



Сушинская О.А., Голяк Н.С.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Технология получения жидкого экстракта полыни горькой и определение его показателей качества

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Голяк Н.С. – идея, план написания статьи, редактирование статьи; Сушинская О.А. – проведение эксперимента, обработка экспериментальных данных, написание текста.

Финансирование: данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

Подана: 05.06.2023

Принята: 01.08.2023

Контакты: sushinskayaoa@gmail.com

Резюме

Цель исследования. Получение жидкого экстракта травы полыни горькой 1:1 и определение его показателей качества.

Материалы и методы. Объектом исследования выбрали траву полыни горькой производства ООО «Калина» (Республика Беларусь). Для получения 5 серий жидкого экстракта использовали метод реперколяции. Для полученных экстрактов определяли относительную плотность и сухой остаток по общепринятым фармакопейным методикам, для подтверждения наличия флавоноидов, сесквитерпеновых лактонов и фенольных соединений в экстракте проводили качественные реакции, а также использовали метод тонкослойной хроматографии. Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин определяли спектрофотометрическим методом по валидированной методике.

Результаты. Для получения жидкого экстракта полыни горькой травы 1:1 предложены следующие условия: экстрагент – 70%-ный этиловый спирт; метод экстрагирования – реперколяция с делением сырья на равные части в батарее из 3 перколяторов; температура экстракции – комнатная; размеры измельченного сырья – 1–3 мм; коэффициент спиртопоглощения – 4,4. Сухой остаток – $4,72 \pm 0,36\%$, относительная плотность составила $0,9103 \pm 0,0057$, содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте полыни горькой в пересчете на рутин составило $0,154 \pm 0,004\%$.

Заключение. Предложена технология получения жидкого экстракта полыни горькой 1:1. Изучены основные фармакопейные показатели качества экстракта, такие как подлинность и описание, количественное определение, сухой остаток и относительная плотность. Жидкий экстракт является перспективным экстракционным препаратом для дальнейшей разработки топических лекарственных форм противовоспалительного и обезболивающего действия.

Ключевые слова: полынь горькая, *artemisia absinthium*, жидкий экстракт, реперколяция, показатели качества



Olga A. Sushinskaya, Natalya S. Golyak
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Technology of Obtaining Liquid Extract of Wormwood and Determination of its Quality Indicators

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Golyak N. – idea, plan of writing the article, editing of the article; Sushinskaya O. – conducting the experiment, processing of experimental data, writing the text.

Submitted: 05.06.2023

Accepted: 01.08.2023

Contacts: sushinskayaoa@gmail.com

Abstract

The purpose of the study. To obtain a liquid extract of the herb wormwood 1:1 and determine its quality indicators.

Materials and methods. The object of the study was chosen wormwood herb produced by LLC "Kalina" (Republic of Belarus). To obtain 5 series of liquid extract, the method of repercolation was used. For the obtained extracts, the relative density and dry residue were determined according to generally accepted pharmacopoeial methods, qualitative reactions were carried out to confirm the presence of flavonoids, sesquiterpene lactones and phenolic compounds in the extract, and thin-layer chromatography was also used. Quantitative determination of the amount of flavonoids in terms of rutin was determined by the spectrophotometric method according to a validated technique.

Results. To obtain a liquid extract of wormwood bitter herb 1:1, the following conditions are proposed: extractant – 70% ethyl alcohol; extraction method – repercolation with the division of raw materials into equal parts in a battery of 3 percolators; extraction temperature – room; size of crushed raw materials – 1–3 mm; alcohol absorption coefficient – 4.4. Dry residue – $4.72 \pm 0.36\%$, relative density was 0.9103 ± 0.0057 , the content of the sum of flavonoids in liquid the extract of wormwood in terms of rutin was $0.154 \pm 0.004\%$.

