

*На правах рукописи*

**Куличенко Евгения Олеговна**

**Биологически активные соединения в растениях вида космея  
дваждыперистая (*Cosmos bipinnatus* Cav.)**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

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

Москва – 2025

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте– филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре органической химии.

**Научный руководитель:**

**Оганесян Эдуард Тоникович** - доктор фармацевтических наук, профессор, заслуженный работник ВШ РФ, заведующий кафедрой органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Официальные оппоненты:**

**Дроздова Ирина Леонидовна** - доктор фармацевтических наук, доцент, и.о. заведующего кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Нестерова Ольга Владимировна** - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. в \_\_ часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.021 на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.6. Электронная версия диссертации, автореферат и объявление о защите размещены на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки РФ (<http://vak.ed.gov.ru/>) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**Ученый секретарь**  
диссертационного совета ПДС 0300.021  
кандидат химических наук, доцент

**Левицкая Ольга Валерьевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Современный рынок лекарственных препаратов представлен большим количеством эффективных синтетических препаратов, применение которых часто сопряжено с большим количеством серьезных побочных эффектов. Большое количество потребителей, выбирая между препаратами растительного и синтетического происхождения делают выбор в пользу первых, обосновывая свой выбор отсутствием побочных эффектов, высокой эффективностью, уже имеющимся опытом применения (*Сакаева И. В. и др., 2013; Свистушкин В.М. и др., 2022*). Потенциальная фармакологическая активность большинства лекарственных растений, используемых в медицине, обоснована и подтверждена экспериментально, благодаря чему в настоящее время большую долю фармацевтического рынка составляют препараты растительного происхождения (*Оленина Н.Г. и др., 2018; Свистушкин В.М. и др., 2022*). Доказано, что суммарные субстанции из растительного сырья обладают более выраженным эффектом, чем индивидуальные вещества той же природы. Множество синтетических соединений получено путем полусинтеза на основе природных или являются их аналогами (*Sen T. et al., 2015*).

В качестве лекарственных средств растительного происхождения используются такие фармакологические группы препаратов, как венотоники (препараты, содержащие флавоноиды рутин, гесперидин, диосмин, нарингенин и др), холиноблокаторы (алкалоиды атропин, скополамин), анальгетики (морфин), спазмолитики (папаверин), сердечные гликозиды (дигоксин, строфантин) и многие другие (*Сакаева И. В. и др., 2013; Sen T. et al., 2015*).

Богатая флора нашей страны обладает большим запасом дикорастущих и декоративных видов растений, лечебные свойства и химический состав которых мало изучены. Возможно, именно они могут являться перспективными источниками для получения биологически активных веществ. С этой точки

зрения определённый интерес представляет космея дваждыперистая (*Cosmos bipinnatus* Cav.).

Представители рода *Cosmos* используются в медицинской практике Северной и Южной Америки, Японии, Китае, Тайланде и Индии. В мировой практике используются семена и надземные части представителей рода *Cosmos* Cav. при таких проявлениях малярии, как желтуха, перемежающаяся лихорадка, спленомегалия, в качестве общетонизирующего, желчегонного, гепатопротекторного средства, при головной боли, расстройствах желудка и как инсектицидное средство (Botsaris A.S., 2007; Kaisoon O. et al., 2012; Olajuyigbe O. et al., 2014).

Исходя из всего вышеописанного считаем, что изучение космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.), характеризующейся широким спектром фармакологического действия и доступностью как сырьевого источника, представляет значительный интерес и является актуальной проблемой.

**Степень разработанности темы исследования.** Космея дваждыперистая (*Cosmos bipinnatus* Cav.) – легко культивируемое растение, характеризующееся обширной биомассой. Химический состав космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.), согласно данным литературы, интересен по содержанию биологически активных веществ, которые представлены, в основном, флавоноидами, эфирными маслами (монотерпены, сесквитерпены), тритерпеновыми гликозидами и другими, но они изучены недостаточно. В литературе отсутствуют сведения о получении активных суммарных субстанций из космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) и исследовании их фармакологической активности. Отсутствуют сведения о качественном и количественном содержании флавоноидов и полисахаридном составе космеи дваждыперистой, произрастающей на Северном Кавказе. Отсутствуют сведения об изучении физико-химических свойств полисахаридов космеи дваждыперистой и их сорбционной активности.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности.**

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки) по следующим областям исследования:

б. Изучение лекарственного растительного сырья с целью выделения, установление строения индивидуальных биологически активных веществ, а также разработка методов стандартизации и методик контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов на его основе.

**Объект и предмет исследования.** В рамках диссертационной работы объектом исследования являлось собранное в фазу вегетации и высушенное растительное сырье – трава космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.). Предмет диссертационного исследования – исследование химического состава и возможного спектра биологической активности травы и отдельных частей трава космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.).

