

МУБИНОВ АРТУР РУСТЕМОВИЧ

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ
(*NIGELLA SATIVA* L.)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2023

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Авдеева Елена Владимировна**

Официальные оппоненты:

Зилфикаров Ифрат Назимович – доктор фармацевтических наук, профессор РАН, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», отдел химии природных соединений, главный научный сотрудник.

Гармонов Сергей Юрьевич – доктор химических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», кафедра аналитической химии, сертификации и менеджмента качества, профессор.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа.

Защита состоится «_____» _____ 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке по адресу: 443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171 и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/2023/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Создание отечественных эффективных и безопасных лекарственных средств и лекарственных субстанций является приоритетным направлением для российской фармацевтической науки и индустриального сектора экономики, что отражено в Приказе Минздрава России от 13.02.2013 г. № 66 (ред. от 13.07.2021) «Об утверждении Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года и плана ее реализации» и постановлении Правительства Российской Федерации от 29.12.2021 № 2544 "О внесении изменений в государственную программу РФ "Развитие фармацевтической и медицинской промышленности", а также в ряде других нормативных актов. Приоритеты государственной политики сосредоточены на импортонезависимости, развитии производственных мощностей, разработке и обеспечении качества лекарственных препаратов и медицинских изделий.

Данные целевые установки в области фармакогнозии сегментируются на следующие актуальные задачи: поиск перспективных природных источников лекарственных средств (ЛС), изучение химического состава новых видов растительного сырья или расширение спектра представлений о потенциале официальных видов, изучение параметров качества и решение вопросов стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных препаратов (ЛП), разработка способов получения и обоснование использования в медицинской практике. Перспективность направления обусловлена несколькими факторами. Около 4000 наименований ЛП на фармацевтическом рынке Российской Федерации - растительного происхождения (Государственный реестр лекарственных средств; Самылина И.А. и др., 2016). Их ассортимент увеличивается ввиду значимой роли фитопрепаратов в терапии хронических заболеваний - возможности их длительного приёма, мягкости и комплексности действия (Куркин В.А., 2020; Зилфикаров И.Н., 2021).

Настоящая работа посвящена одному из перспективных растительных объектов семейства Лютиковые (*Ranunculaceae*), рода Чернушка (*Nigella*) – чернушке посевной (*Nigella sativa* L.). Потенциал использования данного растения в медицине очевиден, однако доказательно в полной мере не оценен. Чернушка посевная не входит в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ) и в фармакопеи других стран. Она в основном распространена на Ближнем Востоке, Средиземноморье и Южной Европе. В РФ данный и другой известный вид – чернушка дамасская (*Nigella damascena* L.), - часто встречаются в южных областях Европейской части России, на Кавказе и в Крыму. Активно селекцией чернушки занимались в Краснодарском и Ставропольском краях, также в Республике Дагестан (Хабибов А.Д. и др., 2008; Маширова С.Ю., 2013; Рудь Н.К., 2017), и отечественная сырьевая база может быть расширена. В этой связи проведение фармакогностического изучения растительного сырья чернушки посевной и перспектив его использования в качестве официального вида ЛРС для получения ЛП и ЛС является актуальным направлением исследований.

Степень разработанности темы. Наиболее подробно представлены морфологические сведения, данные о фармакологической активности и фитохимическом составе семян чернушки посевной и чернушки дамасской. В частности, морфолого-анатомический анализ семян чернушки посевной и чернушки дамасской микроскопических отличий не выявил (Орловская Т.В. и др., 2012; Маширова С.Ю., 2013). Основными группами биологически активных соединений (БАС), обеспечивающих фармакологические свойства жирного масла семян (гепатопротекторная, антиоксидантная, противомикробная и другие виды активности) являются эссенциальные жирные кислоты, эфирное масло (тимохинон и дитимохинон), стероиды (стигмастерин, β -ситостерин), фермент липаза, алкалоиды (нигеллин, нигеллицин), фенольные соединения и органические кислоты (Рудь Н.К. и др., 2013, 2017; Сампиев А.М. и др., 2014; Давитанян Н.А. и др., 2015; Aftab A. et al., 2018; Harzallah, H.J. et al., 2011, 2012; Pop R.M., 2018; Kanter M. et al., 2005). Ряд работ отечественных и зарубежных ученых свидетельствует о широких возможностях использования масла чернушки в фармацевтической и парафармацевтической практике (Шиков А.Н. и др., 2004; Рудь Н.К. и др., 2015, Pop R.M., 2018; Islam M.T. et al., 2017; Hamdy N., 2009). Так, отечественными исследователями был разработан ЛП – сверхкритический углекислотный экстракт из семян чернушки посевной в желатиновых капсулах с высоким содержанием тимохинона (в отличие от коммерческих образцов масел чернушки) и ценных гидрофильных БАС (Рудь Н.К. и др., 2015). В Индонезии активно используется гель на основе масла чернушки посевной против диабетических язв (Sary Y.A. et al., 2018); есть и другие примеры медицинского применения (Chaieb K. et al., 2011; Aftab A. et al. 2018; Salehi B. et al., 2021).

Помимо семян чернушки посевной представляют интерес и другие морфологические органы растения, в частности, трава. В зарубежной и отечественной научной литературе информации по морфолого-анатомическому, фитохимическому и фармакологическому исследованию травы чернушки посевной гораздо меньше, чем по семенам и жирному маслу, несмотря на превалирующую биомассу вегетативной части по сравнению с семенами растения. В основном определялся качественный состав экстрактов травы чернушки посевной, общее количество фенолов (Bourgou S. et al., 2008; Aftab A. et al., 2018, 2020). Для травы также был установлен спектр фармакологической активности – антидиабетический, антиоксидантный и антимуtagenный (Bourgou S. et al., 2008; Шарофова М.У. и др., 2018).

Вышеизложенные факты свидетельствуют об актуальности исследования химического состава, решения вопросов стандартизации нового вида ЛРС чернушки посевной, изучения перспектив разработки ЛС.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей диссертационной работы – научное обоснование использования в фармацевтической практике нового вида лекарственного растительного сырья «Чернушки посевной трава» и жирного масла чернушки посевной в качестве потенциальных источников лекарственных растительных препаратов.

Решены следующие задачи для достижения поставленной цели:

1. Проведение морфолого-анатомического исследования травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.).

2. Изучение химического состава травы чернушки посевной.
3. Проведение сравнительного анализа жирнокислотного состава масел чернушки посевной различных регионов произрастания.
4. Разработка методик качественного анализа травы чернушки посевной.
5. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве чернушки посевной.
6. Изучение антимикробной и противогрибковой активности, а также острой токсичности настойки из травы чернушки посевной.
7. Сравнительное изучение антиоксидантной активности масел чернушки посевной различных регионов произрастания.
8. Установление значений показателей качества травы чернушки посевной для проекта фармакопейной статьи (ФС) на новый вид ЛРС «Чернушки посевная трава».

Научная новизна. В ходе диссертационного исследования впервые проведено подробное морфолого-анатомическое исследование травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), в том числе с использованием метода люминесцентной микроскопии. Для травы чернушки посевной в качестве диагностически значимых признаков отмечены: особое двухгубое строение опушенного нектарника в цветке и характерное опушение вегетативных органов каплевидными двухклеточными волосками.

Впервые из травы чернушки посевной выделены и идентифицированы нигелфлавонозид G (3-O-β-D-[α-L-O-рамнопиранозил-(1→6)]-глюкопиранозид-[(2→1)-O-β-D-глюкопиранозил-(2→1)-O-β-D-глюкопиранозил]-3,5,6,7,4'-пентагидрокси-3'-метокси флавона), который имеет диагностическое значение для сырья, и даукостерин (3-O-β-D-глюкопиранозид β-ситостерина). Впервые в РФ из травы чернушки посевной, выращенной в Ульяновской и Самарской обл., также выделены и идентифицированы вещества - никотифлорин (3-O-β-D-глюкопиранозид кемпферола), рутин и β-ситостерин, химическая структура которых установлена с применением методов УФ-, ¹H-ЯМР- и ¹³C-ЯМР-спектроскопии, а также масс-спектрометрии.

Впервые разработаны методики качественного и количественного анализа БАС в траве чернушки посевной с использованием методов тонкослойной хроматографии (ТСХ) и спектрофотометрии.

Впервые проведено исследование антимикробной и противогрибковой активности водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной в отношении *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (клинический штамм), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). Доказана выраженная активность для всех извлечений, в особенности для настойки, в т.ч. в отношении *Pseudomonas aeruginosa*.

Проведено сравнительное изучение жирнокислотного профиля масел чернушки посевной из различных географических зон произрастания; установлено доминирование эссенциальных жирных кислот и наличие эфиромасличной фракции методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ-МС). Результаты сравнительного анализа антиоксидантной активности жирных масел доказали их

способность подавлять генерацию активных форм кислорода (АФК) и перекисное окисление липидов (ПОЛ) в модельных системах.

