание суммы флавоноидов в различных частях стебля	

Исследуемая часть стебля	Содержание флавоноидов (%)
Верхняя (от верхушки до 40 см)	2,75±0,12
Средняя (от 40 до 80 см)	1,10±0,08
Нижняя	0,52±0,06

Полученные результаты дают основание рекомендовать для заготовки верхушки побегов длиной до 40 см, отделяя грубые стебли нижней части растений, диаметр которых составляет более 7 мм.

Ещё одним этапом исследования было проведение валидации разработанной методики. Для определения линейности методики были взяты 5 различных навесок сырья и получены извлечения с соблюдением оптимальных условий экстракции. Согласно разработанной методике, с каждым извлечением была проведена реакция со спиртовым раствором алюминия хлорида 2%. Результаты эксперимента приведены в таблице 7 и на рисунке 3.

Таблица 7. Оценка линейности методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *S. canadensis*

Навеска сырья, г	Оптическая плотность исследуемого извлечения	Содержание суммы флавоноидов (мкг/мл)	Уравнение регрессии и коэффициент корреляции
1,2010	0,616	77,67	Y=0,000043+0,00793x R ² =0.9999
1,0128	0,502	63,30	
0,8050	0,412	51,95	
0,6048	0,326	41,10	
0,4071	0,209	26,35	

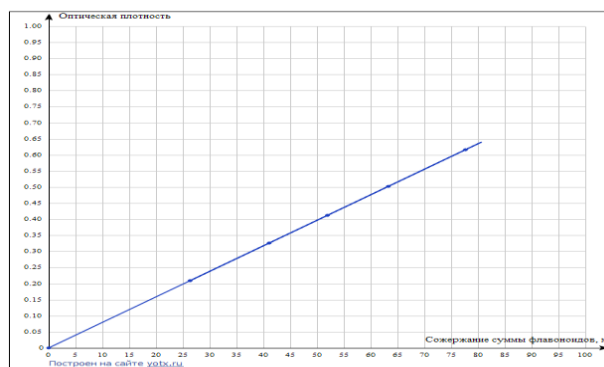


Рисунок 3. График зависимости величины оптической плотности спиртовых извлечений от содержания суммы флавоноидов

Полученные данные показывают, что градуировочный график имеет линейный характер, а коэффициент корреляции близок к единице. Таким образом, можно сделать вывод о линейности методики.

Специфичность методики определяли путем сравнения спектров испытуемого раствора со спектром СО рутина после проведения реакции с хлоридом алюминия. Регистрацию спектров проводили в диапазоне длин волн от 200 до 800 нм. Критерием приемлемости специфичности являлось совпадение максимумов поглощения

дифференциальных спектров рутина и суммы флавоноидов, извлеченных из травы *S. canadensis* (рисунок 4).

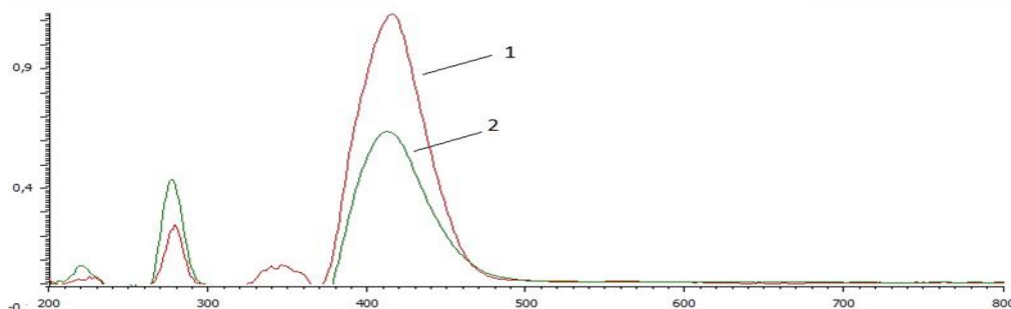


Рисунок 4. Дифференциальные спектры поглощения комплексов спиртовых растворов рутина (1) и суммы флавоноидов травы *S. canadensis* (2) с добавкой хлорида алюминия. Ось абсцисс – длина волны (нм), ось ординат – оптическая плотность.

