

*На правах рукописи*

**ШАКИРОВА ФИРЮЗА АЛЬБИРТОВНА**

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО  
(*ARCHANGELICA OFFICINALIS* HOFFM.)**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2015

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

**Научный руководитель:**

доктор фармацевтических наук, профессор **Кудашкина Наталья Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Ханина Миниса Абдуллаевна**, доктор фармацевтических наук, профессор, Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет» Министерства образования Московской области, кафедра химии, и.о. заведующего кафедрой

**Курбатова Светлана Викторовна**, доктор химических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра физической химии и хроматографии, профессор кафедры

**Ведущая организация:** государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.06 при государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 443079, г. Самара, пр. К.Маркса, 165Б.

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

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат фармацевтических наук, доцент

Петрухина Ирина Константиновна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Поиск новых источников эффективных лекарственных препаратов на растительной основе является актуальной проблемой фармации. Это возможно путем расширения ассортимента лекарственных растений за счет полного использования собственных ресурсов дикорастущего растительного сырья. Одной из таких перспективных культур, типичных для флоры Республики Башкортостана, является дягиль лекарственный (*Archangelica officinalis* Hoffm., *Angelica archangelica* L.) из семейства Зонтичных (*Apiaceae* или *Umbelliferae*) — ценное пищевое, медоносное, эфирно-масличное и лекарственное растение.

В России дягиль — традиционное народное средство, улучшающее пищеварение, усиливающее секреторную функцию кишечника, мочегонное и потогонное, отхаркивающее при бронхитах и ларингитах, тонизирующее и укрепляющее при нервном истощении, эпилепсии, истерии, бессоннице, спазмах желудка и кишечника (Баширова, Р.М. и др., 2004).

Корень дягиля входил в состав «Германской фармакопеи» 1535 года и Российской фармакопеи XVIII века (Касьянова, А.Ю. и др., 2002). В настоящее время данный вид официнален в странах ЕС.

В настоящее время традиции употребления в пищу продуктов из представителей рода *Archangelica* сохраняются в Корее, Китае и Японии. Так, в Корее все части *A. keiskei* (Myeong Il Yeop) и корень *A. gigas* (Dang-gwi) используют для приготовления напитков Danggwí cha, а молодые побеги с нежными зелеными листьями для приготовления салатов. В Азии корни представителей рода *Angelica* называют женским женьшенем и используют при различного рода гинекологических заболеваниях (Wedge, D.E. et al., 2008). В Германии популярны гастроэнтерологические препараты — «Гастритол DE», «Карвомин R», «Вентримарин R», «Иберогаст» с добавлением корней дягиля.

Наличие в дягиле различных групп биологически активных веществ, обладающих детоксикационным действием, позволяет его включать в рацион для лиц, проживающих в экологически неблагоприятных районах. В соответствии с Минздравом России целесообразно включать в пищу продукты из дягиля как источник лимонена и полисахаридов (МР 2.3.1.1915-04., 2004).

### **Степень разработанности.**

В результате научных исследований ученых, в основном зарубежных, хорошо изучены такие классы соединений дягиля лекарственного, как эфирные масла, производные жирных кислот, представленные полиацетиленовыми соединениями, смолы, производные фенольных кислот - фталиды и кумарины, полисахариды, макро- и микроэлементы. В работах А.Д. Туровой показана антимуtagenная и противоопухолевая активность водных вытяжек дягиля (Турова А.Д., 1982) В литературе имеются сведения об активизации жирового обмена под влиянием дягиля (Lee, K.T., 1997). Несмотря на литературные данные, оценка качества сырья дягиля ведется лишь по устаревшему ГОСТу 21569 – 76, предусматривающему органолептическую оценку корневищ с корнями в основном для использования в пищевой промышленности. Разработка фармацевтических препаратов на основе дягиля возможна лишь при наличии на него нормативной

документации, базирующейся на основе объективных фитохимических исследований (Самылина И.А., 2004, Киселева Т.Л., 2009).

В Республике Башкортостан достаточно большие сырьевые запасы дягиля, к тому же это растение легко вводится в культуру (Касьянова, А.Ю. и др., 2002). Широкое применение *Archangelica officinalis* в российской народной медицине и в официальной медицине зарубежных стран указывает на необходимость разработки нормативной документации на сырье дягиля лекарственного для внедрения его в официальную медицину РФ.

Таким образом, целесообразно подробное изучение дягиля лекарственного и создание на основании проведенных исследований нормативной документации для внедрения сырья дягиля в медицинскую практику.

**Цель и задачи исследования.** Целью наших исследований явилось фармакогностическое исследование дягиля лекарственного в качестве источника нового вида лекарственного растительного сырья.

Для достижения поставленной цели были определены и решались следующие задачи:

1. Провести морфолого-анатомическое исследование листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного и выявить их основные диагностические признаки.
2. Провести фитохимическое исследование основных групп биологически активных веществ в листьях, в корневищах с корнями дягиля лекарственного и определить их количественное содержание.
3. Предложить методы стандартизации листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного и установить их сроки годности.
4. Определить острую токсичность и изучить антимикробные и антиоксидантные свойства водных извлечений листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного.
5. Разработать технологию получения сухого экстракта из корневищ с корнями дягиля лекарственного и провести его стандартизацию.
6. Разработать проект фармакопейной статьи «Дягиля лекарственного листа», «Дягиля лекарственного корневища с корнями».

**Научная новизна.** Впервые с использованием современных методов анализа проведен количественный и качественный состав различных групп биологически активных соединений листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного.

С использованием современных физико-химических методов анализа (газовая хроматография масс-спектрометрия) изучен состав кумариновых соединений в листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного. Впервые методом газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрии (ГХ/МС) установлено, что листья дягиля содержат кумариновые соединения: прангенин (оксиимператорин), изомеры прангенина, бергаптен, метоксален, остол, а также хромон - метиловый эфир пеццина. В корневищах с корнями дягиля лекарственного впервые установлено содержание метоксалена и ороселона.

Проведено разделение и идентификация компонентов эфирного масла дягиля лекарственного с использованием ГХ/МС. Впервые установлено в корневищах с

корнями дягиля лекарственного наличие следующих компонентов: цис-пиперитола, транс-пиперитола, циклосативена,  $\alpha$ -кубинена,  $\alpha$ -гуайена,  $\beta$ -цедрена,  $\alpha$ -пачулена (-)-аристолена. В листьях дягиля лекарственного впервые установлено наличие следующих компонентов: линалоола, нерола, тимола, пара-тимола,  $\alpha$ -кубенена, транс- $\alpha$ -бергамотена,  $\beta$ -кубенена, бициклогермацена, эремофилена,  $\beta$ -гуайена,  $\alpha$ -гуайена,  $\delta$ -неролидола, валенсена, фитола.