Проведено исследование острой токсичности настойки травы чернушки посевной, которое подтвердило её безопасность для дальнейшего изучения с целью использования в медицинской практике.

Научная новизна проведенного диссертационного исследования доказана патентом Российской Федерации на изобретение № 2786440 «Способ количественного определения суммы флавоноидов в траве чернушки посевной» (приложение № 6).

Теоретическая и практическая значимость. Значимость диссертационного исследования заключается в расширении спектра представлений о чернушке посевной как перспективном сырьевом источнике отечественных лекарственных препаратов. С позиции современных подходов к стандартизации растительного сырья разработаны методики качественного и количественного определения флавоноидов в траве чернушки посевной с использованием методов ТСХ и УФ-спектрофотометрии.

Установлены числовые показатели качества травы чернушки посевной, включая содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин - не менее 1,0 %, а также разработан раздел «Микроскопия», что было введено в проект ФС на новый вид ЛРС «Чернушки посевной трава». Изучен компонентный состав жирного масла чернушки посевной, установлены его параметры качества. Обосновано использование масла в фармацевтической и парафармацевтической практике как антиоксидантного средства.

Выявлено наличие антимикробной активности водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной в отношении *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Candida albicans* (клинический штамм), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). В ходе исследования выбран и обоснован оптимальный экстрагент (70% спирт этиловый) для получения лабораторного образца экстракционного препарата «Чернушки травы настойка». Для него был установлен III класс токсичности (вещества умеренно опасные).

Внедрение результатов исследования. Результаты данного диссертационного исследования внедрены в научный и учебный процессы на нескольких кафедрах Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Разработанные методики анализа растительного сырья и продуктов из чернушки посевной апробированы и используются в рабочих процессах в ЗАО «Самаралектравы», ООО «Лекарь» и ООО «Самарская фармацевтическая фабрика», а также в ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области». Соответствующие акты внедрения приведены в приложении № 5 диссертации.

Связь темы исследований с планом научно-исследовательских работ. Диссертационная работа проведена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России: от 14.05.2019 г. № Гос. регистрации АААА-А19-119051490148-7 комплексная НИОКР - «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов».

Методология и методы исследования. Базирующаяся на системном анализе и обобщении литературных данных отечественных и зарубежных источников методология диссертационного исследования включала оценку состояния степени изученности объекта исследования, постановку цели и задач, осуществление экспериментальной работы по фармакогностическому исследованию чернушки посевной (*Nigella sativa* L.).

Объектами исследований служила трава чернушки посевной, выращенная в Самарской и Ульяновской областях. Сырье было заготовлено в Ботаническом саду Самарского университета и в Чердаклинском районе Ульяновской области в разные вегетационные периоды. Также для изучения качественного состава и фармакологической активности масла чернушки посевной использовались образцы масел из различных географических зон (Египет, Пакистан, Саудовская Аравия, Россия).

Морфолого-анатомическое исследование травы чернушки посевной проводили с применением методов микроскопии (в проходящем свете и люминесцентной). Исследование химического состава осуществляли методами тонкослойной хроматографии, УФ-, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, использовались пробирочные и гистохимические реакции.

Анализ образцов масел чернушки посевной проводился методом ГХ-МС после перевода жирных кислот в метиловые эфиры. Антиоксидантную активность определяли методом регистрации хемилюминесценции в модельных системах выработки АФК и ПОЛ.

В соответствии с Государственной фармакопеей РФ XIV издания и с применением специализированного программного обеспечения (STATISTICA 8.0 и ChemMetr 1.0.) проводили статистический анализ результатов экспериментов.

Положения, выдвигаемые на защиту:

1. Результаты морфолого-анатомического изучения травы чернушки посевной.
2. Данные по химическому составу травы чернушки посевной, способам препаративного выделения индивидуальных веществ.
3. Результаты сравнительного изучения жирнокислотного состава масел чернушки посевной различных регионов произрастания.
4. Методики качественного анализа травы чернушки посевной с применением методов ТСХ-анализа и спектрофотометрии.
5. Методика количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве чернушки посевной методом дифференциальной спектрофотометрии.
6. Результаты исследования антимикробной и противогрибковой активности, а также определения острой токсичности настойки из травы чернушки посевной.
7. Результаты сравнительного изучения антиоксидантной активности масел чернушки посевной различных регионов произрастания.
8. Обоснование целесообразности комплексной переработки растения и проект ФС на новый вид ЛРС «Чернушки посевной трава».

Степень достоверности. Достоверность диссертационной работы подтверждена результатами, достигнутыми в ходе проведения экспериментов с применением различных современных и классических методов - микроскопии (световой и люминесцентной), хроматографии (тонкослойной, колоночной и газовой), спектрального анализа (УФ-, ЯМР-

спектроскопии и масс-спектрометрии), а также других методов анализа (химических, фармакологических и микробиологических). Результаты экспериментов были подвергнуты статистической обработке.

Личный вклад автора. Результаты данных исследований, представленных в диссертационной работе, получены автором лично. Проведен анатомо-гистологический анализ травы *Nigella sativa* L., установлены характерные диагностические признаки для изучаемого вида сырья. При непосредственном участии автора проведены все фитохимические исследования и изучена фармакологическая активность водно-спиртовых извлечений и настойки из травы, жирных масел чернушки посевной. Разработана технология получения в лабораторных условиях настойки из травы чернушки посевной. Автор является главным разработчиком всей нормативной документации на ЛРС «Чернушки посевной трава» и другой научной продукции.

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности. Представленные в тексте диссертационной работы основные положения полностью соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) по пунктам 2, 3, 5 и 6.

Публикации. Основные результаты диссертационного исследования представлены в 14 печатных публикациях, в том числе 5 статей – в журналах, включенных ВАК в перечень рецензируемых научных изданий, из них 3 статьи в журналах, включенных в МБД; 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе Scopus. Получен патент РФ на изобретение (приложение № 6).

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены на научных конференциях различных уровней: на II Международной научной конференции «Роль метаболизма в совершенствовании биотехнологических средств производства» (г. Москва, 2019 г.); Международной научной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (Москва, 2020 г.); Всероссийской научно-практической онлайн-конференции с международным участием «Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы» (Самара, 2021); Международной научной конференции «90 лет – от растения до лекарственного препарата» (г. Москва, 2021 г.); Международной научно-практической конференции «Фармацевтическая наука XXI века: актуальные проблемы и перспективы их решений» (Уфа, 2022 г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения» (г. Самара, 2020; 2021, 2022).

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 187 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 47 рисунками и 23 таблицами. Содержание работы представлено введением, литературным обзором, главой об объектах и методах исследования, 4 главами экспериментальных исследований, а также выводами и заключением. Список литературы состоит из 192 источников, среди которых 99 на иностранном языке. В конце работы после списка литературы представлены 7 приложений.

Глава 1 - обзор научной литературы в области фармакогностического исследования чернушки посевной и других представителей рода *Nigella*. Рассмотрены вопросы, касающиеся таксономической и ботанической характеристики, ареалов распространения,

особенностей химического состава, фармакологических свойств и применения в традиционной и современной медицине, а также культивирования и агротехники чернушки посевной. Также обсуждены вопросы современного состояния исследований в области стандартизации сырья чернушки посевной и возможностей применения данного вида в медицинских целях.

В главе 2 содержатся подробные сведения об объектах и о методах исследования.

В главе 3 описаны результаты морфолого-анатомического изучения нового вида ЛРС травы чернушки посевной, в том числе с помощью метода люминесцентной микроскопии.

В главе 4 отражены результаты фитохимического исследования травы чернушки посевной, а именно выделения и идентификации индивидуальных соединений, а также обоснование подходов к определению подлинности сырья по ведущей группе БАС – флавоноидам.

Глава 5 посвящена разработке методик качественного и количественного анализа травы чернушки посевной, а также сравнительному анализу жирнокислотного состава масел чернушки посевной различных регионов произрастания с установлением соответствующих критериев доброкачественности.

Глава 6 содержит результаты исследования антимикробной и противогрибковой активности, а также безопасности лабораторных образцов настойки травы чернушки посевной; обсуждаются данные сравнительного изучения антиоксидантных свойств масел семян растения различного происхождения.

Диссертация завершается заключением, выводами, списком литературы и приложениями.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами диссертационного исследования служили образцы травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), культивируемой на территории Самарской и Ульяновской областей с 2020 по 2022 гг. Также изучались образцы масел ч. посевной (масел черного тмина холодного отжима) промышленного производства 2019-2021 гг. различного географического происхождения (Египет, Пакистан, Саудовская Аравия, Россия).