На данном рисунке видно, что характер дифференциальных спектров совпадает, максимумы находятся при аналитической длине волны 409 нм. Таким образом, сопутствующие вещества, переходящие в раствор при экстрагировании сырья, не искажают результат, чем подтверждается специфичность разработанной методики.

Установлено, что влияние растворителя на спектр поглощения извлечения минимально и существенно не сказывается на результатах анализа (рисунок 5).

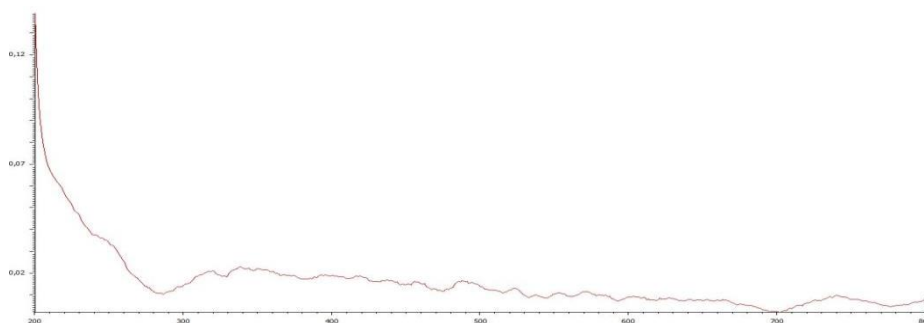


Рисунок 5. Спектр поглощения растворителя с добавлением раствора хлорида алюминия. Ось абсцисс – длина волны (нм), ось ординат – оптическая плотность.

Для определения *правильности* методики (отсутствия систематической ошибки) использовали метод добавок. Правильность методики определялась на одном образце сырья в трех разных навесках. Производилось измерение количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в 9 растворах, полученных путем добавления необходимого количества СО рутина к исследуемому раствору (таблица 8).

Таблица 8. Оценка правильности методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *S. canadensis*

Масса навески сырья, г	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, мкг/мл	Добавлено СО рутина, мкг	Расчетное содержание суммы флавоноидов мкг	Найденное содержание суммы флавоноидов мкг	Открываемость (R), %
0,8071	21,52	5	26,52	26,16	98,64
	21,52	10	31,52	31,45	99,77
	21,52	15	36,52	36,03	98,65
1,0029	26,65	5	31,65	31,34	99,03

	26,65	10	36,65	37,05	101,08
	26,65	15	41,65	40,83	98,04
1,2061	31,31	5	36,31	36,65	100,94
	31,31	10	41,31	41,14	99,59
	31,31	15	46,31	45,83	98,96
Метрологические характеристики: R= 99,41; $\Delta x=0,883$; SD=1,085; RSD=1,0914					

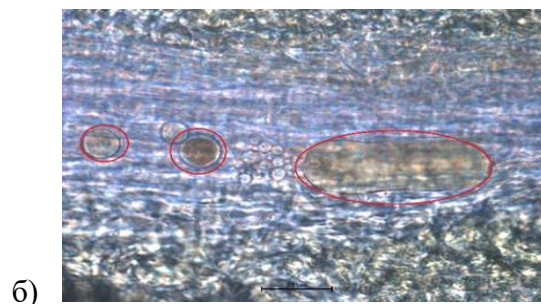
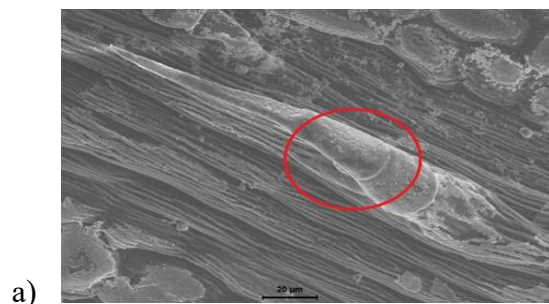
Эксперименты с добавками стандартного образца рутина к аликвоте показали отсутствие систематической ошибки и правильность разработанной методики. На основании полученных данных можно утверждать, что совокупность однородна и полученным данным можно доверять.