**Цель и задачи исследования.** На основании изложенных выше сведений можно сделать вывод о недостаточном уровне изученности биологической активности соединений космеи дваждыперистой с целью возможного практического использования в медицине и фармации. В этой связи *целью нашей работы является проведение углубленных химических исследований основных классов биологически активных соединений трех сортов космеи дваждыперистой («Dazzler», «Purity», «Rosea»), а также изучение спектра возможной биологической активности суммарных субстанций, полученных из космеи дваждыперистой.*

Для реализации цели исследования сформулированы следующие задачи:

1. изучить основные группы биологически активных соединений, а именно, флавоноидов, органических кислот, иридоидов, антоцианов, катехинов, аминокислот, макро- и микроэлементов, антиоксидантов, полисахаридов и др.;

2. определить количественное содержание аминокислот, макро- и микроэлементов, антиоксидантов, органических кислот, антоцианов, фенольных соединений, флавоноидов и суммарных фракций полисахаридов;
3. выделить суммарные фракции полисахаридов и изучить физические и химические свойства пектиновых веществ;
4. изучить полифенольный состав цветков космеи дваждыперистой и количественно определить содержание некоторых их компонентов;
5. разработать методику количественного определения халкона - бутеина в сырье космеи дваждыперистой с использованием твердофазной экстракции;
6. провести предварительный фармакологический скрининг извлечений, полученных из космеи дваждыперистой – *Cosmos bipinnatus* Cav.;
7. получить суммарную субстанцию полифенолов из космеи дваждыперистой – *Cosmos bipinnatus* Cav. с целью их последующего фармакологического изучения.

**Научная новизна** работы состоит в том, что впервые подробно изучен химический состав надземных органов разных сортов космеи дваждыперистой, выделены фракции полисахаридов и охарактеризованы их физико-химические свойства, исследован полифенольный состав извлечений космеи дваждыперистой, разработана методика количественного определения бутеина в извлечении космеи дваждыперистой с использованием метода твердофазной экстракции. Приоритетом исследований явилось также изучение биологических и фармакологических свойств отдельных фракций из космеи, что позволило выявить такие виды активностей, как антиоксидантная, гипополипидемическая, противовоспалительная, антимикробная и противогрибковая.

В космее дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) (соцветиях и траве) выявлен качественный и количественный состав основных групп соединений, таких как: флавоноиды, органические кислоты, иридоиды, антоцианы (в сортах «Rosea» и «Dazzler»), катехины (в сорте «Purity»), антиоксиданты, аминокислоты, макро- и микроэлементы и др.

Из травы космеи дваждыперистой разных сортов выделены полисахаридные комплексы: водорастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлоза А (Гц А) и гемицеллюлоза Б (Гц Б). Изучены физико-химические свойства выделенных полисахаридов, а также их моносахаридный состав по данным кислотного гидролиза. Доказана высокая сорбционная способность водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ по отношению к ионам  $Pb^{2+}$  (от 70 до 92,5%).

Методом ВЭЖХ с применением масс- и УФ-детекции определен полифенольный состав извлечения цветков космеи дваждыперистой, полученного экстракцией 70%-ным спиртом этиловым. Осуществлен синтез бутеина, получен его стандарт, с помощью которого разработана методика количественного определения бутеина в сырье космеи дваждыперистой с применением твердофазной экстракции.

Впервые осуществлен фармакологический скрининг субстанций, полученных из космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.). Выявлены антиоксидантная (модель железо-индуцированное перекисное окисление липидов), гипополипидемическая (модель твиновой гиперлипидемии), противовоспалительная (модель ватной гранулемы), антимикробная и противогрибковая (метод серийных разведений) активности.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** *Теоретическая значимость* работы заключается в расширении сведений о химическом составе космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.), разработке методики количественного определения бутеина с применением твердофазной экстракции в сырье космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.). Химические и фармакологические исследования суммарных субстанций космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) свидетельствуют о необходимости более углубленных их исследований с целью последующей рекомендации изучаемого растения в качестве лекарственного сырья.

*Практическая значимость.* По результатам исследований составлено и направлено в ФГБОУ ВО КГМУ МЗ РФ информационное письмо «

Биологически активные соединения растений вида космея дваждыперистая (*Cosmos bipinnatus* Cav.)» с целью использования описанных в письме методик в учебном процессе (в т.ч. при выполнении курсовых и дипломных научно-исследовательских работ) для оптимизации способов выделения и изучения биологически активных полисахаридов и расширения сведений о химическом составе и биологической активности представителей семейства сложноцветные (акты внедрения от 01.10.2020 г.).

По результатам диссертации составлено и направлено в ФГБОУ ВО СамГМУ МЗ РФ информационное письмо «Методика количественного определения битеина в извлечениях космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) методом ВЭЖХ с использованием твердофазной экстракции» с целью использования описанной в письме методики в учебном процессе для расширения сведений о химическом составе и биологической активности представителей семейства сложноцветные (акт внедрения от 05.09.2022 г.).

Методика количественного определения флавоноидов в цветках космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) семейства (*Asteraceae* L.) – внедрен в учебный процесс кафедры фармакогнозии, ботаники и фитопрепаратов ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (акт внедрения от 10.03.2021 г.); методика количественного определения антоцианов в цветках космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) семейства (*Asteraceae* L.) – внедрен в учебный процесс кафедры фармакогнозии, ботаники и фитопрепаратов ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (акт внедрения от 01.03.2021 г.)