В листьях и подземных органах дягиля обнаружено наличие циклогексановых сесквитерпеноидов - элеменов и элеменолола, обладающих противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами, а также спатуленолола, ингибирующего мультирезистентность опухолевых клеток к антибиотикам. В листьях установлено наличие  $\beta$ -элемена,  $\alpha$ -кариофиллена (хумулена), усиливающих активность противоопухолевых средств.

С использованием рентгено-флуоресцентного метода изучен макро- и микроэлементный состав растения. Определен аминокислотный состав листьев, корневищ с корнями *A. archangelica*. Установлено наличие 14 аминокислот: для листьев дягиля лекарственного характерно накопление пролина, глицина, валина, аргинина, серина, фенилаланина, для корневищ с корнями – пролина, глицина, цистеина, валина.

Впервые описаны морфолого-анатомические признаки листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного.

Установлена противогрибковая активность экстрактов листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного, наиболее выраженная по отношению к *Candida albicans*.

С использованием нескольких методов установлены антиоксидантные и прооксидантные свойства извлечений из листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного. Определена острая токсичность сырья дягиля лекарственного и установлено, что листья и корневища с корнями дягиля лекарственного отнесены к классу малотоксичных соединений.

**Практическая значимость результатов исследования.** Разработана методика гравиметрического определения суммы полисахаридов в листьях, корневищах с корнями дягиля лекарственного и проведена ее валидация. С учетом современных требований, предъявляемых к подлинности и качеству лекарственного растительного сырья, проведена стандартизация листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного.

На основании проведенных исследований разработан проект ФС «Листья дягиля лекарственного» и «Корневища с корнями дягиля лекарственного». Внедрение дягиля в официальную медицину может позволить использовать листья, корневища с корнями в качестве нового сырьевого источника с антиоксидантными, антимикробными и противогрибковыми свойствами.

Разработана жевательная лекарственная форма на основе сырья дягиля лекарственного. Приоритет проведенных исследований защищен патентом РФ на изобретение № 2503458 от 27.08.12. «Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у детей с хронической почечной недостаточностью с применением жевательного субстрата».

Материалы диссертации внедрены в учебный процесс на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. Результаты, полученные в ходе диссертационной работы, вошли в учебное пособие для практических врачей, студентов, интернов «Фитотерапия при заболеваниях кожи».

**Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, номер государственной регистрации 01.9.50 007426.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- Результаты морфолого-анатомического исследования листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного.
- Результаты фитохимического исследования сырья дягиля лекарственного.
- Методики качественного и количественного анализа листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного и числовые показатели качества сырья.
- Результаты исследований по стандартизации сырья дягиля лекарственного.
- Результаты биологических исследований сырья дягиля лекарственного.
- Результаты исследования сухого экстракта, полученного из корневищ с корнями дягиля лекарственного.

**Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных. Результаты, полученные при проведении исследований, статистически обработаны и представлены в формулах, таблицах, на рисунках, которые приведены в тексте диссертации.

Статистическую обработку экспериментальных данных исследований (P=95%) проводили с помощью программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0».

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан с международным участием «Медицинская наука - 2009», посвященной Году поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Медицинского работника, (г. Уфа, 2009 г.); конференции ученых Республики Башкортостан с международным участием «Научный Прорыв - 2009», посвященной Году Поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Республики, (г. Уфа, 2009 г.); научно-методической конференции «Гаммермановские чтения - 2011» (г. Санкт-Петербург, 2011 г.); Республиканской конференции стоматологов «Актуальные вопросы современной стоматологии» (г. Уфа, 2012 г.); Всероссийской молодежной конференции «Фармакологическая коррекция процессов жизнедеятельности. Доклинические и клинические исследования новых лекарственных препаратов» (г. Уфа, июль 2012г.); 77-й Российской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященных 80-летию БГМУ «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, апрель 2012 г.); международной научной конференции «Нетрадиционные, новые и забытые виды растений: теоретические и практические аспекты культивирования» (Украина, г. Киев, сентябрь 2013 г.); I международной

научной конференции «Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы» (г. Новосибирск, май 2013 г.); XI международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (г. Москва, 2015 г.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 17 работ, из них 6 статей - в изданиях из перечня, рекомендованного ВАК при Минобрнауки России, 1 патент.

**Личное участие автора.** Все экспериментальные результаты, представленные в диссертации, получены самим автором. Выполнены исследования по изучению морфолого-анатомических особенностей строения листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного. Проведен качественный и количественный анализ биологически активных веществ листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного. Разработана методика количественного определения полисахаридов, показателей качества листьев, корневища с корнями. Проведена статистическая обработка и интерпретация результатов исследований, подготовлены научные публикации.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, пунктам 6 и 7 паспорта специальности «фармацевтическая химия, фармакогнозия».

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 155 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Объекты и методы исследования», 5 экспериментальных глав, выводов, списка литературы и приложений, 54 таблицы, 42 рисунка. Список литературы включает 188 библиографических источников, из которых 69 иностранных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **1. Объекты и методы исследования**

Объектами исследования служили листья, корневища с корнями дягиля лекарственного *Archagelica officinalis*, собранные в разные сроки вегетации растения в районах Республики Башкортостан в течение 2008-2012 годов.

Для изучения химического состава исследуемого сырья, использовали как классические, так и современные методы анализа: хроматографию в тонком слое сорбента, титриметрические методы, спектрофотометрию, газовую хроматографию/масс-спектрометрию (ГХ/МС), рентгенофлуоресцентный метод.

Морфолого-анатомический анализ проводили в соответствии с требованиями ГФ СССР XI издания с использованием микровизора MVZ-103, микроскопа «Минимед-501».

Определение числовых показателей осуществляли руководствуясь методиками ГФ СССР XI издания (вып.1,2) и ГФ XII РФ издания, разработку проекта нормативной документации - в соответствии с ОСТ 91500.05.001-00.

Оценка биологической активности листьев, корневищ с дягиля лекарственного проводилась совместно с Лабораторией биоорганической химии УНЦ РАН (доцент Н.Ж. Басченко), кафедрой фармакологии №2 Башкирского государственного медицинского

университета (профессор Л.А. Валеева), ЦНИЛ Башкирского государственного медицинского университета (профессор Р.Р. Фархутдинов). Микробиологические исследования проводились на лабораторных клинических штаммах бактерий в экспериментальной лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии БГМУ. Исследование биологической активности проводили на мышах, крысах, а также *in vitro* в модельных системах. При работе с животными соблюдались Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных (1985). Определение острой токсичности проводили по известной методике (Беленький, 1963). Антиоксидантную активность листьев, корневищ с корнями дягиля изучали с использованием трех методов (*in vitro*): по способности ингибировать аутоокисление адреналина, методом хемилюминесценции и с использованием экспресс-метода на культуре клеток по Степановой Э.Ф. Антимикробную активность настоя листьев и отвара корневищ с корнями дягиля лекарственного определяли методом серийных разведений на твердых питательных средах и методом бумажных дисков, аналогичным методу для определения антимикробной активности антибиотиков.

Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с применением программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0». Достоверность различий между выборками определялась по непараметрическому U-критерию Манна-Уитни.

## **2. Морфолого-анатомическое исследование листьев дягиля лекарственного (*folia Archangelica officinalis Hoffm.*), корневищ с корнями дягиля лекарственного (*rhizomata cum radicibus Archangelicae officinalis Hoffm.*)**

В рамках исследований нами проведены морфолого–анатомические исследования листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного. Подземные органы дягиля лекарственного представляют собой короткие, конические, кольчатые корневища (длина 6-8 см), имеющие ровный, гладкий излом с отходящими от них многочисленными продольными, морщинистыми, слегка бугристыми придаточными корнями (длина 15-25 см, толщина 0,2–0,7 см). На изломах корневища в толстой коре заметны смоляные ходы в виде блестящих оранжевых точек. Снаружи цвет корневища бурый и красновато-серый, белый и слегка желтоватый внутри. На поперечном разрезе корневища и корней под лупой видна перидерма наружной коры, широкий пояс внутренней коры с многочисленными блестящими точками перерезанных каналов, темный слой камбия и расходящиеся из центра лучами сосуды ксилемы. В центре корневища имеется сердцевина, отсутствующая в корнях. Запах сильный, специфический, ароматный, при измельчении усиливающийся. Вкус пряный, горьковатый, слегка жгучий.

Листья дягиля лекарственного длинные (до 80 см) тройчатые, дважды-, триждыперистые, доли крупные, листочки яйцевидные или продольные, крупнопильчатые. Листовые доли верхних листьев яйцевидные или яцевидноланцетные, длиной 5–8 см, длинно–заостренные, неравно–пильчатые, концевые листочки более-менее трёхлопастные, боковые – несимметрично-двухлопастные. Цвет от светлого до темного–зеленого. Запах ароматный. Вкус пряный.

В ходе микроскопического анализа были установлены анатомо-диагностические признаки исследуемого сырья. При рассмотрении листовой пластинки листа установлено, что клетки верхнего эпидермиса большей частью слабоизвилистые с тонкими стенками и тонкоскладчатой кутикулой (рис. 1). Стенки клеток часто имеют неравномерно-четковидные утолщения. Нижняя сторона листа имеет извилистые клетки эпидермиса (рис. 2). Устьичный аппарат аномоцитного типа (рис. 3, 4). Характерно наличие столбчатого мезофилла (рис. 5). Обнаружены волоски двух типов: простые многоклеточные (рис. 6) и одноклеточные сосочковидные (рис. 7). Также обнаружены простые короткие волоски по краю листа (рис. 8).

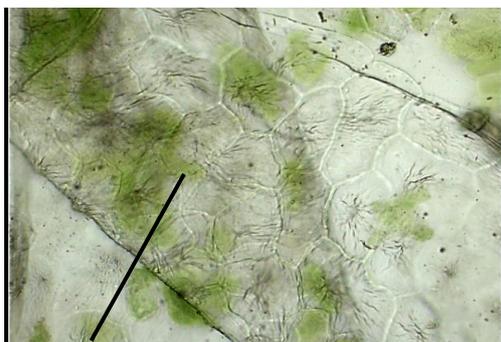


Рис. 1. Фрагмент эпидермиса верхней стороны листа (увел. 20 x 40)  
1 – складчатость кутикулы.



Рис. 2. Фрагмент эпидермиса нижней стороны листа (увел. 20 x 40)  
1 - складчатость кутикулы, 2- устьице.

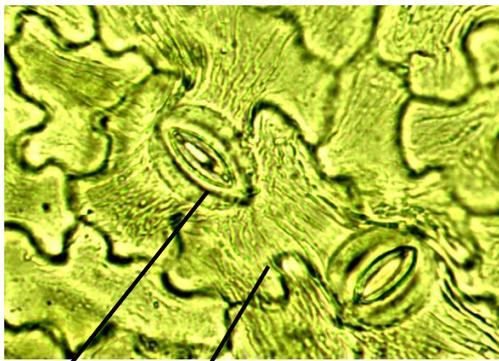


Рис. 3. Фрагмент листа (увел.20 x 80)  
1- устьице, 2 - складчатость кутикулы.



Рис.4. Фрагмент листа (увел. 20 x 10)  
1- устьице, 2 - складчатость кутикулы.

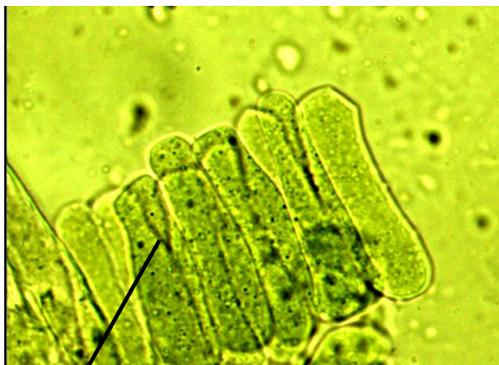


Рис. 5 Фрагмент листа (увел. 20 x 4)  
1- столбчатый мезофиллю

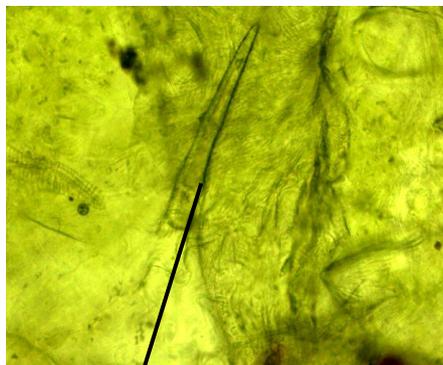
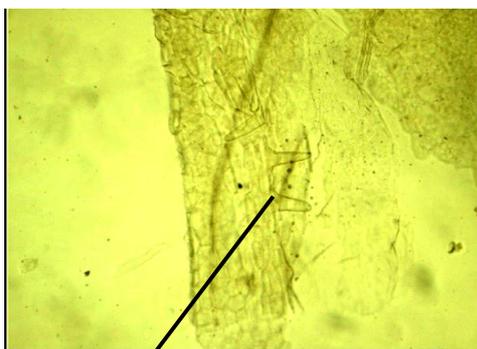
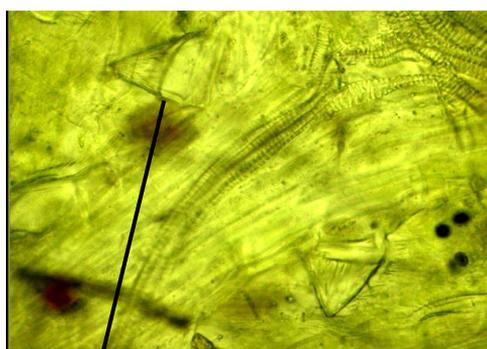


Рис. 6. Фрагмент листа (увел.20 x 10)  
1 – простой многоклеточный волосок.