Робастность методики устанавливали путем определения стабильности испытуемого раствора сравнением величины оптической плотности через равные промежутки времени в течение 48 часов. Исследовалось влияние времени и пониженной температуры хранения на исследуемый раствор. В результате было установлено, что величина оптической плотности извлечения оставалась неизменной на протяжении 48 часов при влиянии обоих факторов. Разность между величиной оптической плотности не превышала 3% относительно исходной.

ГЛАВА 7. МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И АНАТОМО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВЫ *SOLIDAGO CANADENSIS*

В результате проведённого морфологического изучения надземных частей *S. canadensis* были обнаружены общие для рода *Solidago* и отличительные признаки для вида *S. canadensis*. К диагностическим признакам травы *S. canadensis* относятся форма листовой пластинки, наличие опушения у листьев и в верхней части стеблей, кистевидно-метельчатые соцветия, представленные корзинками с цилиндрическими многорядными обёртками.

В результате проведённого анатомо-диагностического исследования были выявлены характерные микроскопические признаки: устьица аномоцитного типа в эпидерме листьев, стеблей и листочков обвёртки, наличие простых многоклеточных волосков и эфирномасличных структур – желёзок, трубчатых и ложноязычковых цветков (рисунок 6).



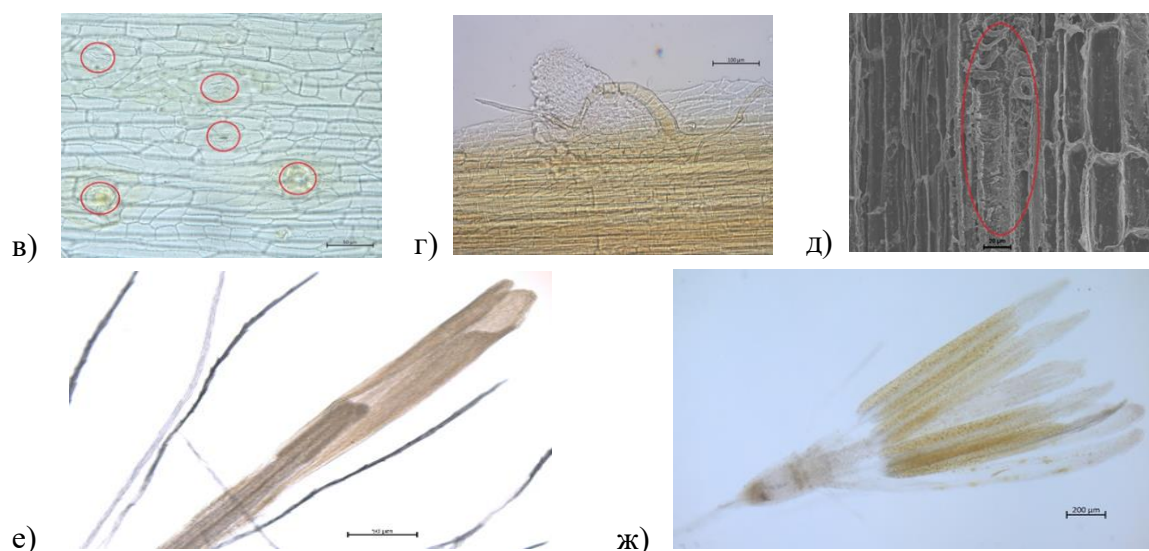
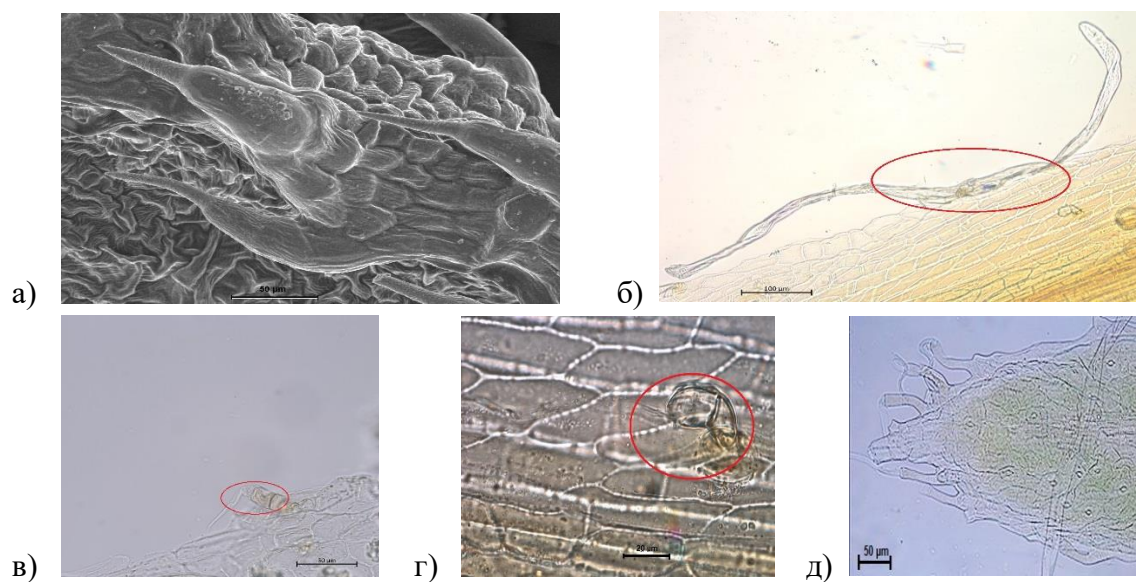