**Методология и методы исследования.** Методологической основой настоящей диссертационной работы служит патентно-информационный поиск по теме исследования, обобщение полученных данных и их описание в обзоре литературы. В исследованиях применялись современные методы физико-химических исследований: различные виды хроматографии, капиллярный электрофорез, титриметрический анализ, УФ-спектроскопия, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ, хромато-масс-спектроскопия, твердофазная экстракция. Фармакологические исследования проводили на базе кафедры патологии и

кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии ПМФИ согласно методам «классической фармакологии» и современной микробиологии.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Химический состав соцветий и травы космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.).
2. Выделение и изучение физико-химических характеристик фракций полисахаридов из травы космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.).
3. Изучение полифенольного состава космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.), синтез бутеина с целью получения стандартного образца для разработки методики количественного его определения в сырье космеи дваждыперистой с применением твердофазной экстракции;
4. Биологическая активность суммарных субстанций, полученных из соцветий космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.);
5. Рекомендация космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) в качестве перспективного источника биологически активных соединений.

**Степень достоверности и апробации результатов.** Степень достоверности результатов определяется большим объемом информации, экспериментальными исследованиями и использованием современных химических, физико-химических и фармакологических методов исследования. Все результаты получены с применением методов статистической обработки результатов. Методики дифференциальной спектрофотометрии количественного определения флавоноидов провалидированы.

**Апробация** результатов исследования по диссертации проведена на заседании кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (№4 от 26.09.2023).

Основное содержание диссертационной работы представлены и доложены на международной научно-практической конференции «О некоторых вопросах и проблемах современной медицины» (г. Челябинск, Инновационный

центр развития образования и науки, 11 июля 2017 г.), III международной научно-практической конференции «Современная химия – основа устойчивого развития» (г. Астрахань, издательский дом «Астраханский университет», 25-27 мая 2021 г.), международной научно-практической конференции «Научное исследование как основа инновационного развития общества» (г. Уфа, 10 июня 2021 г.).

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 6 в рецензируемых научных изданиях.

**Личный вклад автора.** Соискатель лично принимал активное участие на всех этапах выполнения диссертации: в патентно-информационном поиске, проведении химических и фармакологических исследований, описании и интерпретации результатов, а также оформлении текста статей по теме исследования. Статистическая обработка, обобщение результатов, их обсуждение и формирование выводов выполнялись автором самостоятельно.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материалы и методы (глава 2); исследования химического состава (глава 3), выделения полисахаридов и изучения их физико-химических свойств (глава 4), исследования полифенольных соединений (глава 5), исследования биологической активности (6 глава), выводов, списка литературы и приложения. Библиография включает 166 ссылок, в том числе 89 зарубежных. Диссертация изложена на 223 страницах текста компьютерного набора, содержит 89 рисунков и 67 таблиц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. Сведения о степени изученности химического состава и применении космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) (обзор литературы)**

В данной главе описывается общее состояние исследований химического состава и фармакологической активности представителей рода *Cosmos* Cav. и растений вида *Cosmos bipinnatus* Cav.

### **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В Главе 2 диссертации представлены данные об объекте исследования, реактивах и растворителях и материалах и методах, используемых при выполнении диссертационного исследования. Кратко охарактеризовано контрольно-аналитическое оборудование: СФ-102 (ООО «Аквилон», Россия), прибор для проведения капиллярного электрофореза «Капель-104Т» (ОАО «НПФ Люмэкс», Россия), СВЧ-минерализатора «Минотавр-1», хроматографическая система Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), снабженная хроматографической колонкой Luna C18(2) размером 150 x 4,6 мм с зернением сорбента – 5 мкм (Phenomenex, США), детектор VWD 3000 (Thermo Scientific, США), масс-спектрометр Bruker Amazon SL (Bruker, США), Фурье-спектрометр ФСМ 1201 (ООО «Мониторинг», Россия), бокс микробиологической безопасности (БМБ-II-«Ламинар-С»-1,2, РФ), центрифуга (СМ-6М, Франция), термостат (Memmert, Германия), денситометр (DEN-1 Biosan РФ), счётчик колоний лабораторный (СКМ-1, Россия).

### **Глава 3. Изучения основных групп биологически активных соединений растений вида космея дваждыперистая (*Cosmos bipinnatus* Cav.)**

Предварительное исследование на наличие фенольных соединений в сырье осуществляли с использованием качественных реакций и бумажной хроматографии с последующим проявлением диагностическими реактивами. На основании данных хроматографического анализа можно утверждать о наличии близких по структуре полифенольных соединений.

Качественный состав органических кислот устанавливали методом ТСХ. В траве сорта «Purity» обнаружены 8 органических кислот, из которых идентифицированы 4; сорта «Rosea» - 6, идентифицированы - 2; сорта «Dazzler» - 7, идентифицированы 3 алифатические кислоты. Во всех исследуемых растениях присутствует янтарная кислота. Лимонная кислота идентифицирована только в траве сортов «Purity» и «Dazzler».

Антоцианы обнаружены только в сортах «Rosea» и «Dazzler». Положительная реакция на катехины наблюдается у сорта «Purity».

Качественный и количественный аминокислотный состав надземной части космеи дваждыперистой исследован методом капиллярного электрофореза. В надземной части сорта «Rosea» установлено наибольшее содержание аминокислот. Для анализируемых сортов характерно высокое содержание заменимой аминокислоты пролина, в среднем, примерно, 85% от суммы всех аминокислот. Для всех сортов характерны такие незаменимые аминокислоты, как лейцин, метионин, валин, треонин. В сорте «Purity» их количество составляет 583,8 мг/кг – 7,65% от суммы всех аминокислот. Преобладающая незаменимая кислота - треонин.