Conclusion. The technology of obtaining a liquid extract of wormwood 1:1 is proposed. The main pharmacopoeial indicators of the quality of the extract such as authenticity and description, quantitative determination, dry residue and relative density are studied. Liquid extract is a promising extraction preparation for the further development of topical dosage forms of anti-inflammatory and analgesic action.

Keywords: wormwood, artemisia absinthium, liquid extract, repercolation, quality indicators

■ ВВЕДЕНИЕ

Полынь горькая (*Artemisia absinthium* L.) – фармакопейный вид многолетнего травянистого растения семейства астровых, препараты которого давно используются в медицине как антисептические, обезболивающие, ранозаживляющие, успокаивающие и противовоспалительные средства [1–3]. Такие свойства полыни горькой травы обусловлены наличием в ее составе различных групп биологически активных

веществ (БАВ), таких как эфирные масла, алкалоиды, флавоноиды, горечи и дубильные вещества [4–6]. Поэтому терапевтические свойства данного растения признаны не только народной, но и официальной медициной. Перспективным направлением в изучении полыни горькой и разработке новых лекарственных средств на ее основе является противовоспалительный и обезболивающий эффект. На сегодняшний день имеется широкая доказательная база противовоспалительного действия различных извлечений из различных видов полыни. В исследовании, проведенном Pishgahzadeh et al., использовались мыши, которым вводился внутрь брюшины масляный экстракт полыни. Противовоспалительная эффективность проверялась на вызванном каррагинаном отеке лапы животного. Наибольшее снижение отека наблюдалось в первый час после нанесения экстракта, в то время как у контрольной группы, где использовался диклофенак натрия, максимальный эффект достигался лишь через 2 часа после аппликации [7]. Hoseinian et al. выявили ранозаживляющую активность экстракта полыни горькой на повреждении ахиллова сухожилия у кролика. Этот эффект связывали со свободнорадикальным поглощением β -туйона и β -пинена [8]. На индуцированном локальном остром воспалении у крыс Nalbantsoy et al. исследовали противовоспалительную активность метанольного экстракта полыни горькой, при этом ингибирование отека составило больше 40% [9]. В рандомизированном двойном слепом клиническом исследовании проводилась функциональная оценка эффективности наружных форм, содержащих экстракт полыни горькой, по сравнению с гелем пироксикама в терапии остеоартрита коленного сустава. Использование мази на основе полыни горькой может иметь дополнительный эффект в терапии остеоартрита, и ее использование так же эффективно, как и мягких лекарственных форм пироксикама [10]. На кафедре фармацевтической технологии УО «Белорусский государственный медицинский университет» жидкий экстракт полыни горькой был исследован на противовоспалительную активность на модели острого каррагинанового воспаления лап у крыс. Индекс ингибирования воспаления при наружном применении для жидкого экстракта составил 53% [11]. На основании многочисленных экспериментальных исследований было доказано, что противовоспалительные эффекты индивидуальных соединений полыни горькой, а также ее извлечений тесно связаны с ингибированием высвобождения медиаторов воспаления из макрофагов и продукцией воспалительных цитокинов в воспаленных тканях [1, 3]. Таким образом, получение экстракционных препаратов полыни горькой является актуальным научным направлением в фармацевтической разработке лекарственных средств для воспалительных заболеваний кожи и опорно-двигательного аппарата.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Получение жидкого экстракта полыни горькой травы 1:1 и определение основных показателей его качества.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования выбрали траву полыни горькой производства ООО «Калина» (д. Пищалово, Витебская область, Республика Беларусь). Для проведения экстракции использовали спирт этиловый 96% (ОАО «Бобруйский завод биотехнологий», марка «Экстра М», ТУ 700068910.014-2005), воду очищенную, полученную