Рисунок 6. Микроскопия надземной части *S. canadensis*: а) простые многоклеточные волокна листа; б) эфиромасличные желёзки листа; в) аномоцитные устьица; г) простые многоклеточные волоски стебля; д) сосуды лестничного типа стебля; е) трубчатый цветок; ж) ложноязычковый цветок. Масштабная линейка: а,б,д – 20 мкм; в,е – 50 мкм; г – 100 мкм; ж – 200 мкм.

Впервые были обнаружены и описаны Т-образные волоски у листьев, бичевидные волоски у листьев, стеблей и листочков обвёртки, а также впервые установлено наличие вместилищ схизогенного типа над крупными пучками стебля, папилл и желёзок на эпидерме гинецея ложноязычкового цветка (рисунок 7).



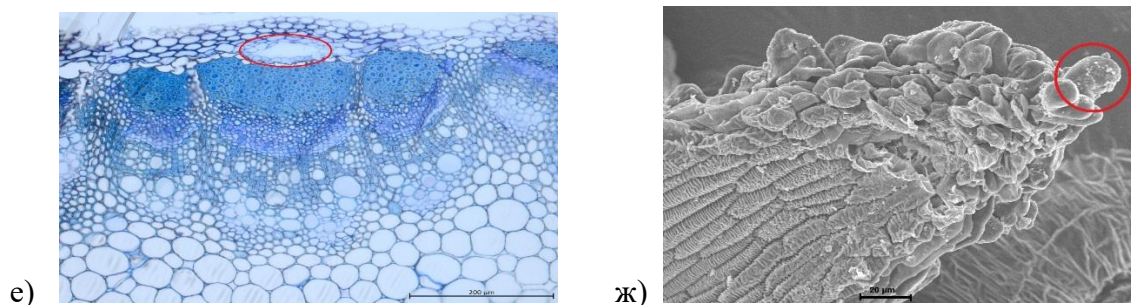


Рисунок 7. Микроскопические признаки, впервые установленные для надземной части *S. canadensis*: а) щетинистые волоски листа; б) Т-образные волоски листа; в) бичевидные волоски листа; г) бичевидные волоски стебля; д) бичевидные волоски листочка обёртки; е) вместилища схизогенного типа; ж) папиллы на эпидерме гинецея ложноязычкового цветка. Масштабная линейка: а, в, д – 50 нм; б – 100 нм; г, ж – 20 нм; е – 200 нм.