Определение элементного состава космеи дваждыперистой проводили методом капиллярного электрофореза. Из полученных данных следует, что во всех исследуемых сортах наблюдается высокое содержание ионов калия и магния, а из микроэлементов - железа и бора; наибольшее содержание калия характерно для сорта «Dazzler», а железа и бора - для сорта «Purity».

Наличие антиоксидантов в пересчете на кверцетин и галловую кислоту определяли в спиртовых, водно-спиртовых и водных извлечениях на жидкостном хроматографе «Цвет Яуза-01-АА» (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание антиоксидантов в различных извлечениях космеи дваждыперистой, полученных экстракцией 70%-ным спиртом этиловым

Сорт и сырье, экстрагент - 70%-ный C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Площадь пика (S <sub>п</sub> нА/с)	Содержание антиоксидантов(мг/г)	
		в пересчете на кверцетин	в пересчете на галловую кислоту
Трава сорта «Purity»	3384,705	2,580±0,004	1,656±0,004
Соцветия сорта «Purity»	4694,11	3,171±0,006	2,048±0,004
Трава сорта «Rosea»	3174,92	0,819±0,008	0,533±0,007
Соцветия сорта «Rosea»	4528,9	2,273±0,004	1,450±0,004
Трава сорта «Dazzler»	4205,13	1,814±0,005	1,176±0,004
Соцветие сорта «Dazzler»	3812,402	2,106±0,005	1,372±0,005

Наибольшее количество антиоксидантов обнаружено в извлечениях, полученных экстракцией 70%-ным спиртом этиловым. Наибольшее содержание антиоксидантов характерно космеи дваждыперистой сорта «Purity».

Содержание антоцианов в сортах «Rosea» и «Dazzler» определяли спектрофотометрически по методикам, рекомендованными ГФ XI и XIV. Наибольшее содержание антоцианов наблюдается в соцветиях сорта «Dazzler» ( $0,4 \pm 0,0082$ ) в траве сорта «Rosea» ( $0,17 \pm 0,0053$ ) их содержание выше, чем в траве сорта «Dazzler» ( $0,13 \pm 0,0056$ ).

Суммарное содержание антиоксидантов в анализируемых извлечениях в пересчете на галловую кислоту анализировали спектрофотометрически по реакции взаимодействия полученных извлечений с реактивом Фолина-Чокальтеу. Для исследования использовали водные, водно-спиртовые и спиртовые извлечения, полученные из космеи дваждыперистой.

Наибольшее количество фенольных соединений наблюдается в извлечениях сорта «Purity» космеи дваждыперистой ( $2,786 \pm 0,0047$ ); несколько меньше их в сорте «Dazzler» ( $2,306 \pm 0,008$ ); а наименьшее содержание полифенолов характерно для сорта «Rosea» ( $1,632 \pm 0,005$ ).

Согласно ГФ XIV определение суммы флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии комплекса алюминия хлорида с анализируемыми извлечениями в пересчете на лютеолин, поскольку они характеризуются максимумом поглощения при длине волны 400 нм.

Проведена валидация методик количественного определения флавоноидов в извлечениях космеи дваждыперистой по критериям: специфичность, линейность, прецизионность.

#### **Глава 4. Выделение полисахаридных комплексов, их моносахаридный состав и физико-химические свойства**

Для выделения полисахаридных комплексов из травы космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus Cav.*) сортов «Purity», «Rosea», «Dazzler», нами использовано свежесобранное сырьё, высушенное воздушно-теневогой сушкой до постоянной массы.

Водорастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлоза А (ГцА) и гемицеллюлоза Б (ГцБ) выделены по методу Николая Константиновича Кочеткова и Михаэля Синнера.

Из травы трех сортов - «Purity», «Rosea», «Dazzler» получены пектиновые вещества, выход которых составляет от 4 до 8%.

Средняя молярная масса (г/моль) ПВ, выделенных из космеи дваждыперистой сортов: «Purity», «Rosea», «Dazzler», составляет 10071, 21615, 13715 соответственно.

Определён качественный и количественный состав водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлозы А и гемицеллюлозы Б.

Установлено наличие поверхностно-активных свойств пектиновых веществ и определены величины поверхностного натяжения, поверхностной активности, размеры молекул пектиновых веществ в поверхностном слое.

Установлено, что пектиновые вещества способны связывать ионы свинца и при этом процент связывания находится в пределах от 70 до 82,5%, причем чем больше молекулярная масса образца, тем выше его сорбционная способность.

Наибольшей сорбционной активностью по отношению к ионам  $Pb^{2+}$  и наименьшим коэффициентом распределения обладают пектиновые вещества космеи сорта «Rosea». С увеличением молярной массы возрастают не только адсорбционные, но и абсорбционные свойства пектиновых веществ всех сортов, о чем свидетельствуют данные по величинам коэффициента распределения и степени экстракции.

Сорбционная способность водорастворимых полисахаридов, выделенных из сортов «Purity» и «Dazzler» по отношению к ионам  $Pb^{2+}$  выше у ВРПС из сорта «Purity».

Зависимость величины адсорбции от равновесной концентрации ионов свинца подчиняется в одинаковой степени уравнениям Ленгмюра и Фрейндлиха, что свидетельствует о значительной пористости сорбентов и эффективности их использования в качестве энтеросорбентов.