1

Рис. 7. Фрагмент листа (увел. 20 x 10)  
1- простой одноклеточный волосок.



1

Рис. 8. Фрагмент листа (увел.20 x 40)  
1- простой одноклеточный сосочковидный

ВОЛОСОК.



1

2

3

4

Рис. 9. Вторичное беспучковое строение  
корня (увел. 10 x 4)  
1 – паренхима, 2 - камбий,  
3- сердцевинные лучи, 4 - ксилема.



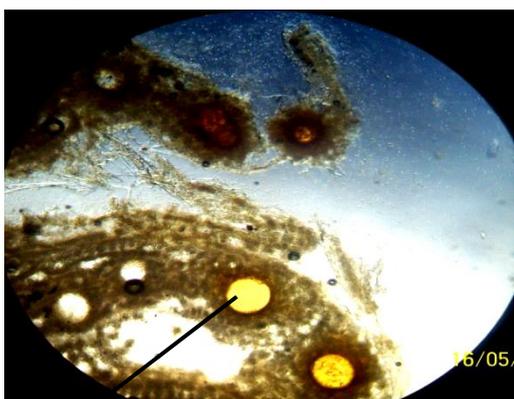
1

2

3

4

Рис. 10. Вторичное беспучковое строение  
корня (увел.10 x 10)  
1 – паренхима, 2 – камбий,  
3- сердцевинные лучи, 4 - ксилема.



1

Рис. 11. Фрагмент корня (увел. 10 x 4)  
1 - схизогенные вместилища.



1

Рис. 12. Фрагмент корня увел. (10 x 10)  
1 - пробка.

При рассмотрении подземных органов корней дягиля лекарственного установлено, что корни имеют вторичное беспучковое строение (рис. 9, 10). Покровная ткань - пробка, клетки которой имеют прямоугольную утолщенную форму с прямыми стенками и расположены ровными рядами (рис. 12). В слое ксилемы хорошо заметны паренхимные клетки, составляющие сердцевинные лучи. При окрашивании раствором Люголя в клетках паренхимы обнаруживаются крахмальные зерна темно-фиолетового цвета. В ко-

ре отмечено наличие схизогенных вместилищ (рис. 11), содержащих капли эфирного масла, которое окрашивается раствором судана III в красно-оранжевый цвет.

В ходе микроскопического анализа были выявлены диагностически-значимые признаки (ДЗП) и проведена их количественная оценка. Среднее значение ДЗП листьев дягиля лекарственного составило  $14,25 \pm 0,30$ . Среднее значение ДЗП корневища с корнями дягиля лекарственного составило  $34,66 \pm 0,26$ .

### 3. Фитохимическое исследование основных групп биологически активных веществ дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis Hoffm.*)

В результате проведения качественных реакций в листьях, корневищах и корнях дягиля лекарственного были обнаружены следующие группы биологически активных веществ (БАВ): полисахариды, дубильные вещества конденсированной природы, фенол-карбоновые кислоты, флавоноиды, кумарины, аминокислоты, аскорбиновая кислота, сапонины, органические кислоты.

Исследование химического состава листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного проводилось с использованием различных физико-химических и инструментальных методов.

Методом тонкослойной хроматографии анализировали извлечения сырья, полученные с использованием метилового спирта в соотношении 1:10. Наилучшее разделение было достигнуто при использовании следующей системы растворителей: этилацетат – толуол (7:93).

В извлечении корневищ с корнями дягиля лекарственного обнаружено 7 веществ кумариновой природы, из которых одно соединение по флуоресценции в УФ – свете, по величине  $R_f$  в сравнении со стандартным образцом (PCO) соответствует бергаптену.

В извлечении листьев дягиля лекарственного обнаружено 4 вещества кумариновой природы, из которых одно соединение по флуоресценции в УФ – свете, по величине  $R_f$  в сравнении со стандартным образцом (PCO) соответствует бергаптену.

Кумарины были экстрагированы из листьев и корневищ с корнями *A. archangelica* неполярными растворителями по Прокопенко и Колесникову.

Для подтверждения структуры кумаринов использован метод ГХ/МС. В экстракте листьев идентифицировано семь кумариновых соединений — производных псоралена, из которых наибольший фармакологический интерес представляют: прангенин (оксиимператорин) - 20,66 %, изомеры прангенина - 32,80%, бергаптен - 4,07 %, метоксален - 1,94%, остол - 4,78%. Выделен также хромон - метиловый эфир пеуцина, ранее обнаруженный в корнях горичника японского.

В экстракте корневищ с корнями идентифицирован ряд кумариновых соединений, из которых преобладают: бергаптен - 2,74%, ангелицин -1,69%, метоксален – 2,65%, остол - 5,09%, ороселан (кванин) -71,36 %.

Эфирное масло получали из воздушно-сухого сырья (листья, корневищ с корнями) методом Гинзберга (№ 1 по ГФ СССР XI издания, вып. 1). При получении эфирного масла из листьев дягиля лекарственного выход был незначительный, поэтому отсутство-



Трициклические сесквитерпены  $\alpha$ - и  $\beta$ - копаен (2,71% и 1,55%), оказывают карминативное действие, повышают устойчивость лимфоцитов и нервных клеток человека к окислительным стрессам.

Обнаружены также макроциклические лактоны, свойственные *A. archangelica* – экзальтолид и 15-гексадеканолит, в количестве, сопоставимом с западноевропейскими образцами. Эти соединения обладают способностью фиксировать и "облагораживать" запахи парфюмерных композиций.

Рентгенофлуоресцентным методом в листьях, корневищах с корнями дягиля лекарственного изучен макро- и микроэлементный состав растения. Установлено количественное содержание 12 элементов в листьях и 13 элементов в корневищах с корнями дягиля лекарственного. Определен аминокислотный состав в листьях, корневищах с корнями дягиля лекарственного. Установлено наличие 14 аминокислот. Исследование аминокислотного состава показало, что для листьев дягиля лекарственного характерно накопление пролина, глицина, валина, аргинина, серина, фенилаланина, для корневищ с корнями – пролина, глицина, цистеина, валина.

В листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного, собранного в РБ с 2008 по 2012 гг. было определено содержание различных групп БАВ (табл.1).