методом дистилляции. Для проведения стандартизации в работе были использованы: н-бутанол (х. ч., АО «Экос-1», ТУ 2632-021-44493179-98), ледяная уксусная кислота (х. ч., АО «ЛенРеактив», ГОСТ 61-75), этилацетат (х. ч., ГОСТ 22300-76), муравьиная кислота (ч. д. а., АО «ЛенРеактив», ГОСТ 5848-73), 2-аминоэтиловый эфир дифенилборной кислоты (98%, Acros Organics), алюминий хлористый 6-водный (х. ч., АО «ЛенРеактив», ГОСТ 3759-75), кальция хлорид безводный (ч., АО «ЛенРеактив», ТУ 6-09-4711-81), магний порошок (99+%, Acros Organics), стандартный образец рутина (95%, Sigma-Aldrich), стандартный образец хлорогеновой кислоты (98,05%, 80 mesh, Chem-Imprex), хлористоводородная кислота концентрированная (х. ч., АО «ЛенРеактив», ГОСТ 3118-77).

Подбор технологии получения жидкого экстракта включал выбор экстрагента, соотношения сырья и экстрагента и метода экстрагирования.

Выбор экстрагента. Согласно литературным данным, оптимальной концентрацией спирта этилового для извлечения комплекса флавоноидов и их гликозидов является 50–70%. Также имеются данные о хорошей растворимости эфирных масел в 70%-ном или более крепком спирте этиловом [12, 13]. Кроме того, при получении настойки полыни горькой, широко используемой в медицинской практике в качестве средства для стимуляции аппетита и улучшения функции органов желудочно-кишечного тракта, экстрагентом служит 70%-ный этиловый спирт, что обусловило выбор данной концентрации для экстрагирования.

Выбор соотношения сырья и экстрагента. Согласно стандартному определению жидкие концентрированные водно-спиртовые извлечения из лекарственного растительного сырья производятся в соотношении 1:1, поэтому мы придерживались данного соотношения [12, 13]. Так как сырьем полыни горькой является трава, то была выбрана общепринятая степень измельчения в диапазоне 1–3 мм [13, 14].

Выбор метода экстрагирования. Полыни горькой трава содержит большое количество эфирных масел, поэтому использование методов экстрагирования с увеличением температуры либо упариванием (перколяция) ограничено. Методы реперколяции являются наиболее эффективными способами экстрагирования, позволяющими максимально истощить сырье в перколяторах [12]. С учетом этого нами был выбран метод реперколяции с делением сырья на равные части в батареи из 3 лабораторных перколяторов. Процесс экстракции проводился при комнатной температуре в течение 6 дней. Общий объем экстрагента был разделен на три части для истощения сырья в каждом перколяторе. В первый перколятор подавалась новая порция экстрагента в течение первых трех дней. Экстрагирование во 2-м и 3-м перколяторах проводилось менее концентрированными извлечениями из 1-го и 2-го перколяторов соответственно. Готовый экстракт получали из 3-го перколятора [15].

Для расчета общего объема экстрагента был найден коэффициент спиртопоглощения для полыни горькой травы. В мерный цилиндр вместимостью 25,0 мл помещали 1,0 г сырья полыни горькой, добавляли 20,0 мл спирта этилового 70%-ного и оставляли для настаивания на 24 часа. По истечении суток сливали оставшееся количество жидкости и измеряли его объем. Параллельно проводили 5 испытаний. Коэффициент спиртопоглощения ($K_{\text{сп}}$) находили по разности между количеством залитого экстрагента (V) и средним количеством слитого после настаивания ($V_{\text{сп}}$) [16].

Общий объем 70%-ного спирта этилового находился по формуле [15]:

$$V_{\text{общ}} = N \times m \times (K_{\text{сп}} + n),$$

где $V_{\text{общ}}$ – общий объем экстрагента, см³;

N – число экстракторов;

m – масса сырья в одном экстракторе, г;

$K_{\text{сп}}$ – коэффициент спиртопоглощения, см³/г;

n – коэффициент съема извлечения, см³/г.