Также исследованы водно-спиртовые извлечения (40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 % спирт) из сырья и экстракционный препарат (настойка травы чернушки 1:5 на 70% спирте этиловом), а также индивидуальные соединения: никотифлорин (3-О-β-D-глюкопиранозид кемпферола), рутин, нигелфлавонозид G (3-О-β-D-[α-L-О-рамнопиранозил-(1→6)]-глюкопиранозид-[(2→1)-О-β-D-глюкопиранозил-(2→1)-О-β-D-глюкопиранозил]-3,5,6,7,4'-пентагидрокси-3'-метоксифлавона), даукостерин (3-О-β-D-глюкопиранозид β-ситостерина), β-ситостерин.

Анатомо-гистологический анализ растительного сырья проводили с использованием цифровых микроскопов марки Motic DM-39C-N9GO (×20, ×40), ZEISS Primo Star и люминесцентного микроскопа «Альтами» ЛЮМ-2 (голубой и желтый светофильтры) с увеличениями ×40, ×100, ×400.

Изучение фитохимического состава травы ч. посевной проводилось методом жидкостной адсорбционной хроматографии с использованием силикагеля марки КСК L 50/100 мкм (Россия), полиамида для колоночной хроматографии (Германия) и сефадекса LH-20 (Швеция). Идентификацию выделенных соединений проводили на основании данных ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР- и УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии. Спектральные характеристики выделенных веществ определяли путем регистрации ^1H -ЯМР и ^{13}C -ЯМР спектров на приборе «JNM-ECX 400» (399,78 и 100,52 МГц, соответственно). Масс-спектры высокого разрешения были сняты на приборе «Bruker micrOTOF II» методом электрораспылительной ионизации (ESI). Регистрацию электронных спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190-600 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм. На различные группы БАС проводились пробирочные реакции (с раствором железа (III) хлорида, раствором алюминия (III) хлорида, раствором диазобензолсульфокислоты, цианидиновая реакция, реакция Вильсона, реакции кислотного и ферментативного гидролиза). Для исследования извлечений из сырья и выделенных веществ методом ТСХ-анализа использовали пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» (Россия).

Изучение компонентного состава масел ч. посевной проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии с использованием газового хроматографа «МАЭСТРО 7820» с масс-спектрометром модели «Agilent 5975» и автоинжектором. В исследовании применялась кварцевая колонка Agilent HP-5ms с параметрами 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм (неподвижная фаза: 5% дифенил - 95% диметилсилоксан).

Настойку из травы ч. посевной получали на 70% спирте этиловом методом модифицированной дробной мацерации в трех экстракторах (в соотношении «сырье – экстрагент» 1:5 после предварительного замачивания сырья двумя объемами экстрагента) с включением заключительной термической стадии – 30 минут при температуре 70°C и последующим отстаиванием в течение 2 суток при температуре 8°C в защищенном от света месте.

Антимикробная и противогрибковая активность извлечений (40%, 70%, 96% спирт) и полученной настойки (70% спирт) из травы ч. посевной была оценена с использованием штаммов *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), а также *Candida albicans* (клинический штамм). Определялась минимальная ингибирующая концентрация методом двойных серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона; препарат сравнения – настойка эвкалипта на 70% спирте. Исследование безопасности разработанного лабораторного образца настойки травы чернушки посевной проводилось путем определения острой токсичности. Антиоксидантная активность жирных масел ч. посевной была изучена на базе ЦНИЛ ФГБОУ ВО БашГМУ Минздрава России в модельных системах, моделирующих процессы выработки активных форм кислорода и перекисного окисления липидов, методом регистрации хемилюминесценции на хемилюминометре ХЛМ-3 (Россия); препарат сравнения - масляный раствор альфа-токоферола ацетата.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Морфолого-анатомическое исследование травы чернушки посевной

В результате исследования определены основные признаки нового вида лекарственного растительного сырья «Чернушки посевной трава». К диагностически значимым особенностям строения вегетативной части побега (стебель, лист) ч. посевной отнесены следующие: ребристая форма стебля с локализацией открытых коллатеральных пучков проводящей системы по его ребрам (рис. 1 А); опушенность поверхности стебля и листа каплевидными двухклеточными волосками (рис. 1 Б); наличие мелких зубцов на краю листа диагностируемых при большом увеличении ($\times 400$). Характерны форма и опушение черешка листа ч. посевной: U-образная форма медиальной части черешка и наличие длинных простых волосков на концах ребер (рис. 1 В, Г) и каплевидных волосков по поверхности всего эпидермиса аналогично другим вегетативным органам (рис. 1 Б).

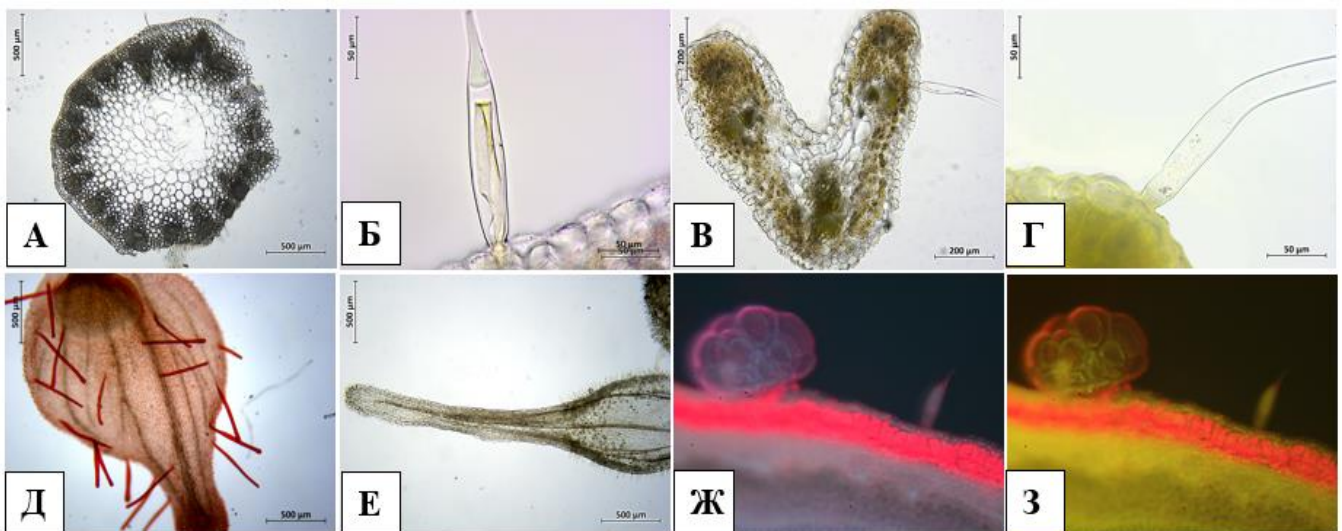


Рисунок 1 – Микропрепараты травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.)

Обозначения: А – стебель, поперечное сечение ($\times 40$); Б – каплевидный волосок ($\times 400$); В – фрагмент поперечного сечения черешка ($\times 100$); Г – длинный простой волосок ($\times 400$); Д – фрагмент верхней губы нектарника, окраска раствором Судана III ($\times 40$); Е – фрагмент нижней губы нектарника ($\times 40$); Ж - трихомы пестика при $\lambda=360$ нм ($\times 100$); З - трихомы пестика при $\lambda=420$ нм ($\times 100$).

Основными диагностически значимыми признаками строения генеративных частей побега (цветка) ч. посевной являются строение и опушение нектарников: двугубые с характерным опушением верхней губы длинными простыми волосками с толстой гладкой кутикулой, окрашиваемой в яркий красный цвет после обработки микропрепарата раствором Судана III; имеется нектароносная ямка, клетки которой имеют яркий желтый цвет, кончик губы также имеет темно-желтую окраску (рис. 1 Д). Нижняя губа имеет овалообразное тело основания с длинным кончиком с сосочковидными трихомами по поверхности (рис. 1 Е). Характерно опушение поверхности завязи 2 типами трихом – многоклеточными округлыми железами и каплевидными простыми волосками, а также наличие под эпидермисом завязи слоя клеток с особой гранулярной структурой протопласта, что проявляется видимым свечением при люминесцентной микроскопии -

яркое розовое при $\lambda=360$ нм, ярко красное при $\lambda=420$ нм, чуть менее выражено свечение оболочек трихом (рис. 1 Ж, З).

При проведении люминесцентной микроскопии выделенных БАС из травы ч. посевной (производных флавонолов) отмечены особенности свечения веществ: голубое и светло-оранжевое свечение при $\lambda=360$ нм и желтое при $\lambda=420$ нм (рис. 2). Данные соединения могут быть локализованы в каплевидных и длинных простых волосках, которыми покрыты основные надземные органы ч. посевной, а также в основной паренхиме стебля.