Описанные микроскопические признаки могут являться диагностическими для подтверждения подлинности сырья.

ГЛАВА 8. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДИУРЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА *SOLIDAGO CANADENSIS* И ОТДЕЛЬНЫХ ЕГО КОМПОНЕНТОВ. КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

Из литературных данных известно, что стандартизация флавоноидов в траве золотарника канадского осуществляется по рутину. Однако имеются исследования, показывающие влияние рутина на различные системы организма, в которых не упоминается о диуретическом эффекте данного соединения. Для объяснения данного феномена был проведён сравнительный эксперимент по исследованию активности суммарного экстракта *S. canadensis* и его основных компонентов: рутина и кверцетина (таблица 9).

Таблица 9. Определение диуретической активности суммарного экстракта *S. canadensis*

Введённый препарат	Объём уринации, мл						Сумма
	1 час	2 час	3 час	4 час	5 час	6 час	
Контроль (вода)	2,44±0,87	1,86±0,68	1,26±0,23	0,66±0,52	1,04±0,53	0,84±0,40	8,1±0,54
Жидкий экстракт	1,28±0,66	1,36±0,33	1,8±0,41	2,32±0,32	1,6±0,37	0,98±0,24	9,34±0,39
Рутин	2,14±0,43	1,88±0,39	1,4±0,19	1,14±0,38	1,14±0,72	0,8±0,71	8,5±0,47
Кверцетин	1,9±0,25	1,74±0,32	1,5±0,26	1,06±0,37	0,88±0,62	0,74±0,36	7,82±0,36

Длительность проводимого эксперимента была обоснована достигнутым уровнем уринации, сравнимым с объёмом первоначально введённых растворов и воды. Полученные данные отражены на рисунке 8.

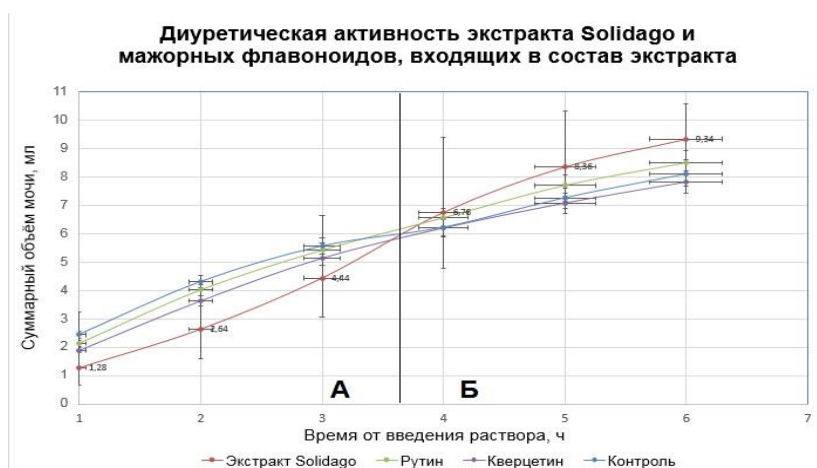


Рисунок 8. График диуретической активности экстракта *Solidago canadensis*, рутина и кверцетина. Примечание: зона А – предполагаемый спазмолитический эффект; зона Б – диуретический эффект

Полученные данные показывают, что в течение первых трёх часов с момента начала эксперимента диурез крыс, получивших водный раствор экстракта *S. canadensis*, ниже в сравнении с диурезом контрольной группы и групп сравнения, что объясняется преобладанием возможного спазмолитического эффекта экстракта. После третьего часа наблюдается сдвиг кривой экстракта в сторону увеличения уринации и диуретического эффекта. Таким образом, можно говорить о наличии двух зон: зоны спазмолитического (А) и зоны диуретического (В) эффектов. Однако следует отметить, что диуретический эффект водного экстракта *S. canadensis* напрямую не связан с входящими в его состав рутином и кверцетином, а опосредован другими действующими веществами.