После определения оптимальных условий были получены 5 серий жидкого экстракта полыни горькой 1:1 по 30,0 мл для проведения стандартизации и определения основных параметров качества. Очистку экстрактов осуществляли отстаиванием при температуре 8–10 °С в течение 3 суток с последующей фильтрацией через бумажный фильтр [12, 15].

Определение основных показателей качества полученных серий экстракта было проведено на основе фармакопейной статьи Государственной фармакопеи РФ ФС.3.4.0006.18 «Полыни настойка». Для каждой серии жидкого экстракта определены такие показатели качества, как подлинность и описание, сухой остаток, плотность и относительная плотность, количественное определение флавоноидов в пересчете на рутин [17].

Для подтверждения наличия флавоноидов и сесквитерпеновых лактонов проводили качественные реакции. К 10,0 мл жидкого экстракта добавляли 10,0 мл воды и встряхивали с эфиром в делительной воронке в течение 3 минут. Два полученных слоя разделяли на эфирное извлечение и водную часть. Эфирное извлечение упаривали до удаления растворителя. Водную часть обрабатывали 5,0 мл смеси бутанол – вода в соотношении 3:7 и взбалтывали в делительной воронке с получением слоя эфирного и бутанольного извлечений. Бутанольное извлечение упаривали и к остатку добавляли 5,0 мл спирта этилового 96%, затем 0,2 г металлического магния и 1,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной. К остатку эфирного извлечения добавляли 2,0 мл спирта этилового 96%, затем 2,0 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и нагревали на водяной бане.

Также для идентификации флавоноидов и фенольных соединений использовали метод тонкослойной хроматографии [18, 19]. Для ее проведения готовили стандартные растворы (СО) рутина и хлорогеновой кислоты 0,01% в спирте этиловом 96%.

На пластинку со слоем силикагеля G60 F₂₅₄ фирмы Merck 10×10 см наносили 20 мкл жидкого экстракта полыни и по 10 мкл раствора СО рутина и хлорогеновой кислоты. В качестве элюирующей системы использовали смесь этилацетат – муравьиная кислота безводная – вода в соотношении 10:2:3. После хроматографирования пластинку высушивали и обрабатывали 1%-ным спиртовым раствором аминокэтилового эфира дифенилборной кислоты и 5%-ным спиртовым раствором макрогло 400. Пластинку рассматривали в УФ-свете при длине волны 365 нм через 30 минут после обработки.

Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин определяли спектрофотометрическим методом по валидированной методике [20, 21].

Определение сухого остатка и относительной плотности проводили согласно фармакопейным статьям 2.8.16 и 2.2.5 Государственной фармакопеи Республики Беларусь.



■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения коэффициента спиртопоглощения для полыни горькой травы представлены в табл. 1.

Таким образом, коэффициент спиртопоглощения для полыни горькой травы со степенью измельчения 2–3 мм составил 4,4. Общий объем экстрагента, необходимый для получения 30,0 мл жидкого экстракта, составил 162,0 мл, объем каждой порции экстрагента 54,0 мл соответственно. Жидкий экстракт полыни представляет собой темную прозрачную жидкость зелено-коричневого цвета со специфическим запахом.

По результатам проведения качественных реакций с эфирным и водным извлечениями жидкого экстракта полыни было подтверждено присутствие сесквитерпеновых лактонов азуленового ряда, при этом ярко-зеленая окраска эфирного извлечения изменялась на темно-коричневую, и флавоноидов, при этом желтая окраска бутанольного извлечения изменялась на красную (рис. 1).

На рис. 2 приведена хроматограмма жидкого экстракта полыни.