Полученные данные позволяют сделать вывод о возможности использования ВРПС, полученных из сортов «Purity» и «Dazzler» для

«извлечения» ионов свинца (Pb) из разных объектов, а также в качестве природных детоксикантов.

### **Глава 5. О полифенольном составе космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.)**

Для выявления полифенольного состава космеи дваждыперистой нами были использованы бумажная хроматография, твердофазная экстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектральный анализ, ИК- и УФ-спектроскопия.

Двумерная хроматограмма извлечения, полученного экстракцией 70%-ным спиртом этиловым, свидетельствует о наличии 17 соединений полифенольной природы.

На хроматограмме 7 пятен в УФ-свете имеют коричневую окраску, переходящую под влиянием паров аммиака в ярко-желтую флуоресценцию, а под влиянием алюминия хлорида – в желтую флуоресценцию. Такое поведение характерно для флавонолов или флавонол-3-гликозидов.

Одно пятно в УФ-свете имеет зеленую флуоресценцию в отличие от двух других флавоновых гликозидов, что характерно для гликозидов апигенина, а другое пятно в УФ-свете имеет коричневую окраску, переходящую в зеленовато-желтую, что указывает на его флавоновую природу.

Два пятна на хроматограммах имеют коричневую окраску, переходящую в красную под влиянием паров аммиака или красно-оранжевую при действии 5%-ного водного раствора карбоната натрия, что характерно для халконов.

По интенсивности окраски пятен нельзя судить о количественном содержании индивидуальных соединений, поэтому нами были использованы твердофазная экстракция, а также высокоэффективная жидкостная хроматография с хромато-масс- и ультрафиолетовой детекцией.

Компонентный состав извлечений определяли обращенно-фазовым вариантом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием УФ- и масс-детекторов.

ВЭЖХ-хроматограмма анализируемого извлечения, представлена на рисунке 1. Идентификацию отдельных соединений осуществляли в присутствии стандартных образцов (хлорогеновая кислота, рутин, битеин), а также с использованием данных библиотеки масс-спектров NIST 18 и литературы (таблица 2).

Для доказательства природы агликонов и подтверждения результатов ВЭЖХ осуществлён кислотный гидролиз извлечения.

Хроматографический анализ агликонов, образовавшихся после кислотного гидролиза, свидетельствует о наличии 4-х производных 2-фенилхромона и одного халкона – битеина.

Двумерной хроматографией (первое направление система 60%-ная уксусная кислота, а второе – бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2)) с использованием «свидетелей» идентифицированы кверцетин, лютеолин, апигенин и, синтезированный нами, битеин. К сожалению, отсутствует тенаксин II. В кислотном гидролизате после нейтрализации хроматографически обнаружены моносахариды - глюкоза, рамноза, арабиноза и галактоза.

Хотя битеин не является доминирующим представителем класса флавоноидов в цветках *Cosmos bipinnatus* Cav., однако он может служить маркерным соединением для растений, содержащих данный халкон, и используемых в качестве антибактериального сырья. Доказательство его наличия в растении повышает достоверность идентификации сырья, особенно в смесях (сборах) и готовых лекарственных формах. Именно подобное рассуждение явилось основанием для синтеза данного халкона из 3,4-дигидроксibenзальдегида и 2,4-дигидроксиацетофенона.