Принимая во внимание литературные данные об использовании экстракта *S. canadensis* и соединений, входящих в его состав, в качестве диуретических, противовоспалительных, противомикробных и спазмолитических средств, было решено оценить фармакологический потенциал каждого выделенного из экстракта индивидуального соединения с использованием программы PASS.

Информация о наиболее важных типах фармакологической активности, предсказанных для выделенных из экстракта *S. canadensis* в чистом виде соединений, приведена в таблице 10.

Таблица 10. Виды биологической активности, предсказанные для соединений, выделенных из экстракта *S. canadensis* с оценкой вероятности Pa-Pi

Прогнозируемые виды биологической активности	Вероятность наличия биологической активности (Pa-Pi)			
	Кверцетин	Кверцетин-3-О-бета-D-6''-ацетил глюкопиранозид	Рутин	Нарциссин
Антимутагенная	0,958	-	0,989	0,991
Антиоксидантная	0,916	0,919	0,941	0,921
Гипогликемическая	0,711	0,984	0,990	0,990
Хемопревентивная	0,739	0,961	0,969	0,980
Радиопротекторная	0,812	0,914	0,964	0,968

Антигипоксанта́ная	0,699	0,940	0,948	0,940
Антигемморагическая	0,634	0,768	0,938	0,913
Антигиперхолестерин-емическая	-	0,930	0,925	0,922
Кардиопротекторная	0,809	0,842	0,880	0,863
Спазмолитическая	0,608	0,858	0,883	0,897
Вазодилататорная	0,529	0,854	0,557	0,900

Полученные результаты подтверждают литературные данные о широком спектре фармакологических эффектов, присущих вторичным метаболитам *S. canadensis*, и позволяют сделать предположение, что спазмолитическая и вазодилататорная активности обусловлены содержанием в экстракте *S. canadensis* кверцетин-3-О-β-D-6''-ацетилглюкопиранозида и нарциссина, а антиоксидантная и кардиопротекторная активности – рутином и кверцетином.

Помимо этого, некоторые виды активностей, предсказанные с высокой вероятностью и не описанные в литературе применительно к экстракту *S. canadensis* (антимутагенная, гипогликемическая), могут послужить основой для дальнейшего изучения выделенных соединений в качестве потенциальных фармакологических субстанций с указанными свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Анализ литературных данных по химическому составу *S. canadensis* позволил установить мажорные группы соединений в растении и разработать методику выделения индивидуальных веществ. При изучении распределения химического состава отмечено преобладание фенольных соединений в траве *S. canadensis*, а терпеноидов – в цветках и корнях.

2. Методом препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии из травы *S. canadensis* было выделено 4 индивидуальных вещества: кверцетин, кверцетин-3-О-β-D-6''-ацетилглюкопиранозид, рутин и нарциссин. Химическая структура соединений была установлена с помощью ВЭЖХ-МС, масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии.

3. Уточнена и валидирована методика количественного определения флавоноидов в траве *S. canadensis*, основанная на спектрофотометрии по реакции комплекса флавоноидов с алюминия хлоридом 2%. Определены технологические параметры и условия, позволяющие достичь наибольшего выхода данной группы веществ и конкретизировать требования по заготовке сырья *Solidago canadensis herba*.

4. Актуализированы требования к качеству сырья *Solidaginis canadensis herba* – уточнены микроскопические диагностические признаки сырья. Впервые были обнаружены и описаны Т-образные волоски у листьев, бичевидные волоски у листьев, стеблей и листочков обвёртки. Конкретизировано строение краевых волосков листа и волосков семян, вместилищ схизогенного типа над крупными пучками стебля, папилл и железок на эпидерме гинецея ложноязычкового цветка.