При проведении тонкослойной хроматографии подтверждено наличие в жидком экстракте рутина и хлорогеновой кислоты по зонам желто-оранжевой и голубой флуоресценции, соответствующим положению СО рутина и хлорогеновой кислоты соответственно. Величина R_f для рутина составила 0,35, для хлорогеновой кислоты –

Таблица 1
Результаты определения коэффициента спиртопоглощения
Table 1
Results of determination of alcohol absorption coefficient

№ испытания	Объем залитого экстрагента, мл	Объем слитой жидкости, мл	Средний объем слитой жидкости, мл	Коэффициент спиртопоглощения
1	20,0	14,5	15,6	4,4
2	20,0	16,0		
3	20,0	16,0		
4	20,0	15,0		
5	20,0	16,5		

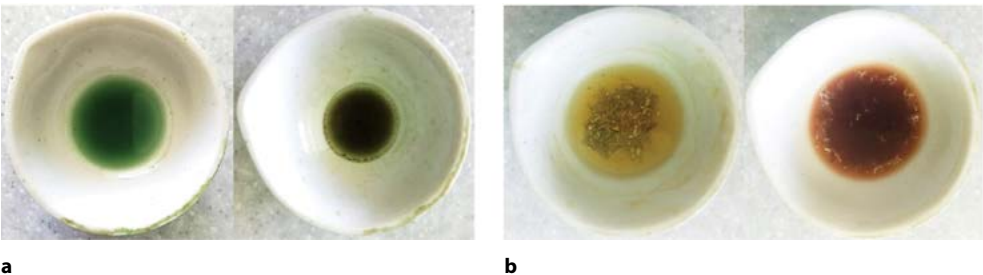


Рис. 1. Качественные реакции на присутствие в жидком экстракте полыни горькой сесквитерпеновых лактонов азуленового ряда (а) и флавоноидов (b)
Fig. 1. Qualitative reactions to the presence of sesquiterpene lactones of the azulene series (a) and flavonoids (b) in the liquid extract of wormwood

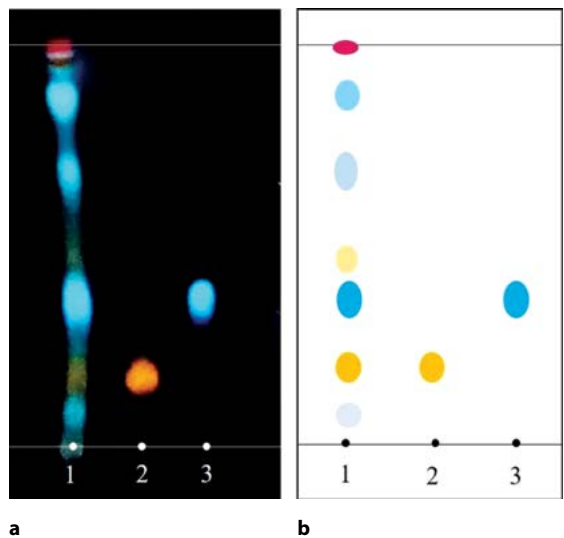


Рис. 2. Хроматограмма жидкого экстракта полыни (1), СО рутина (2), СО хлорогеновой кислоты (3). Фотография в УФ-свете (а), общая схема хроматограммы (b)
Fig. 2. Chromatogram of liquid wormwood extract (1), RS of rutin (2), RS of chlorogenic acid (3). Photo in UV light (a), general chromatogram diagram (b)

0,48. Также на хроматограмме препарата обнаруживались дополнительные зоны адсорбции (зона светло-желтого цвета и две зоны ярко-голубого цвета выше зоны хлорогеновой кислоты, зона голубого цвета ниже зоны рутина, зона розового цвета в конце фронта элюирующей системы).

В табл. 2 и 3 представлены результаты определения сухого остатка и относительной плотности жидкого экстракта полыни горькой.