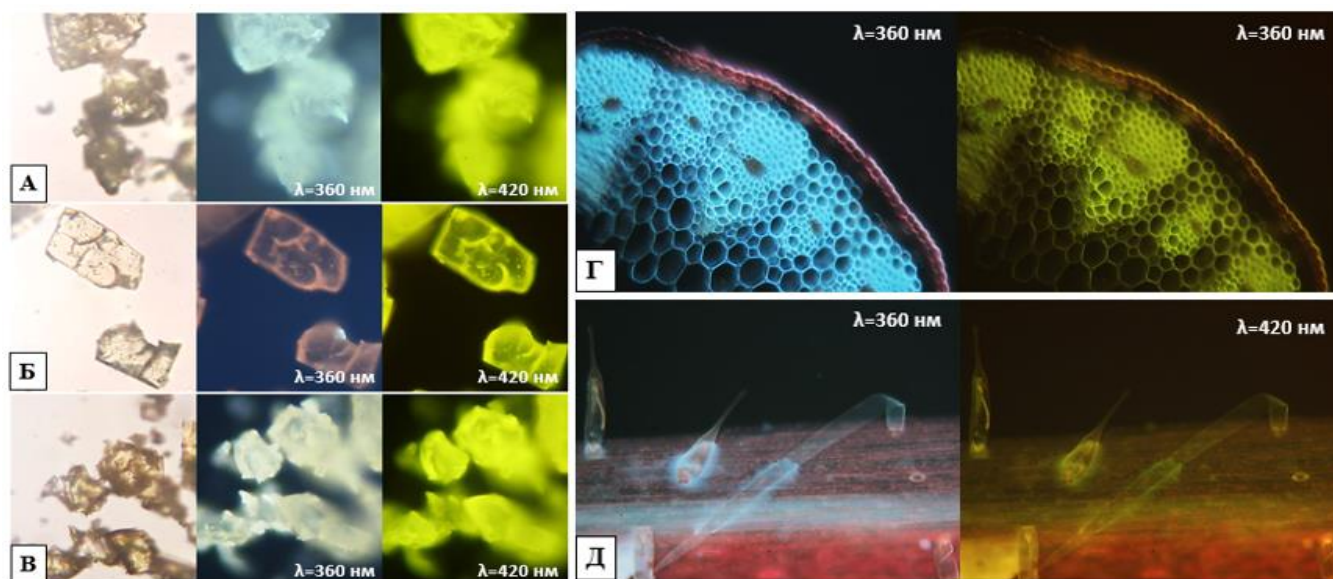


Рисунок 2 – Люминесцентная микроскопия индивидуальных соединений и микропрепаратов травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.)

Обозначения: А – нигелфлавонозид G; Б – рутин; В – никотифлорин; Г – фрагмент стебля ($\times 100$); Д – трихомы стебля ($\times 400$)

2. Исследование химического состава травы чернушки посевной

В ходе исследования химического состава травы ч. посевной методом адсорбционной жидкостной хроматографии впервые выделены и идентифицированы нигелфлавонозид G (3-О- β -D-[α -L-О-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)]-глюкопиранозид-[(2 $\rightarrow$ 1)-О- β -D-глюкопиранозил-(2 $\rightarrow$ 1)-О- β -D-глюкопиранозил]-3,5,6,7,4'-пентагидрокси-3'-метоксифлавона) и даукостерин (3-О- β -D-глюкопиранозид β -ситостерина). Впервые в РФ из травы ч. посевной, культивируемой на территории РФ, выделены: никотифлорин (3-О- β -D-глюкопиранозид кемпферола), рутин (3-О- β -D-глюкопиранозид кверцетина) и β -ситостерин. Причем, 3-О- β -D-[α -L-О-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)]-глюкопиранозид-[(2 $\rightarrow$ 1)-О- β -D-глюкопиранозил-(2 $\rightarrow$ 1)-О- β -D-глюкопиранозил]-3,5,6,7,4'-пентагидрокси-3'-метоксифлавона, названное нами «нигелфлавонозид G», является новым выделенным и идентифицированным природным соединением (рис. 3).

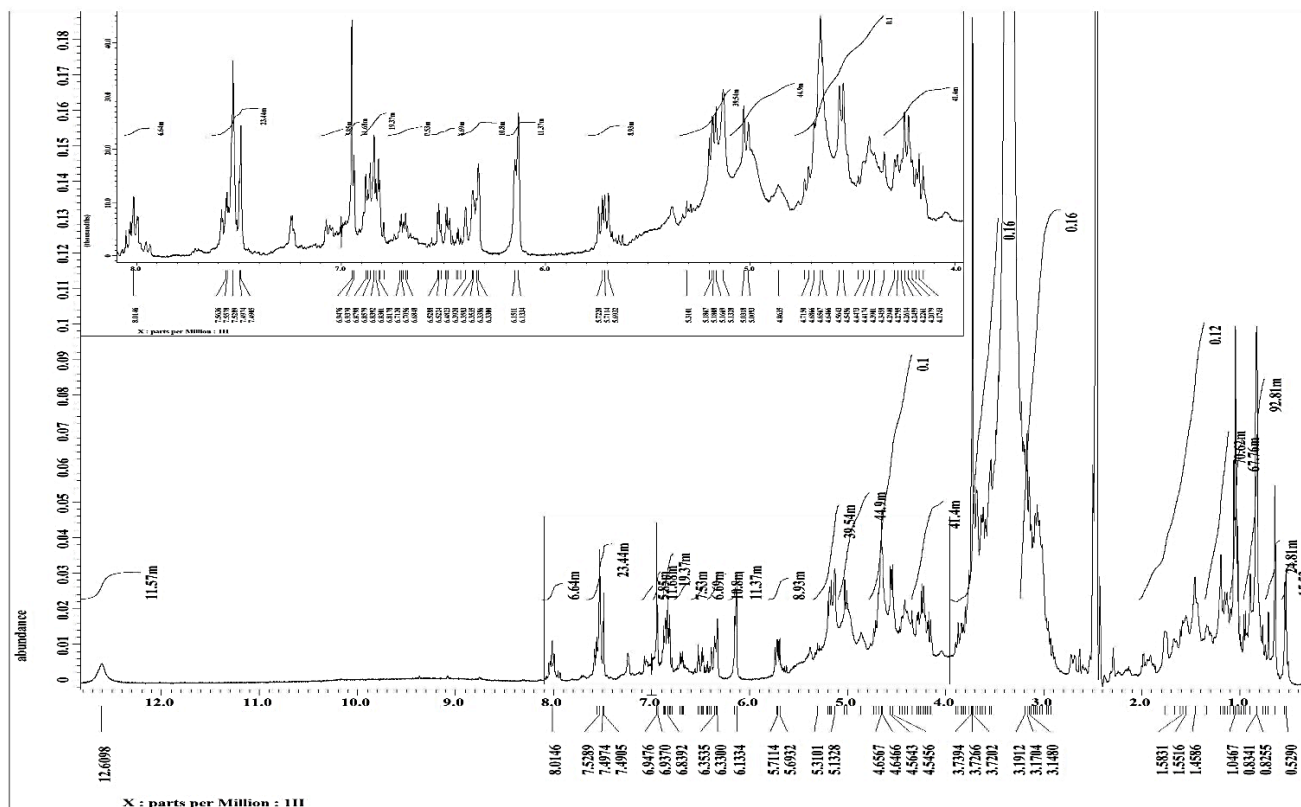
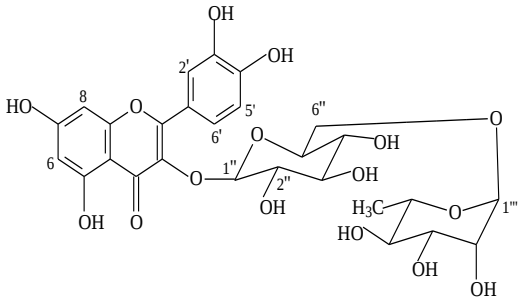
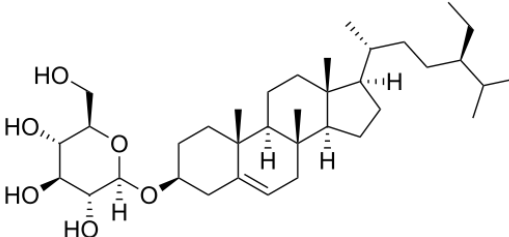
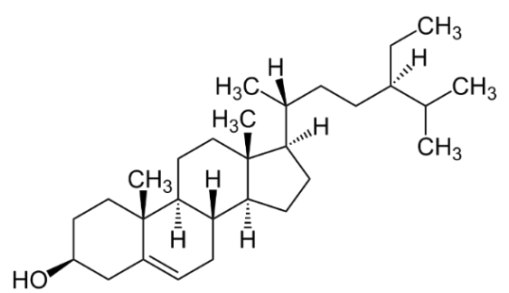