Таблица 1

Содержание некоторых групп биологически активных веществ в листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного (%)

Группа БАВ / метод количественного определения БАВ	Листья дягиля лекарственного	Корневища с корнями дягиля лекарственного
Флавоноиды/ спектрофотометрический	1,048±0,052 - 1,073±0,037	0,160±0,007 - 0,166±0,003
Дубильные вещества / оксидиметрический	7,21±0,08 - 7,46±0,22	4,50±0,19 - 4,63±0,25
Фенолкарбоновые кислоты/ спектрофотометрический	2,53±0,09 - 2,65±0,13	4,29±0,14 - 4,35±0,17
Аскорбиновая кислота / титриметрический	0,87±0,02 - 0,92±0,03	0,49±0,01 - 0,54±0,02
Органические кислоты/ титриметрический	0,60±0,01 - 0,68±0,02	0,150±0,007- 0,170±0,007
Сапонины/ спектрофотометрический	0,0083±0,0001- 0,0087±0,0004	0,0039±0,0001- 0,0043±0,0002
Кумарины/ спектрофотометрический	2,968±0,114 - 3,035±0,088	1,062±0,041- 1,103±0,052
Полисахариды/ гравиметрический	6,48±0,32 - 7,40±0,24	6,70±0,18 -7,81±0,35.

По результатам проведенного количественного определения комплекса биологически активных веществ в сырье дягиля лекарственного можно отметить высокое со-

держание полисахаридов. Полисахариды обладают широким спектром фармакологической активности. Нами были подобраны оптимальные условия и разработана методика количественного определения суммы полисахаридов в листьях, корнях и корневищах дягиля лекарственного.

Количественное содержание суммы полисахаридов определяли гравиметрически. К управляемым технологическим факторам относятся: размер частиц сырья, соотношение сырья и экстрагента и кратность экстракции.

На основании проведенных исследований установлено, что наибольший выход полисахаридов достигается при измельчении сырья до частиц, проходящих сквозь сито с отверстием для корневищ с корнями – 5 мм, для листьев – 2 мм; при соотношении сырья и экстрагента для корневищ с корнями – 1:15, для листьев 1:20; оптимальная кратность экстракции для корневищ с корнями и листьев – 3-х кратная, при осаждении полисахаридов трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта 95%.

#### **4. Исследования по стандартизации сырья дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis Hoffm.*)**

Для внедрения в практику нового вида лекарственного растительного сырья необходимо создание нормативной документации, что включает себя разработку показателей подлинности и доброкачественности.

На основании проведенных хроматографических исследований для качественной характеристики листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного нами предлагается методика хроматографического анализа в тонком слое сорбента в системе растворителей этилацетат – толуол (7:93) для включения в раздел «Качественные реакции» в проект ФС.

##### Методика качественного определения корневища с корнями дягиля лекарственного.

На линию старта пластинки «Silufol UV 254» капилляром наносят 0,02 мл подготовленного извлечения (раздел 3.3.5) и по 0,02 мл 0,05% раствора РСО бергаптена. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 минут. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм обнаруживаются 7 основных пятен, одно из которых с  $R_f$  0,33 бергаптен (рис. 15).

##### Методика качественного определения листьев дягиля лекарственного.

На линию старта пластинки «Silufol UV 254» капилляром наносят 0,02 мл подготовленного извлечения (раздел 3.3.5) и по 0,02 мл 0,05% раствора РСО бергаптена. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 минут. При просмотре хроматограммы в УФ-свете

при длине волны 365 нм обнаруживаются 4 основных пятен, одно из которых с  $R_f$  0,3 бергаптен (рис.16).

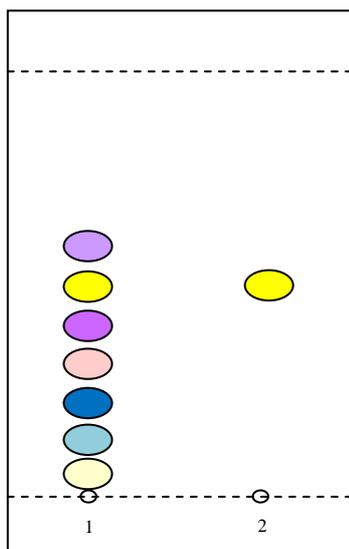


Рис.15. Хроматограмма корневищ с корнями дягиля лекарственного в системе этилацетат – толуол (7:93) (1-извлечение корневищ с корнями дягиля лекарственного, 2- раствор бергаптена)

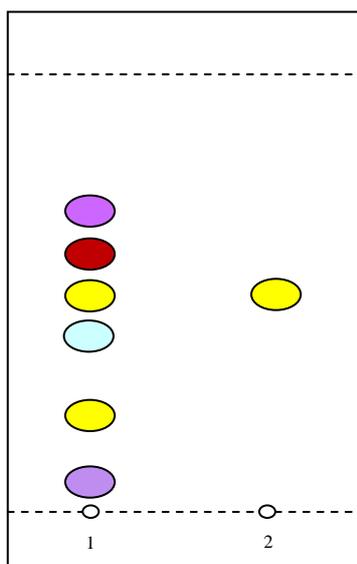


Рис. 16. Хроматограмма листьев дягиля лекарственного в системе этилацетат – толуол (7:93) (1- извлечение листьев дягиля лекарственного, 2- раствор бергаптена)

На основании проведенных фитохимических исследований для количественной оценки листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного нами предлагается определение содержания суммы полисахаридов.

Методика количественного определения водорастворимых полисахаридов в сырье дягиля лекарственного листья и дягиля лекарственного корневища с корнями

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстием для корневищ с корнями 5 мм, для листьев 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, соединяют с обратным холодильником и экстрагируют

водой очищенной трижды по 30 мин на кипящей водяной бане при соотношении сырья-экстрагент для корневищ с корнями 1:15, для листьев 1:20. Извлечения каждый раз фильтруют через бумажный фильтр и объединяют. Водорастворимые полисахариды (ВРПС) осаждают трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта этилового 95% при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывают, промывают спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивают и взвешивают.

Расчет количественного содержания водорастворимых полисахаридов производят по формуле:

$$X = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - W)},$$

где m – масса сырья, г;

$m_1$  – масса водорастворимых полисахаридов, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Относительная ошибка опыта не превышает 5% (табл.2).

Таблица 2

**Метрологическая характеристика методики количественного определения полисахаридов в листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного**

	n	f	хср	$\Delta x^2$	$S^2_{cp}$	$S_{cp}$	P	T (P,f)	$\Delta x$	$\epsilon, \%$
Корневища с корнями	7	6	8,92	0,6912	0,01646	0,1283	0,95	2,47	0,32	$\pm 3,86$
Листья	7	6	8,82	0,2479	0,0059	0,077	0,95	2,47	0,19	$\pm 2,15$

Согласно требованиям к стандартизации неотъемлемая часть современного количественного анализа является валидация (оценка пригодности) используемых аналитических методик, которая включает в себя следующие характеристики: линейность, повторяемость, воспроизводимость.