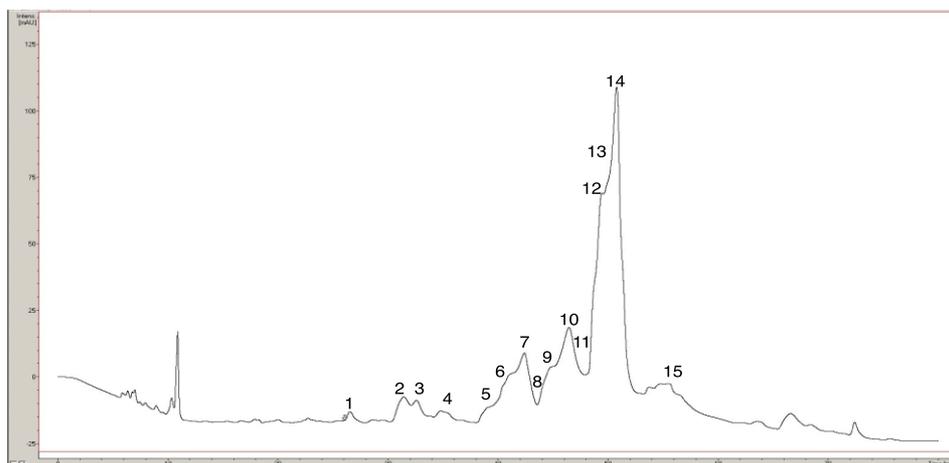


Рисунок 1 – ВЭЖХ-хроматограмма извлечения космеи дваждыперистой

*Источник: составлено автором*

Таблица 2 – Определение качественного состава извлечения космеи

Время удерживания	m/z прекурсор	MS <sup>2</sup> -фрагменты	Соединение	Примечание
26,5	353	191, 179, 135	хлорогеновая кислота (1)	СО
31,3	707	353	димер кофейлхинной кислоты (2)	
32,1	353	191, 179	неохлорогеновая кислота (3)	
35,0	433	279, 135, 253	кареопсин (4)	
38,6	609	301, 273, 343, 255, 179	рутин (5)	СО
38,8	707	609, 513, 301	производное рутина (6)	
42,5	463	301, 179	кверцетин-О-гексозид (7)	
43,6	463	301, 179, 271, 343	кверцетин-гексозид (8)	
45,0	477	301, 179	нелумбозид (кверцетин-3-глюкуронид) (9)	
46,6	433	271, 301	кверцетин-О-пентозид (10)	
46,8	461	285, 199, 151	Лютеолин-О-глюкуронид (11)	
50,0	445	269, 175	апигенин-7-О-глюкуронид (12)	
51,5	475	299, 175	тенаксин II-7-О-глюкуронид (13)	
52,2	515	353, 191, 173	дикофейлхинная кислота (14)	
55,8	271	135, 153	бутеин (15)	СО

Идентификация полученной субстанции бутеина осуществлена при помощи УФ-, ИК- и масс-спектрологии и на ее основе согласно государственной фармакопее получен стандартный образец, который далее использовали для количественного определения этого соединения в сырье.

Определение проводили на хроматографе «Стайер» в изократическом режиме с УФ детектором при длине волны 385 нм (максимум битеина в указанных условиях). Подвижная фаза ацетонитрил – 0,05 М фосфорная кислота (2:8), скорость потока 1 мл/мин, колонка 25 × 0,46 см, 5 мкм, Luna C18 Phenomenex объем вводимой пробы 20 мкл.

Хроматографировали стандартный и испытуемый растворы.

Порядок выхода веществ на хроматограмме стандартного раствора:

1. протокатеховый альдегид ( $t=28,64$  мин, исходное вещество для синтеза, его содержание в стандартном образце в виде примеси 0,38%), резецетофенон ( $t=66,4$  мин, исходный продукт синтеза, не обнаружен);
2. битеин ( $t=160,07$  мин, основной продукт синтеза, его содержание в стандартном образце 99,62%) (рисунки 2, 3).

Идентификацию битеина проводили по времени удерживания, которое на хроматограмме испытуемого раствора составляет 160,70 мин, на хроматограмме стандартного раствора – 160,07 мин.