Рисунок 3 - ^1H -ЯМР-спектр в DMSO-d_6 нигелфлавонозида G

Выделенные из травы ч. посевной и идентифицированные вещества (3 флавоноидной и 2 стероидной природы) приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Характеристика веществ, выделенных из травы ч. посевной

№ п/п	Название соединения, формула	Структурная формула	Описание вещества
1.	Никотифлорин $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$		Кристаллическое вещество светло- желтого цвета
2.	Нигелфлавонозид G $\text{C}_{40}\text{H}_{52}\text{O}_{27}$		Аморфное вещество желтого цвета

3.	Рутин $C_{27}H_{30}O_{16}$		Кристаллическое вещество желтого цвета с зеленоватым оттенком
4.	Даукостерин $C_{35}H_{60}O_6$		Кристаллическое вещество белого цвета
5.	β -Ситостерин $C_{29}H_{50}O$		Кристаллическое вещество белого цвета

3. Разработка подходов к стандартизации травы и масла чернушки посевной

3.1. Качественный анализ травы чернушки посевной

Фитохимический анализ травы ч. посевной показал, что для качественного определения БАС в сырье и соответствующих экстракционных препаратах рационально использовать ТСХ-анализ в системе «трихлорметан: спирт этиловый: вода» (25:18:2). После обработки хроматограммы 3% спиртовым раствором алюминия хлорида ($AlCl_3$) и просмотре в УФ-свете при длине волны 365 нм должны обнаруживаться: зона адсорбции с желто-зеленой флуоресценцией на уровне адсорбции СО рутина со значением R_f около 0,40, зона адсорбции с зеленой флуоресценцией на уровне адсорбции СО никотифлорина со значением R_f около 0,48 (рис. 4). Допускается наличие других пятен меньшей интенсивности свечения.

При отсутствии СО никотифлорина предложен показатель R_{st} - отношение коэффициента удерживания никотифлорина ($R_f=0,48$) к коэффициенту удерживания рутина ($R_f=0,40$), который должен быть равен 1,20 (рис. 4).

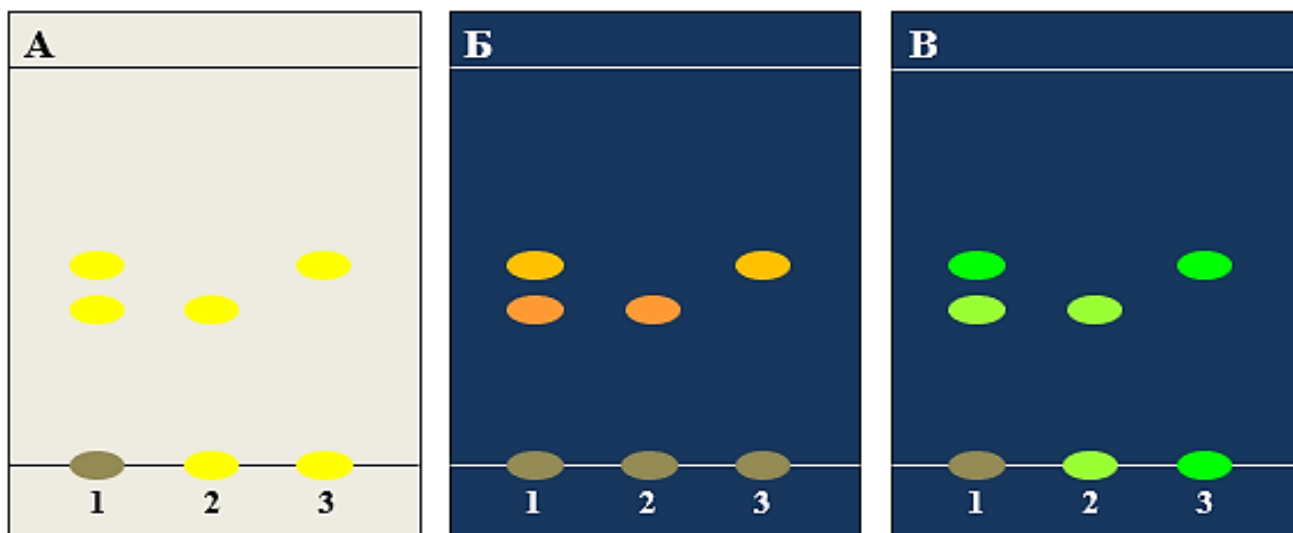


Рисунок 4 – Схемы хроматограмм водно-спиртового извлечения травы ч. посевной в системе растворителей трихлорметан: этанол: вода (25:18:2): А – детекция в видимом свете; Б – детекция в УФ-свете (365 нм); В - детекция после обработки спиртовым раствором хлорида алюминия в УФ-свете (365 нм)

Обозначения: 1 – 70% водно-спиртовое извлечение; 2 – СО рутина, 3 – СО никотифлорина

Электронные спектры водно-спиртовых извлечений из травы ч. посевной имеют характерные для флавонолов максимумы поглощения (табл. 2).

Таблица 2 – Значения максимумов поглощения испытуемых растворов извлечений травы ч. посевной

Метод спектрофотометрии	Аналитический эффект
Прямой	$\lambda_{max1} = 266 \pm 2$ нм $\lambda_{max2} = 340 \pm 2$ нм
Прямой + 3% спиртовой раствор $AlCl_3$	$\lambda_{max1} = 275 \pm 2$ нм $\lambda_{max2} = 340 \pm 2$ нм $\lambda_{max3} = 408 \pm 2$ нм
Дифференциальный	$\lambda_{max3} = 410 \pm 2$ нм

В присутствии раствора $AlCl_3$ наблюдается характерный батохромный сдвиг в коротковолновой (невыраженный) и длинноволновой области (выраженный) в 275 ± 2 нм и 408 ± 2 нм, также наблюдается отдельный максимум 340 ± 2 нм (рис. 5). В дифференциальном варианте электронного спектра отмечается характерный максимум поглощения в 410 ± 2 нм для извлечений травы ч. посевной, что коррелирует с профилем спектров поглощения СО рутина (рис. 6).

С учетом проведенного фитохимического исследования с выделением и идентификацией рутина в составе травы ч. посевной предложено использовать СО рутина для пересчёта на данное вещество при аналитической длине волны 412 нм (дифференциальный вариант).