Нами была проведена валидационная оценка методики количественного определения суммы полисахаридов по линейности, повторяемости и воспроизводимости. В ходе исследования установлено, что методика легко воспроизводима, доступна, занимает минимум рабочего времени, не требует дорогостоящих реактивов.

Таким образом, на основании проведенных фармакогностических и фитохимических исследований можно рекомендовать в качестве нового источника лекарственного растительного сырья листья и корневища с корнями дягиля лекарственного. Для введения в проект ФС предлагаются следующие показатели качества, представленные в таблице 3.

Таблица 3

**Показатели качества листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного**

Показатели качества	Методы испытания	Нормы (корневища с корнями)	Нормы (листья)
Внешние при-	Визуальный (с помо-	Соответствует ФС	Соответствует ФС

знаки	щью микроскопа и лупы), органолептический, ГФ XI		
Микроскопия	ГФ XI, вып. 1	Соответствует ФС	Соответствует ФС
Качественные реакции	ТСХ	Соответствует ФС	Соответствует ФС
<i>Числовые показатели:</i>			
Содержание полисахаридов	Гравиметрический метод	Не менее 5%	Не менее 5%
ДЗП	Микродиагностический	не менее 31%	не менее 12%
Влажность	ГФ XI, вып. 1	не более 14%	не более 14%
Золы общей	ГФ XI, вып. 1	не более 14%	не более 14%
Органическая примесь	ГФ XI, вып. 1	не более 2,0%	не более 2,0%
Минеральная примесь	ГФ XI, вып. 1	не более 1%	не более 1%
Измельченность частиц, не проходящих сквозь сито d=7 мм	ГФ XI, вып. 1	не более 10%	не более 10%
Измельченность частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	ГФ XI, вып. 1	не более 10%	не более 10%
Микробиологическая чистота	ГФ XII, ст.32	Соответствует категории 4А	Соответствует категории 4А
Хранение		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C	В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C
Срок годности		3 года	3 года

## **5. Исследование биологических свойств листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis Hoffm.*)**

### **5.1. Определение острой токсичности сырья *A. officinalis***

Острая токсичность настоя листьев и отвара корневищ с корнями дягиля определена на белых беспородных мышах. Параметры острой токсичности вычислялись по методу Литчфильда и Уилкоксона. Листья и корневища с корнями дягиля лекарственного отнесены к классу малотоксичных соединений, что позволяет судить о безопасности данных видов сырья.

## 5.2. Оценка антимикробной активности листьев, корневищ с корнями *A. officinalis*

Противомикробная активность листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного была изучена на тест-микроорганизмах методом двукратных серийных разведений. В качестве препарата сравнения при определении антимикробной активности сырья дягиля нами были взяты почки сосны, т.к. именно данный вид сырья в Государственном реестре рекомендован в качестве антимикробного средства. Водные извлечения из растительного сырья готовили в соответствии с требованиями ГФ СССР XI издания (ст. «Настои и отвары»). Полученные результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Антимикробная активность листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного

№ п/п	Сырье/ растение	Разведение	Тест–микроорганизмы	
			<i>P. aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>
1	Корневище с корнями дягиля лекарственного	1:10	-	-
		1:20	+	-
		1:40	+	+
2	Листья дягиля лекарственного	1:10	+	-
		1:20	+	-
		1:40	+	-
3	Почки сосны	1:10	-	-
		1:20	+	-
		1:40	+	+

“-” – отсутствие роста тест–микроорганизмов

“+” – рост тест–микроорганизмов

Как видно из результатов, представленных в таблице, корневища с корнями дягиля лекарственного при сравнительной оценке антимикробной активности по отношению к тест–микроорганизмам *E.coli* и *P. aeruginosa* не уступают почкам сосны.

Нами была изучена также антимикробная активность сырья дягиля методом бумажных дисков на модели опыта. Результаты определения представлены в таблице 5. Критерием оценки эксперимента являлись значения зон подавления роста тест-микроорганизмов в мм на 4 эталонных штаммах, наиболее часто встречающихся при гнойно-воспалительных процессах.

Таблица 5

Определение антимикробной активности водных извлечений методом бумажных  
дисков

№ п/п	Сырье/растение	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	Контр оль
1	Корневище с корнями дягиля лекарственного	- (2 мм)	- (2мм)	-(5 мм)	-(3 мм)	+

2	Листья дягиля лекарственного	+(2мм)	-(2мм)	-(2 мм)	+(2 мм)	+
3	Почки сосны	-(1мм)	-(1мм)	-(1мм)	-(1мм)	+

По результатам исследований, приведенных в таблице 5, из исследуемых водных извлечений наилучшие результаты следует отметить у корневищ с корнями дягиля лекарственного. Данный анализ дает возможность прогнозировать введение корневищ с корнями дягиля лекарственного в состав сборов с целью достижения антимикробного эффекта в сочетании с различными ингредиентами при создании новых лекарственных средств.

### 5.3. Определение антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности экстрактов *A. officinalis*

Антиоксидантную активность (АОА) проводили с использованием трех методик: спектрофотометрии, хемилюминесценции и на модели *in vitro* экспресс-методом на культуре клеток.

Согласно спектрофотометрическому методу, основанному на реакции аутоокисления адреналина, антиоксидантная активность корневища и корней дягиля лекарственного составила  $16 \pm 0,5\%$ . Результаты исследования показали, что листья не оказывают антиоксидантного действия.

Измерение изменения хемилюминесцентного свечения проводили на двух  $Fe^{2+}$ -индуцированных модельных системах *in vitro* по влиянию на активных форм кислорода (АФК) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) (табл.6).

Таблица 6

Влияние исследуемых извлечений на светосумму модельных систем

№ п/п	Исследуемые объекты	Концентрация, мг/мл	Светосумма свечения, усл.ед.	АОА, %
Хемилюминесцентный метод / влияние на АФК				
1	Контроль		5,60	
2	Настой из плодов шиповника (1:10)	0,1	3,50	$37,5 \pm 1,3$
3	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,2	7,10	$-26,78 \pm 0,9$
4	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,1	7,0	$-25 \pm 0,9$
5	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,05	7,30	$-30,35 \pm 1,4$
6	Настой из листьев дягиля (1:10)	0,1	7,20	$-28,57 \pm 1,2$
Хемилюминесцентный метод / влияние на ПОЛ				
1	Контроль		25,60	

2	Настой из плодов шиповника (1:10)	0,1	16,50	35±1,7
3	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,1	22,0	14±0,6
4	Настой из листьев дягиля (1:10)	0,1	27,0	-5,46±0,2

В таблице 6 приведены данные о влиянии изучаемых объектов на хемилюминесценцию модельных систем, генерирующих АФК и инициирующих ПОЛ. При исследовании влияния водных извлечений на модельные системы с АФК наблюдалось изменение светосуммы свечения по сравнению с контролем в сторону увеличения. Угнетение хемилюминесценции зависело от объема извлечения вводимого в модельную систему (наблюдали на отваре из корневищ и корней 0,2 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,05 мг/мл). Следовательно можно утверждать, что наблюдается дозозависимый эффект.