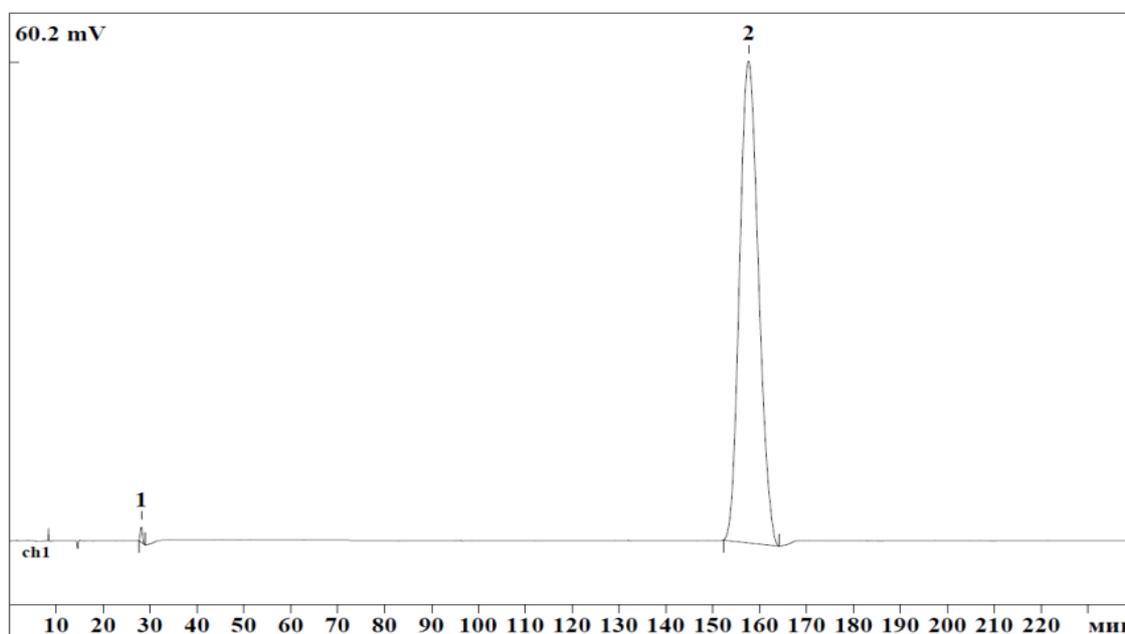


Рисунок 2 – Хроматограмма стандартного образца битеина

*Источник: составлено автором*

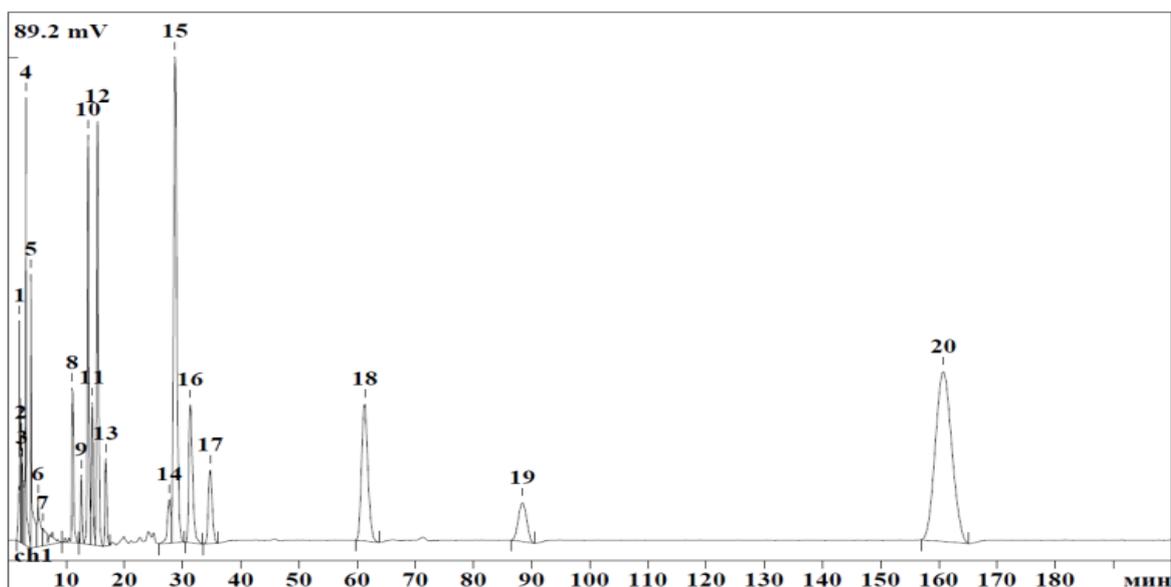


Рисунок 3 – Хроматограмма испытуемого раствора

*Источник: составлено автором*

Таким образом, содержание бугеина в пересчете на сухое сырье составляет 0,043%.

### **Глава 6. Биологическая активность суммарных субстанций, полученных из космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.)**

Извлечения, полученные из космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) экстракцией сырья 70%-ным спиртом этиловым, обладают выраженным антиоксидантным, противовоспалительным и гиполипидемическим, антимикробным и противогрибковым действиями:

- спиртовые извлечения, полученные из космеи дваждыперистой, способствуют снижению накопления перекисных соединений и содержания малонового диальдегида на 24-54%;
- исследуемые извлечения космеи дваждыперистой снижают стадию экссудации на 40-52% и повышают пролиферативную фазу воспаления;
- исследуемые извлечения снижают содержание холестерина в сыворотке крови на 44-50%; уровня триглицеридов крови на 52-57%, а снижение ЛПНП в сыворотке крови составляет 15-28%;
- спиртовые и водные извлечения способны подавлять рост и размножение тест-штаммов и ингибировать жизнеспособность

микроорганизмов на 85% (при максимальных концентрациях) - 40% (при минимальных концентрациях);

- извлечения из космеи дваждыперистой характеризуются антифунгальной активностью, превышающей действие препарата сравнения - нистатин и подавляют рост на 61-75%.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В данной работе впервые подробно изучен качественный и количественный состав биологически активных соединений космеи дваждыперистой, которые представлены органическими кислотами, флавоноидами, аминокислотами, иридоидами, антоцианами и катехинами. Установлено высокое содержание флавоноидов (1,09 - 2,81%) и пектиновых веществ (4,23 – 8-37%) в исследуемом растительном сырье. Впервые изучены физико-химические характеристики для пектиновых веществ и водорастворимых полисахаридов космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.). Установлена высокая сорбционная способность по отношению к катионам свинца пектиновых веществ (70 – 82,5%) и водорастворимых полисахаридов (90 – 92,5%). Методом ВЭЖХ установлен полифенольный состав космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.). Для проведения количественного определения халкона бутеина в исследуемом растительном сырье путём синтеза с последующей стандартизацией получен рабочий стандартный образец. Для установления возможного спектра биологической активности исследуемого растительного сырья космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.). проведен комплекс биологических исследований и установлено, что исследуемое сырье обладает антиоксидантной, гиполипидемической, противовоспалительной, противомикробной и противогрибковой активностью.

## **ВЫВОДЫ**

1. Проведены углубленные химические исследования основных классов биологически активных соединений трех сортов космеи дваждыперистой («Dazzler», «Purity», «Rosea»), а также изучен спектр

возможной биологической активности суммарных субстанций, полученных из космеи дваждыперистой.

2. Изучены качественный и количественный состав биологически активных соединений космеи дваждыперистой, которые представлены органическими кислотами, флавоноидами, аминокислотами, иридоидами, антоцианами и катехинами.

3. Определено количественное содержание органических кислот, флавоноидов, антиоксидантов, антоцианов, аминокислот, фенольных соединений. Провалидированы методики количественного определения флавоноидов.

4. Из травы трех сортов космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus Cav.*) выделены пектиновые вещества с выходом от 4 до 8%, и изучены их физические и физико-химические свойства.

5. В извлечениях, полученных экстракцией сырья 70%-ным этанолом, с использованием обращенно-фазового варианта ВЭЖХ в сочетании с УФ- и масс-детекцией установлено наличие 15 соединений полифенольной природы, в том числе 3 фенолоксилоты (хлорогеновая, димер кофеилхинной кислоты и неохлорогеновая), халкон бутеин и его 4'-глюкозид (кареопсин), а также 10 производных флавона и флавонола. Идентификацию отдельных соединений осуществляли при помощи стандартных образцов, а также с использованием данных библиотеки масс-спектров NIST 18 и литературы.