5. При изучении диуретической активности экстракта *S. canadensis* и его отдельных компонентов *in vivo* было определено, что увеличение урикации происходит через 3 часа с момента внутрижелудочного введения экстракта. Установлено, что диуретический эффект экстракта *S. canadensis* напрямую не связан с входящими в его

состав мажорными компонентами (рутин и кверцетин), а опосредован другими действующими веществами.

При прогнозировании вероятного спектра фармакологической активности выделенных из травы *S. canadensis* индивидуальных веществ *in silico* установлено наличие как известных фармакологических эффектов, так и ранее не описанных в литературе применительно к экстракту *S. canadensis*, что даёт основу для дальнейшего изучения данного растения в качестве источника потенциальных лекарственных кандидатов.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сулоев, И.С. О некоторых видах рода Золотарник (обзор) / И.С. Сулоев, Н.А. Дудецкая, Л.С. Теслов, В.Г. Лужанин, Г.П. Яковлев // Журнал научных статей “Здоровье и образование в XXI веке”. – 2019. – Том 21. - №6. – С. 68-76. DOI: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-6-68-76.

2. Сулоев, И.С. Морфолого-анатомическое изучение травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) / И.С. Сулоев, О.В. Яковлева, Н.А. Дудецкая, В.Г. Лужанин // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2020. – Том 29. - №3. – С. 36-44. DOI: 10.34907/JPQAI.2020.84.71.003

3. Сулоев, И.С. Стандартизация травы золотарника канадского / И.С. Сулоев, А.О. Понкратова, Н.А. Дудецкая, Л.С. Теслов, В.Г. Лужанин // Фармация. – 2020. – Том 69. - №8. – С. 13–20. DOI: 10.29296/25419218-2020-08-02.

4. Лужанин, В.Г. Выделение индивидуальных соединений из надземной части стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) / В.Г. Лужанин, А.К. Уэйли, А.О. Понкратова, Е.А. Гришукова, И.С. Сулоев, С.Н. Смирнов, Е.Б. Серебряков // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Том 10, №1. – С. 83–89. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89.

5. Сулоев, И.С. Перспективы изучения травы золотарника канадского с целью проведения фитохимического анализа / И.С. Сулоев // Сборник материалов VII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 24-25 апреля 2017 г. – СПб.: Изд-во СПХФА. – 2017. – С. 996-998.

6. Suloev, I. S. Isolation of individual flavonoids from *Solidago canadensis* L. / I. S. Suloev, V. G. Luzhanin // Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy. – 2017. – Vol. 15, No. S1- P.66

7. Сулоев, И.С. Исследование химических соединений травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.). / И.С. Сулоев // Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», Санкт-Петербург, 8-9 ноября 2017 г. – СПб.: Изд-во СПХФА. – 2017. – С. 389-391.

8. Сулоев, И.С. К товароведческому анализу травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) / И.С. Сулоев // Сборник материалов VIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 23-24 апреля 2018 г. – СПб.: Изд-во СПХФУ. – 2018. – С. 658-660.

9. Suloev, I. S. Investigation of substances of phenolic nature in the grass of *Solidago canadensis* L. / I. S. Suloev, V. G. Luzhanin // *Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. – 2018. - Vol.16, No. S2. – P. 95.

10. Сулоев, И.С. О стандартизации лекарственного растительного сырья «Золотарника канадского трава» / И.С. Сулоев, Н.А. Дудецкая, В.Г. Лужанин // IV Гаммермановские чтения: сборник научных трудов 30-31 января 2019 г. / кол. авторов. – М.: РУСАЙНС. – 2018. – С. 290-293.

11. Сулоев, И.С. Сравнительная товароведческая характеристика различных образцов травы золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) / И.С. Сулоев // Сборник материалов IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 22-23 апреля 2019 г. – СПб.: Изд-во СПХФУ. – 2019. – С. 800-802.

12. Suloev, I.S. The quantification of phenolic compounds in Canadian goldenrod (*Solidago canadensis* L.) / I.S. Suloev, A.O. Ponkratova, L.S. Teslov, V.G. Luzhanin // *Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. – 2019. – Vol. 17, No. S1. – P. 66-67.