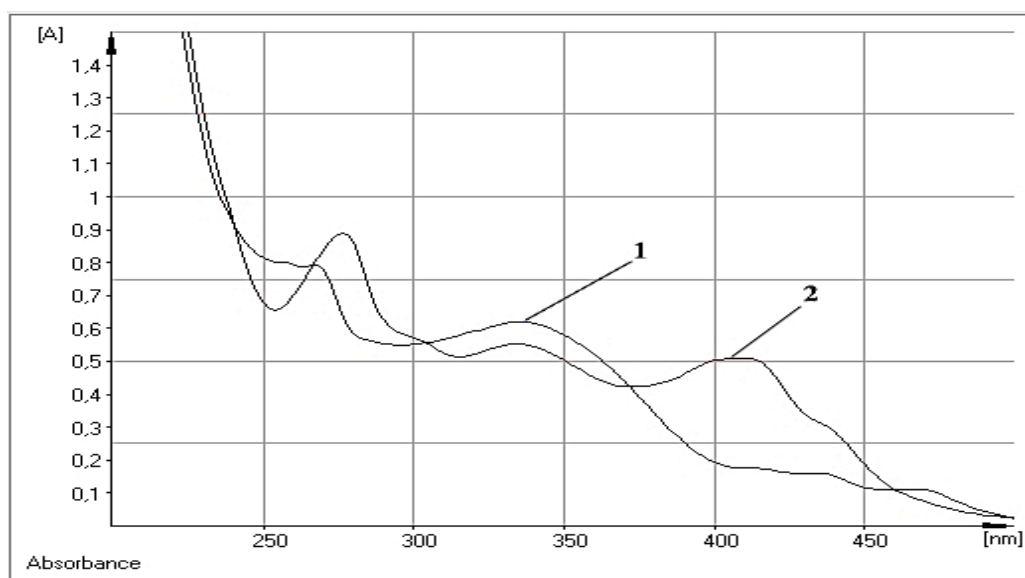


Рисунок 5 – Спектры поглощения водно-спиртового извлечения из травы ч. посевной

Обозначения: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением $AlCl_3$

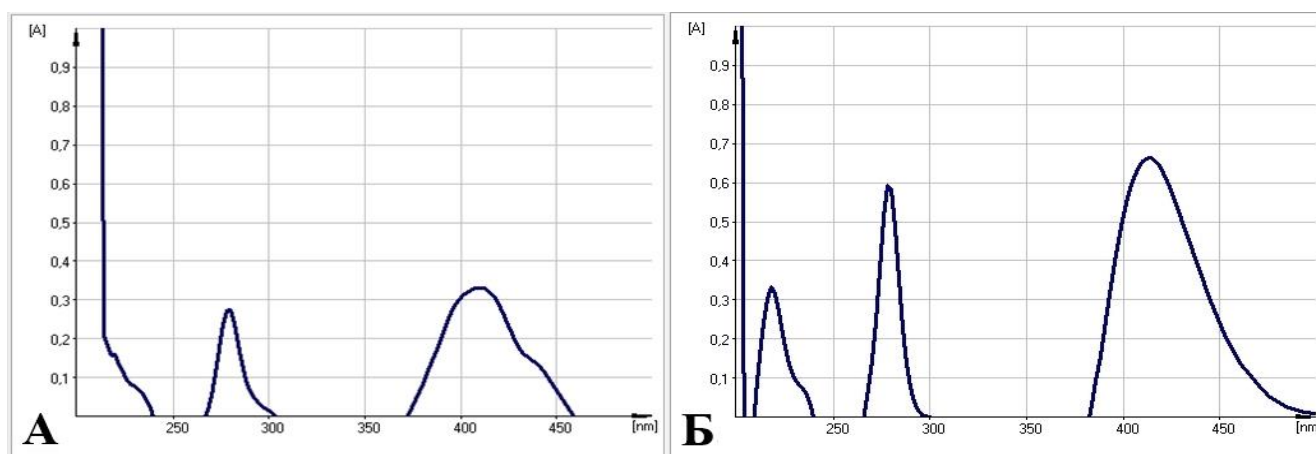


Рисунок 6 – Дифференциальные спектры поглощения водно-спиртового извлечения из травы ч. посевной и раствора СО рутина

Обозначения: А – раствор извлечения; Б – раствор СО рутина

3.2. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве чернушки посевной

С целью разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в сырье были экспериментально определены основные параметры пробоподготовки. Оптимальными условиями экстракции на выход БАС из сырья установлены: однократное извлечение 70 % спиртом этиловым на кипящей водяной бане в течение 45 минут в соотношении «сырьё-экстрагент» - 1:30 и степени измельчения – 2 мм.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве чернушки посевной. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70 % этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до

$\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 мин. Затем ее охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр «красная полоса» (раствор А испытуемого извлечения). 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (раствор Б испытуемого извлечения).

Приготовление раствора СО рутина. Около 0,02 г (т. н.) рутина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл спирта 70% при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора спирта 70% до метки (раствор А рутина). 2 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом 96 % (раствор Б рутина).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого извлечения измеряют на спектрофотометре при длине волны 412 нм через 40 минут после приготовления. В качестве раствора сравнения используют раствор А испытуемого извлечения. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б рутина в тех же условиях. В качестве раствора сравнения используют 2 мл раствора А рутина, доведенный спиртом 96 % в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в процентах (X) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$x = \frac{A * m_0 * 30 * 25 * 2 * 100 * 100}{A_0 * m * 50 * 25 * (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора СО рутина;

m – масса сырья, г;

m_0 – масса СО рутина, г;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Также в целях количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в случае отсутствия СО рутина целесообразно использовать экспериментально рассчитанное значение удельного показателя поглощения при $\lambda=410\pm 2$ нм равное 231.

Метрологические характеристики разработанной методики результатов опытов 11 экспериментальных проб из одной серии свидетельствуют об удовлетворительной воспроизводимости результатов анализа (табл. 3). Ошибка единичного определения суммы флавоноидов в пересчёте на рутин в сырье составляет $\pm 13,82\%$, а ошибка среднего значения составляет $\pm 4,17\%$ при доверительной вероятности 95%.

Таблица 3 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в траве ч. посевной

n	f	$\bar{X}, \%$	S^2	S	$S_{\bar{X}}$	P, %	T(P, f)	$\pm \Delta X$	$\pm \Delta \bar{X}$	E, %	$\bar{E}, \%$
11	10	1,17	0,0053	0,073	0,022	95	2,23	0,16	0,05	$\pm 13,82$	$\pm 4,17$

Валидационная оценка аналитической методики проводилась по следующим основным параметрам: специфичность, линейность, правильность. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов сырья и СО рутина с $AlCl_3$. Линейную зависимость оптической плотности от концентрации в диапазоне от 8 до 41 мкг/мл СО рутина определяли в серии из 4 проб растворов указанного образца. Коэффициент детерминации составил 0,9956.

Правильность разработанной методики определяли методом добавок. Систематическая ошибка анализа (δ) составила – 4,22 %. Погрешность, определяемая для проб с добавками рутина, находилась в пределах относительной погрешности единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической погрешности.

С использованием разработанной методики были проанализированы образцы ч. посевной из Ульяновской и Самарской области; определено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин варьирует от $1,17 \pm 0,16$ % до $1,71 \pm 0,22$ %. В качестве нижнего предела для сырья рекомендовано содержание флавоноидов: не менее 1,0 %. Данная методика количественного определения была включена в проект разработанной фармакопейной статьи на ЛРС «Чернушки посевная трава».

3.4. Сравнительный анализ жирнокислотного состава масел чернушки посевной различных регионов произрастания

Методом ГХ-МС был установлен состав жирных масел ч. посевной (Египет, Пакистан, Саудовская Аравия) и идентифицировано 29 компонентов масел (жирные кислоты и терпеноиды). В жирнокислотном профиле характерно доминирование ненасыщенных жирных кислот (до 90 % и выше) – линолевой, олеиновой, незначительно содержание эйкозодиеновой и в минорном количестве представлена линоленовая кислота. Также присутствуют насыщенные жирные кислоты (в большинстве образцов - менее 10 %) – пальмитиновая и стеариновая. Всего обнаружено 15 жирных кислот (количество идентифицированных жирных кислот в образцах варьировало).

Сопоставление полученных и литературных данных по количественному содержанию жирных кислот позволили предложить в качестве критерия качества масла ч. посевной следующий жирнокислотный профиль: линолевой кислоты – 48,0%-65,0%, олеиновой кислоты – 23,0-32,0%, пальмитиновой кислоты – 6,0%-13,0%, стеариновой кислоты - 1,3%-2,7%, эйкозодиеновой кислоты - 0,5%-2,5% (от общего содержания в жирном масле ч. посевной). Проведение ГХ-МС-анализа в предложенных условиях можно рекомендовать для подтверждения подлинности жирного масла ч. посевной, а установленный жирнокислотный профиль как критерий доброкачественности масла.

4. Обоснование перспективности использования в медицинской практике лекарственных препаратов на основе травы и масла чернушки посевной

4.1. Изучение антимикробной и противогрибковой активности водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной

В процессе анализа антимикробной активности водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной были определены условия получения лекарственной формы – настойки. В качестве экстрагента для изготовления настойки была выбрана 70%

концентрация спирта этилового как обеспечивающая максимальный выход комплекса БАС (в частности, флавоноидов). Изученные и рекомендованные параметры получения настойки травы чернушки посевной: экстрагирование спиртом этиловым 70% в соотношении «сырье – экстрагент» (1:5) методом дробной мацерации с включением заключительной термической стадии (30 минут при температуре 70°C), - обеспечивают наибольший антимикробный эффект в отношении изучаемых штаммов микроорганизмов, в особенности штамма *P. aeruginosa* (рис 7).