6. Осуществлен синтез бутеина, на основе которого получен стандарт с целью последующего его использования в аналитических целях. Разработана методика количественного определения бутеина в сырье с использованием твердофазной экстракции;

7. Извлечения, полученные экстракцией сырья 70%-ным спиртом этиловым, обладают выраженным антиоксидантным, противовоспалительным и гиполипидемическим, антимикробным и противогрибковым действиями.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

### Международные базы цитирования:

1. Физико-химическое исследование пектиновых веществ из травы космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) / Е. О. Куличенко, Л. П. Мыкоц, Н. А. Туховская [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 11-2(113). – С. 207-215.

2. Фармакологическая активность извлечений растений вида *Cosmos bipinnatus* Cav. / Е. О. Куличенко [и др.] // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10. – № 1. – С. 82-92.

3. Фармакогностическое изучение *Cosmos bipinnatus* Cav. (сем. *Asteraceae*), культивируемой в Западном Предкавказье / Е. О. Куличенко [и др.] // Химия растительного сырья. – 2023. – № 2. – С. 231-240.

### Russian Science Citation Index

4. Получение рабочего стандартного образца халкона - бутеина и его количественное определение в растительном сырье / Е. О. Куличенко [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27, № 1. – С. 23-30.

### Перечень ВАК

5. Полифенольный состав цветков космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) / Е. О. Куличенко [и др.] // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2024. – № 1(43). – С. 12-24.

### Другие журналы:

6. Куличенко, Е. О. Исследование влияния экстрактов космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) на ЛПНП и ЛПВП сыворотки крови крыс / Е. О. Куличенко // Наука: комплексные проблемы. – 2021. – № S2(18). – С. 16.

7. Распределение пектиносодержащих веществ, полученных из космеи дваждыперистой, между двумя жидкими фазами / Е. О. Куличенко [и др.] // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2020. – № 3(29). – С. 27-35.

## Сборники конференций

8. Куличенко, Е. О. Определение антиоксидантной активности извлечений из космеи дваждыперистой (*Cosmos bipinnatus* Cav.) / Е. О. Куличенко // Научно-исследовательские исследования как основа инновационного развития общества: сборник статей международной научно-практической конференции. – Омск, 2021. – С. 277-283.

9. Утяганова, Е. В. Исследование антибактериальной активности извлечений из *Cosmos bipinnatus* Cav. в отношении некоторых представителей условно-патогенной флоры / Е. В. Утяганова, Е. О. Куличенко, Х. М. Бекбузарова // Современная химия - основа устойчивого развития : сборник материалов III международной научно-практической конференции. – Астрахань, 2021. – С. 91-92.

10. Утяганова, Е. В. Исследование фунгицидной активности извлечений из *Cosmos bipinnatus* Cav. в отношении некоторых представителей микромицетов / Е. В. Утяганова, Е. О. Куличенко, Ф. И. Ахаева // Современная химия - основа устойчивого развития : сборник материалов III международной научно-практической конференции. – Астрахань, 2021. – С. 111-112.

**Куличенко Евгения Олеговна**

(Российская Федерация)

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В РАСТЕНИЯХ ВИДА  
КОСМЕЯ ДВАЖДЫПЕРИСТАЯ (*COSMOS BIPINNATUS* CAV.)**

Диссертационная работа посвящена углубленным химическим исследованиям основных классов биологически активных соединений трех сортов космеи дваждыперистой («Dazzler», «Purity», «Rosea»). Впервые подробно изучены качественный и количественный состав биологически активных соединений космеи дваждыперистой, представленный органическими кислотами, флавоноидами, аминокислотами, иридоидами, антоцианами и катехинами. Впервые выделены полисахаридные комплексы космеи дваждыперистой и изучены их физико-химические характеристики, установлена их высокая сорбционная способность по отношению к катионам свинца. Методом ВЭЖХ установлен полифенольный состав космеи дваждыперистой. Для количественного определения бутеина в исследуемом растительном сырье был получен рабочий стандартный образец бутеина и разработана методика его определения. Установлен спектр возможной биологической активности извлечений из космеи дваждыперистой.

**Kulichenko Evgeniya Olegovna**

(Russian Federation)

**BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN PLANTS OF THE  
SPECIES *COSMOS BIPINNATUS* CAV.**

The dissertation is devoted to in-depth chemical studies of the main classes of biologically active compounds of three varieties of *Cosmos bipinnatus* ("Dazzler", "Purity", "Rosea"). For the first time, the qualitative and quantitative composition of biologically active compounds of *Cosmos bipinnatus*, represented by organic acids, flavonoids, amino acids, iridoids, anthocyanins and catechins, were studied in detail. For the first time, polysaccharide complexes of *Cosmos bipinnatus* were isolated and their physicochemical characteristics were studied, their high sorption capacity with respect to lead cations was established. The polyphenolic composition of *Cosmos bipinnatus* was established by the HPLC method. For quantitative determination of butein in the studied plant raw materials, a working standard sample of butein was obtained and a method for its determination was developed. The spectrum of possible biological activity of extracts from *Cosmos bipinnatus* was established.