В модельных системах ПОЛ с желточными липопротеидами и водными извлечениями из дягиля лекарственного наблюдались изменения уровней свечения в отваре из корневищ с корнями в сторону уменьшения, а в настое из листьев в сторону увеличения.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в реакциях аутоокисления адреналина и в модельных системах ПОЛ отвар из корневищ с корнями дягиля лекарственного проявляет себя как антиоксидант, а настой из листьев – как прооксидант. В модельных системах, генерирующих АФК все исследуемые извлечения действовали одинаково: увеличивали процессы образования свободных радикалов, т.е. проявляли себя как активные прооксиданты.

Антиоксидантную и мембраностабилизирующую активности проводили модели *in vitro* экспресс-методом на культуре клеток. Проведенные исследования показали, что при низких концентрациях адаптогенные свойства корневищ с корнями дягиля выражены незначительно, однако при увеличении концентрации до 20% - 40% извлечение из корневищ с корнями дягиля лекарственного проявляет среднюю мембраностабилизирующую и антиоксидантную активность. Наличие у дягиля мембраностабилизирующих свойств может рассматриваться как один из механизмов, реализующих его противовоспалительное действие, обеспечивая целостность клеточных мембран и мембран субклеточных органелл от повреждающего действия лизосомальных ферментов.

## **6. Разработка способа получения сухого экстракта из корневищ с корнями *A. officinalis***

Для получения сухого экстракта мы использовали методику ГФ СССР XI издания, ст. «Определение содержания экстрактивных веществ». При получении сухого экстракта с максимальным выходом действующих веществ, в качестве экстрагента выбрана вода очищенная (1:10) для последовательной экстракции сырья методом ступенчатой дробной мацерации с периодическим перемешиванием.

Для получения сухого экстракта разработана следующая технологическая схема:

- навеску сырья, проходящую сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, последо-

вательно экстрагировали водой в соотношение 1:10, на кипящей водяной бане, в течение 2 часов, в трехкратной повторности последовательно; по окончании экстракции колбу охлаждали и вес колбы доводили экстрагентом до первоначальной массы;

- водные извлечения объединяли, охлаждали, фильтровали, сгущали в роторном выпарном аппарате до остатка густой консистенции, доводили в вакуум – сушильном шкафу при температуре 60-70°C до остаточной влажности не более 5%. Выход конечного продукта составил 33%.

Далее определяли числовые показатели экстракта. Влажность полученного экстракта составила от 4,03% ± 0,13% до 4,06% ± 0,12%, что удовлетворяет требованиям ГФ СССР XI издания (не более 5%); зольность составила от 2,75% ± 0,13% до 2,81% ± 0,11%; содержание тяжелых металлов не превышает допустимого уровня, установленного ГФ СССР XI издания.

Полученный сухой экстракт представляет собой кристаллический гигроскопический порошок темно-коричневого цвета со специфическим запахом и пряным вкусом, растворимый в воде при нагревании и 40% спирте этиловом.

Для определения подлинности экстракта предлагается качественная реакция:

Около 0,1 г сухого экстракта растворяют в 10 мл воды очищенной. К 5 мл полученного раствора прибавляют 20 мл 95% спирта этилового и перемешивают; появляются хлопьевидные сгустки, выпадающие в осадок при стоянии (полисахариды).

Количественное содержание полисахаридов в сухом экстракте корневищ с корнями дягиля лекарственного составляет от 6,92±0,31 до 7,57±0,34.

Статистическая обработка метода представлена в таблице 7. Относительная погрешность результатов количественного определения полисахаридов в сухом экстракте корневищ с корнями дягиля лекарственного составила 4,5%.

Таблица 7

**Метрологическая характеристика методики количественного определения полисахаридов в сухом экстракте корневищ с корнями дягиля лекарственного**

	f	х <sub>ср</sub>	Δx <sup>2</sup>	S <sup>2</sup> <sub>ср</sub>	S <sub>ср</sub>	P	T (P,f)	Δx	ε, %
	2	7,29	0,01201	0,00600	0,07749	0,95	4,303	0,33	±4,5

На основании проведенного анализа разработаны числовые показатели и нормы их содержания в сухом экстракте *A. officinalis*.

**Выводы:**

1. Установлены макро- и микродиагностические признаки листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного. Выявлены диагностически значимые признаки для стандартизации листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного с использованием микроскопического анализа.

2. Исследован химический состав листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного с использованием современных методов анализа. В экстракте листьев идентифицировано 7 кумариновых соединений - производных псоралена, из которых наибольший фармакологический интерес представляют: прангенин (оксиимператорин),

изомеры прангенина, бергаптен, метоксален, остол. В экстракте корневищ с корнями идентифицирован ряд кумариновых соединений, из которых преобладают: бергаптен, ангелицин, метоксален, остол, ороселан (кваннин). Изучен компонентный состав эфирного масла в листьях и в корневищах с корнями *A. officinalis*. В корневищах с корнями идентифицировано 61 соединение, в листьях дягиля лекарственного идентифицировано 40 соединений. В листьях и подземных органах дягиля обнаружено наличие циклогексановых сесквитерпеноидов – элеменов, элеменола и спатуленола. В листьях установлено наличие β-элемена, α-кариофиллена (хумулена). В листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного установлено содержание флавоноидов, фенолкарбоновых и органических кислот, кумаринов, суммы дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, эфирных масел, аминокислот, макро- и микроэлементов.

3. Разработаны показатели подлинности и доброкачественности листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного для включения в проекты нормативной документации. Предложена модифицированная методика количественного определения полисахаридов, как доминирующей группы биологически активных веществ, для стандартизации сырья дягиля лекарственного и проведена ее валидация.

4. Проведена оценка биологических свойств листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного: определена острая токсичность, установлена антиоксидантная, мембраностабилизирующая, антимикробная и противогрибковая активность.

5. Обоснован способ получения сухого экстракта и определены числовые показатели, показатели подлинности и содержание полисахаридов в экстракте, полученном из корневищ с корнями дягиля лекарственного.

6. Разработаны проекты ФС «Дягиля лекарственного листа», «Дягиля лекарственного корневища с корнями».