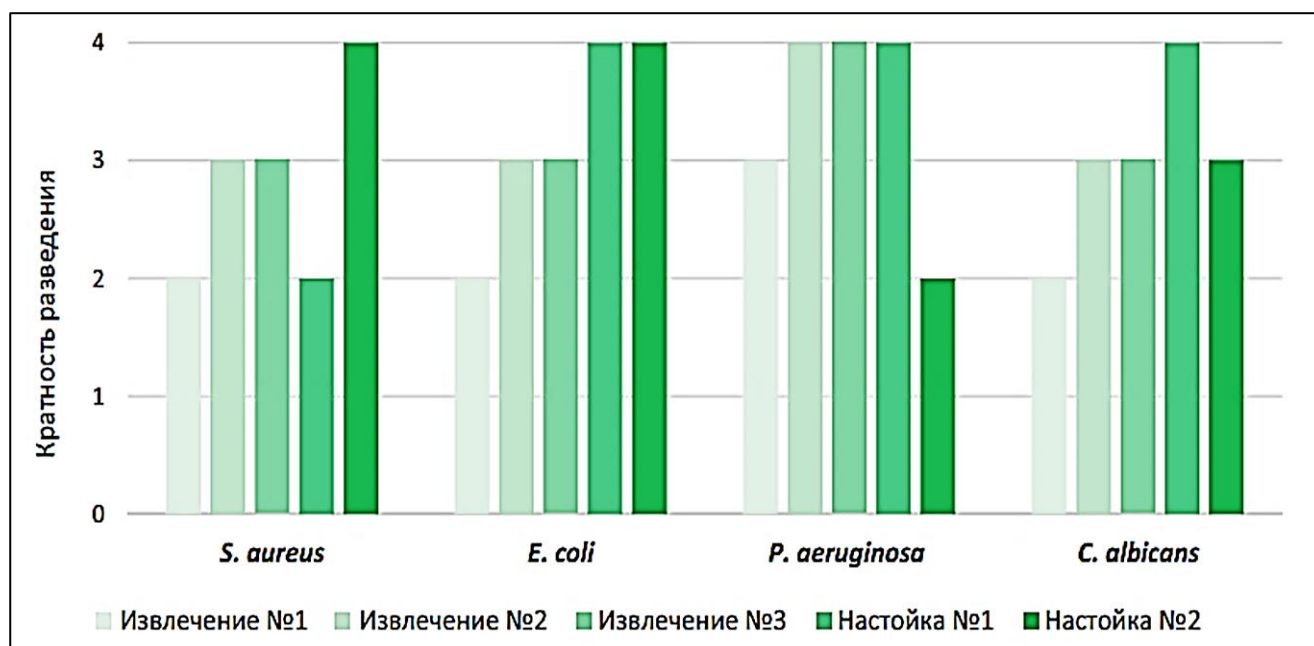


Рисунок 7 – Сравнительная диаграмма антибактериальной и противогрибковой активности спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной (по оси абсцисс – порядковый номер разведения, при n=3)

Обозначения: извлечение №1- на 40 % спирте; извлечение №2- на 70 % спирте; извлечение №3- на 96 % спирте; настойка №1 – настойка травы ч. посевной; настойка №2 – настойка эвкалипта

Для разработанной настойки травы ч. посевной установлены противомикробный и противогрибковый эффекты в отношении *P. aeruginosa*, *E. coli* и *C. albicans* – ингибирование роста штаммов до 16-кратного разведения. Препарат сравнения – настойка эвкалипта промышленного производства, показал высокую активность в отношении *S. aureus* и *E. coli* – ингибирование роста до 16-кратного разведения, но в отношении *P. aeruginosa* и *C. albicans* имеет слабую активность в сравнении с тестируемым препаратом - 4-х и 8-кратное разведение (рис. 7).

Полученные данные могут служить основанием для создания новых антибактериальных и противогрибковых препаратов на основе травы ч. посевной, в том числе в рамках концепции комплексного и безотходного производства.

4.2. Изучение безопасности настойки травы чернушки посевной

Одним из основных критериев оценки безопасности разрабатываемых лекарственных препаратов является определение острой токсичности. Исследование острой токсичности проводилось для разрабатываемого препарата «Чернушки травы настойка» на двух

группах лабораторных крыс, эксперимент проводился в течение двух недель. За время эксперимента летальных исходов зафиксировано не было, также на протяжении всего исследования вес животных экспериментальной и контрольной групп практически не отличался. Таким образом, исследуемый препарат в соответствии с государственными требованиями к безопасности относится к III классу токсичности (умеренно опасные вещества) как спиртосодержащий экстракционный препарат.

4.3. Изучение антиоксидантной активности жирного масла чернушки посевной

Учитывая большое количество обнаруженных эссенциальных жирных кислот, было проведено измерение антиоксидантной активности жирных масел чернушки посевной в модельных системах (МС), моделирующих процессы выработки АФК и ПОЛ, методом регистрации хемилюминесценции (ХЛ). В качестве образцов контроля и препарата-сравнения служили физиологический раствор и раствор альфа-токоферола ацетата. С использованием данного метода установлено существенное ингибирующее влияние исследуемых образцов масел ч. посевной на кинетику свободнорадикального окисления в системах АФК и ПОЛ. Показательная характеристика хемилюминесценции – светосумма свечения, была меньшей по сравнению с контролем, контроль+ДМСО и препаратом сравнения (альфа-токоферола ацетатом) во всех 6 образцах изучаемых масел ч. посевной, определен образец с наилучшими показателями (рис. 8). Угнетение ХЛ зависело от концентрации жирных масел в МС.

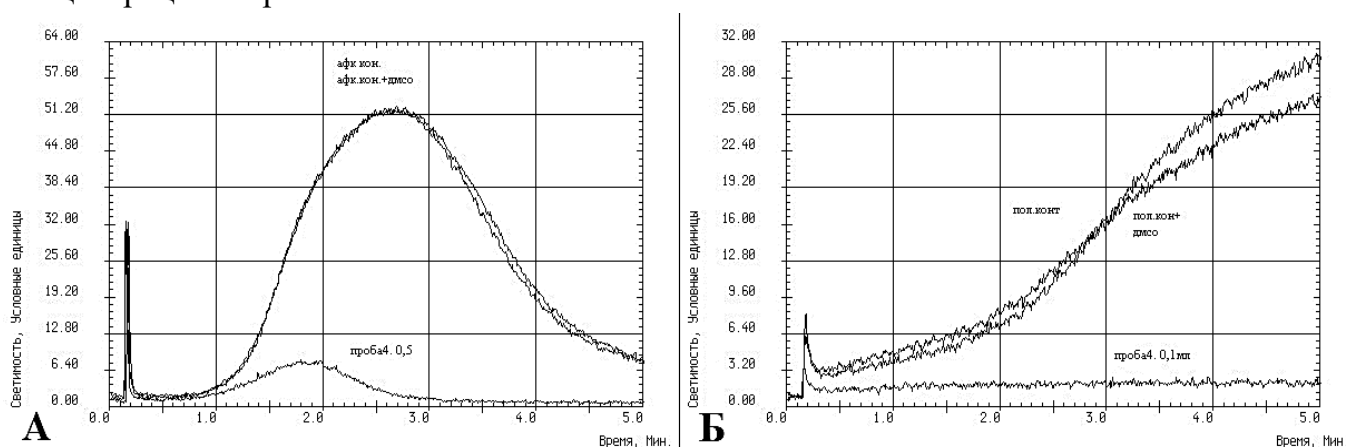


Рисунок 8 – Влияние образца масла ч. посевной (Саудовская Аравия) на процессы СРО в модельных системах

Обозначения: А – в модельной системе АФК; Б – в модельной системе ПОЛ

По величине светосуммы отмечено, что образцы масла ч. посевной (без учета образца масла из России) в среднем 5,5 раз активнее подавляют процессы СРО в системе АФК, в 2,2 раза активнее – в системе ПОЛ, чем препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата). Выявлено существенное различие свойств жирных масел отечественного и зарубежного производства, что может быть связано с особенностями технологии получения жирного масла.

Полученные данные будут служить основой для дальнейшего использования жирного масла чернушки в медицинских целях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное фармакогностическое исследование чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) позволило сделать следующие **общие выводы**:

1. В результате морфолого-анатомического исследования травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) были получены следующие результаты:

- для цветков чернушки посевной в качестве диагностически значимых особенностей строения отмечены: двугубый нектарник с характерным опушением верхней и нижней губы; опушение поверхности завязи многоклеточными железками, и каплевидными простыми волосками, а также наличие под эпидермисом завязи слоя клеток, имеющих особую гранулярную структуру протопласта;

- для вегетативной части побега (стебель, листья) чернушки посевной в качестве диагностически значимых особенностей строения отмечены: каплевидные двухклеточные волоски; мелкие зубцы на краю листа; U-образная форма медиальной части черешка на поперечном сечении и наличие длинных простых волосков на концах ребер;

- вещества флавоноидной природы на микропрепаратах имеют схожее свечение: при $\lambda=360$ нм - голубое или светло-оранжевое свечение и при $\lambda=420$ нм – желтое, и локализованы в диагностически специфичных трихомах (каплевидных и длинных простых волосках, которыми покрыты основные надземные органы чернушки посевной), а также в основной паренхиме стебля.

2. Впервые из травы чернушки посевной были выделены и идентифицированы вещества с использованием хроматографических (колоночной хроматографии, ТСХ) и спектральных (ЯМР-, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии) методов - *нигелфлавонозид G* (3-O- β -D-[α -L-O-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)]-глюкопиранозид-[(2 $\rightarrow$ 1)-O- β -D-глюкопиранозил-(2 $\rightarrow$ 1)-O- β -D-глюкопиранозил]-3,5,6,7,4'-пентагидрокси-3'-метокси флавона), который является новым природным соединением, и *даукостерин* (3-O- β -D-глюкопиранозид β -ситостерина). Впервые в РФ из травы чернушки посевной выделены и идентифицированы вещества - *никотифлорин* (3-O- β -D-глюкопиранозид кемпферола), *рутин* и *β -ситостерин*.

3. Обоснована целесообразность определения никотифлорина и рутина методом ТСХ для травы чернушки посевной с использованием в качестве веществ-свидетелей стандартных образцов рутина и никотифлорина. Определены характерные максимумы поглощения в диапазоне УФ- и видимого излучения извлечений на 70% спирте этиловом травы чернушки посевной: при прямой спектрофотометрии - 266 ± 2 нм и 340 ± 2 нм, при добавлении 3% спиртового раствора $AlCl_3$ - 275 ± 2 нм, 340 ± 2 нм и 408 ± 2 нм, в дифференциальном варианте – при 410 ± 2 нм.

4. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве чернушки посевной в пересчете на рутин методом дифференциальной спектрофотометрии при 412 нм. Содержание суммы флавоноидов варьирует в зависимости от географического расположения и условий произрастания от $1,17\pm 0,16$ % (Самарская область) до $1,71\pm 0,22$ % (Ульяновская область). Установлен показатель содержания флавоноидов в пересчете на рутин в траве чернушки посевной: не менее 1,0 %.

5. Установлены и рекомендованы критерии оценки доброкачественности жирных масел чернушки посевной в ходе сравнительного исследования масел методом газовой хромато-масс-спектрометрии: линолевой кислоты ($C_{18:2}$) – 48,0-65,0 %, олеиновой кислоты ($C_{18:1}$) – 23,0-32,0 %, пальмитиновой кислоты ($C_{16:0}$) – 6,0-13,0 %, стеариновой кислоты ($C_{18:0}$) – 1,3-2,7 %, эйкозодиеновой кислоты ($C_{20:2}$) – 0,5-2,5 %.

6. Проведено исследование антимикробной (в отношении *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) и противогрибковой (в отношении *Candida albicans*) активности в условиях *in vitro* водно-спиртовых извлечений и предложенной настойки из травы чернушки посевной, для которой установлены противомикробный и противогрибковый эффекты в отношении *P. aeruginosa*, *E. coli* и *C. albicans* – ингибирование роста штаммов до 16-кратного разведения. Определен III класс токсичности (умерено опасные вещества) для настойки из травы чернушки посевной.

7. Проведено сравнительное исследование антиоксидантных свойств масел чернушки посевной в модельных системах, моделирующих процессы выработки активных форм кислорода и перекисного окисления липидов методом регистрации хемилюминесценции *in vitro*, в ходе которого было выявлено: масла чернушки посевной по величине светосуммы в среднем в 5,5 раза активнее подавляют процессы свободнорадикального окисления в системе АФК и в 2,2 раза активнее – в системе ПОЛ чем препарат-сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата).

8. Разработан проект фармакопейной статьи на новый вид ЛРС «Чернушки посевной трава» с учетом перспектив комплексной переработки чернушки посевной.

Практические рекомендации. Разработанные в ходе диссертационной работы подходы к стандартизации сырья – травы и жирного масла семян чернушки посевной, – служат объективной и качественной оценке указанных объектов и решают вопросы их идентификации. Проект фармакопейной статьи «Чернушки посевной трава» рекомендуется для включения в ГФ РФ. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, могут быть использованы в центрах сертификации и контроля качества ЛС и на фармацевтических предприятиях, а также в учебном процессе по дисциплинам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия».

Перспективы дальнейшей разработки темы. Проведение диссертационной работы имеет научно-практическое значение для реализации задач как фармакогностического, так и в целом фармацевтического анализа, для последующего внедрения перспективных представителей рода Чернушка в фармацевтическую практику, а также для дальнейшей разработки унифицированных и научно-обоснованных подходов к стандартизации других видов ЛРС и разработке новых ЛП.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мубинов, А.Р. Сравнительное исследование *in vitro* антиоксидантной активности некоторых перспективных жирных масел / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин, Г.М. Латыпова, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Катаев, Т.К. Рязанова // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2021. – № 5-6. – С. 23-29.
2. Мубинов, А.Р. Жирнокислотный профиль и антиоксидантная активность жирного масла чернушки посевной / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин, Г.М. Латыпова, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Катаев, Т.К. Рязанова // **Химико-фармацевтический журнал**. – 2021. – Т. 55. – № 8. – С. 45-49.
3. Мубинов, А.Р. Разработка подходов к стандартизации травы чернушки посевной / А.Р. Мубинов, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева // **Фармация**. – 2021. – Т. 70. – № 8. – С. 36-41.
4. Мубинов, А.Р. Фитохимические и микробиологические аспекты изучения травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) / А.Р. Мубинов, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, С.Д. Колпакова, А.В. Жестков // **Фармация и фармакология**. – 2022. – Т. 10. – № 3. – С. 244-254.
5. Мубинов, А.Р. Изучение возможности комплексной переработки чернушки посевной / А. Р. Мубинов, Е. В. Авдеева, Г.М. Латыпова, Ю.Л. Борцова // **Медицинский вестник Башкортостана**. – 2022. – Т. 17. – № 6. – С 34-38.
6. Мубинов, А.Р. Изучение жирнокислотного состава масла чёрного тмина / А.Р. Мубинов, Т.К. Рязанова, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева // II Международная научная конференция "Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства" по направлению "Метаболомика и качество жизни", Москва, 06–07 июня 2019 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2019. – С. 181-186.
7. Мубинов, А.Р. Жирнокислотный состав как критерий подлинности некоторых ценных растительных масел / А.Р. Мубинов // Аспирантские чтения - 2020. Молодые ученые: научные исследования и инновации: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию ЗДН РФ проф. А.А. Лебедева, Самара, 15 октября 2020 года. – Самара: ООО «СамЛюксПринт», Самарский государственный медицинский университет, 2020. – С. 263-266.
8. Мубинов, А.Р. Сравнительное исследование жирнокислотного состава масел чёрного тмина и аргании колючей / А.Р. Мубинов // Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты: XIV Всероссийская (88-я Итоговая) студенческая научная конференция СНО с международным участием, посвященная 90-ю Клиник СамГМУ, Самара, 14 октября 2020 года.- Самара: ООО «Офорт», 2020.- С. 263-264.
9. Kurkin, V.A. Comparative research of fatty acid composition and volatile components of fatty oils from seeds of *Nigella sativa* and *Argania spinosa* / V.A. Kurkin, A.R. Mubinov, E.V. Avdeeva, T.K. Ryazanova // **Research Journal of Pharmacy and Technology**. – 2021. – Vol. 14. – No 3. – P. 1586-1590.
10. Мубинов, А.Р. Определение *in vitro* антиоксидантной активности жирного масла Черного тмина / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин, Г.М. Латыпова, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Катаев, Т.К. Рязанова // 90 лет - от растения до лекарственного

препарата: достижения и перспективы: Сборник материалов юбилейной международной научной конференции, Москва, 10–11 июня 2021 года. – Москва: ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2021. – С. 392-398.

11. Мубинов, А.Р. Фитохимическое исследование травы чернушки посевной / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин // Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы: Сборник материалов, Самара, 26–27 октября 2021 года. – Самара: Самарский государственный медицинский университет, 2021. – С. 376-382.

12. Мубинов, А.Р. Определение *in vitro* антиоксидантной активности жирного и эфирного масел / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин, Г.М. Латыпова, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Катаев, Т.К. Рязанова // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: Сборник материалов IX Международной научной конференции молодых учёных, Москва, 16–17 декабря 2021 года. – Москва: ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений", 2021. – С. 351-356.

13. Мубинов, А.Р. Сравнительное изучение *in vitro* антиоксидантной активности жирного и эфирного масел / А.Р. Мубинов // Аспирантские чтения - 2021: молодые ученые - медицине: Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Самара, 13–14 октября 2021 года / Под редакцией А.В. Колсанова и Г.П. Котельникова. – г. Самара: ООО "СамЛюксПринт", 2021. – С. 280-283.

14. Мубинов, А.Р. Чернушка посевная как перспективный сырьевой источник флавоноидов / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Сборник материалов XI Международного симпозиума, Москва, 11–15 апреля 2022 года / Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. – Москва: Издательство "Перо", 2022. – С. 203.

Патенты

1. Патент № 2786440 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/71. Способ количественного определения суммы флавоноидов в траве чернушки посевной: № 2022105524: заявл. 01.03.2022: опубл. 21.12.2022 / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Выражаю искреннюю благодарность за систематическую методическую и организационную помощь при выполнении диссертационного исследования заведующему кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, д.фарм.н., ЗРВИШ РФ, профессору В.А. Куркину.