**Практические рекомендации.** Результаты диссертационной работы позволяют внедрить материалы диссертации в учебный процесс на кафедрах фармакогнозии медицинских и фармацевтических вузов РФ, а также в центрах сертификации и контроля качества ЛС и на фармацевтических предприятиях. Внедрение сырья дягиля лекарственного в официальную медицину может позволить использовать его в качестве нового сырьевого источника с антиоксидантными, антимикробными и противогрибковыми свойствами.

**Перспектива дальнейшей разработки темы.** На основании проведенных фармакогностических, фитохимических и биологических исследований показана целесообразность разработки и внедрения новых отечественных импортозамещающих лекарственных препаратов из листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного. Полученные данные включены в проект ФС «Дягиля лекарственного листа», «Дягиля лекарственного корневища с корнями».

## Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Хасанова С.Р. Определение содержания йода в некоторых дикорастущих и культивируемых лекарственных растениях Республики Башкортостан и в сборах / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, С.В. Трофимова, Р.Р. Файзуллина, Т.В. Булгаков, А.П. Потанина, Э.Х. Галиахметова, Шакирова Ф.А. // **«Традиционная медицина»**. – 2011. №5. – С. 294-297.
2. Шакирова Ф.А. Изучение биологических свойств дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis* Hoffm) из флоры Башкортостана / Ф.А. Шакирова, Т.Р. Низамутдинов, Н.В. Кудашкина, З.Г. Габидуллин // **Медицинский вестник Башкортостан»**. - 2012. - Т.7. - № 5. – С. 118-119.
3. Хасанова, С.Р. Исследование аминокислотного состава некоторых дикорастущих растений из флоры Республики Башкортостан / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, С.В. Трофимова, Р.Р. Файзуллина, Т.В. Булгаков, Д. И. Грицаенко, Ф.А. Шакирова // **Башкирский химический журнал**. – 2013. – Т.20. - №1. – 108-110.
4. Баширова Р.М. Кумарины корней и листьев дягиля лекарственного *Angelica archangelica* L. Уральского региона / Р.М. Баширова, Ф.А. Шакирова, Н.В. Кудашкина, Е.В. Галкин, А. Г. Мустафин // **Вестник Башкирского университета**, 2013, –№4. – С. 1078.
5. Баширова Р.М. Состав эфирных масел корней *Angelica archangelica* Уральского региона / Р.М. Баширова, Ф.А. Шакирова, Н.В. Кудашкина, Е.В. Галкин, А. Г. Мустафин // **Известия Уфимского научного центра РАН**. - 2014. - №1. - С. 15-21.
6. Кудашкина Н.В. Биохимическое обоснование использования *Angelica archangelica* L. в монастырской практике / Н.В. Кудашкина , Р.М. Баширова, Ф.А. Шакирова, Е.Г. Галкин, А.Г. Мустафин // **«Традиционная медицина»**. – 2015. №2. – С. 41.
7. Шакирова Ф.А. Анатомическая характеристика некоторых видов сырья дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis* Hoffm) из флоры Башкортостана / Ф.А. Шакирова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Файзуллина // **Материалы Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан с межд. участием «Медицинская наука – 2009»**, посвященная году Поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Медицинского работника. - Уфа: БГМУ, 2009. – С. 291-292.
8. Шакирова Ф.А. Дягиль лекарственный (*Archangelica officinalis* Hoffm) из флоры Башкортостана /Ф.А. Шакирова, Н.В. Кудашкина // **Сб. научных трудов конференции ученых Республики Башкортостан с международным участием «научный Прорыв - 2009»**, посвященный Году Поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Республики. - Уфа: БГМУ, 2009. – С. 31-32.
9. Шакирова Ф.А. Анатомическая характеристика листьев и корней дягиля лекарственного из флоры Башкортостана / Ф.А. Шакирова, Р.М. Баширова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Файзуллина // **Сб. научных трудов научно-методической конф. «Гаммермановские чтения – 2011»**. - Санкт-Петербург, 2011. – С. 91-92.
10. Чуйкин С.В. Оценка субъективных ощущений в полости рта у детей с хронической почечной недостаточностью, находящиеся на гемодиализе / С.В. Чуйкин, Н.В.

Кудашкина, А.З. Галимова, Ф.А. Шакирова, Е.Г. Егорова // Материалы респ. конференции стоматологов «Актуальные вопросы современной стоматологии». – Уфа, 2012. - С. 255-257.

11. Чуйкин С.В. Применение жевательного фитосубстрата в профилактике и лечении стоматологических заболеваний у детей с хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе / С.В. Чуйкин, Н.В. Кудашкина, А.З. Галимова, Ф.А. Шакирова // Материалы респ. конференции стоматологов «Актуальные вопросы современной стоматологии». - Уфа, 2012. – С. 315 - 318.

12. Шакирова Ф.А. Изучение биологических свойств порошка и настоя *Archangelica officinalis* Hoffm. (Дягиль) /Ф.А. Шакирова, Т.Р. Низамутдинов // Материалы 77-й Российской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященных 80 – летию БГМУ «Вопросы теоретической и практической медицины». Уфа, 2012.- С. -94.

13. Шакирова Ф.А. О возможности применения лекарственной формы дягиля лекарственного для профилактики и комплексной терапии стоматологических заболеваний у детей с хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе / Ф.А. Шакирова Ф.А., А.З. Галимова, С.В. Чуйкин, Н.В. Кудашкина // Сборник материалы Всероссийской молодежной конференции «Фармакологическая коррекция процессов жизнедеятельности Доклинические и клинические исследования новых лекарственных препаратов», Уфа, 2012.- С. 159-161.

14. Шакирова Ф.А. Кумарины в сырье дягиля *Angelica archangelica* L. / Ф.А. Шакирова, Р.М. Баширова, Н.В. Кудашкина, Е.В. Галкин //Материалы X Межд. Симпозиума «Новые нетрадиционные растения и перспективы их использования». – Киев, 2013. – С. 447 – 449.

15. Шакирова Ф.А. Кумарины в листьях дягиля *Angelica archangelica* L. / Ф.А. Шакирова, Р.М. Баширова, Н.В. Кудашкина, Е.В. Галкин // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы. Материалы I межд. научной конференции. – Новосибирск, 2013. - С. 241-243.

16. Чуйкин С.В. Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у детей с хронической почечной недостаточностью с применением жевательного фитосубстрата / С.В. Чуйкин, Н.В. Кудашкина, А.З. Галимова, Е.Г. Егорова, Ф.А. Шакирова // **Патент на изобретение №2503458 от 27.08.2012 г.**

17. Галиахметова Э.Х. Оценка анти-и прооксидантных свойств водных извлечений из дягиля лекарственного *Angelica archangelica* / Э.Х.Галиахметова, Ф.А. Шакирова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Фархутдинов, Р.М. Баширова, Е.Г. Егорова, С.В. Чуйкин // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. Материалы XI межд. симпозиума – Москва, 2015. – С. 124.