Как видно из табличных значений, относительная плотность жидкого экстракта полыни горькой в среднем составила $0,9103 \pm 0,0057$, а средний массовый процент

Таблица 2
Определение плотности и относительной плотности жидкого экстракта полыни
Table 2
Determination of the relative density of liquid wormwood extract

№ серии	Пустой пикнометр, г	Пикнометр с водой, г	Пикнометр с экстрактом, г	Плотность, г/см³	Относительная плотность	
1	22,6883	47,5661	45,2654	0,9060	0,9077	
2	22,4111	47,2315	45,1710	0,9155	0,9171	
3	21,7095	46,5912	44,2910	0,9061	0,9077	
4	21,3886	46,2412	43,9037	0,9045	0,9061	
5	22,6421	47,5204	45,3528	0,9114	0,9130	
Метрологические характеристики определения относительной плотности						
f	$\bar{x}$	S	P, %	t (P, f)	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}$, %
4	0,9103	0,0046	95	2,7764	$\pm 0,0057$	$\pm 0,63$



Таблица 3
Определение сухого остатка жидкого экстракта полыни
Table 3
Determination of dry residue of liquid wormwood extract

№ се- рии	Пустая чаша, г	Чаша с экс- трактом, г	Масса экс- тракта, г	Чаша с сухим остатком, г	Масса сухого остатка, г	Массовый процент, %	Средний массовый процент, %
1	26,6773	28,1356	1,7827	26,7494	0,0722	4,95	4,72±0,36
2	26,5831	28,3785	1,7954	26,6624	0,0793	4,42	
3	26,6772	28,4714	1,7942	26,7601	0,0829	4,62	
4	26,5831	28,2913	1,8294	26,6603	0,0772	4,52	
5	27,6080	29,5355	1,8369	27,7063	0,0983	5,10	
Метрологические характеристики определения сухого остатка							
f	$\bar{x}$	S	P, %	t (P, f)	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\epsilon}$, %	
4	4,72	0,2902	95	2,7764	±0,36	±7,63	

Таблица 4
Определение суммы флавоноидов в жидком экстракте полыни
Table 4
Determination of the amount of flavonoids in liquid wormwood extract

№ серии экстракта			Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %			
1			0,156			
2			0,161			
3			0,150			
4			0,153			
5			0,152			
Метрологические характеристики количественного определения флавоноидов						
f	$\bar{x}$	S	P, %	t (P, f)	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\epsilon}$, %
4	0,154	0,004	95	2,7764	0,005	3,25

Таблица 5
Проект спецификации для жидкого экстракта 1:1 из полыни горькой травы
Table 5
Draft specification for 1:1 liquid extract from wormwood bitter herb

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Визуальный, органолептический	Темно-коричневая жидкость с характерным ароматным запахом
Подлинность	ТСХ (флавоноиды, фенольные соединения)	На хроматограмме испытуемого образца должны обнаруживаться зоны: зона желто-оранжевой флуоресценции на уровне СО рутина, флуоресцирующие зоны ярко-голубого цвета на уровне СО хлорогеновой кислоты
	Качественная реакция на флавоноиды	Желтая окраска бутанольного извлечения изменяется на красную
	Качественная реакция на сесквитерпеновые лактоны азуленового ряда	Ярко-зеленая окраска эфирного извлечения переходит в темно-коричневую
Сухой остаток	Государственная фармакопея Республики Беларусь, том 1, статья 2.8.16	Не менее 4,0%
Относительная плотность	Государственная фармакопея Республики Беларусь, том 1, статья 2.2.5	0,9050–0,9150
Количественное определение	Спектрофотометрия (сумма флавоноидов в пересчете на рутин)	Не менее 0,10%

сухого остатка – $4,72 \pm 0,36\%$. Таким образом, для относительной плотности жидкого экстракта полыни 1:1 можно определить норму в диапазоне от 0,9050 до 0,9150, для сухого остатка не менее 4,0%.

Количественное содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 410 ± 2 нм. Результаты количественного определения приведены в табл. 4.

Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте полыни горькой в среднем составило $0,154 \pm 0,004\%$.

Исходя из полученных данных и определения норм показателей качества, можно предложить следующий проект спецификации для жидкого экстракта полыни горькой травы 1:1 (табл. 5).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выбрана технология получения жидкого экстракта полыни горькой травы 1:1, для получения которого необходимы следующие условия: экстрагент – 70%-ный этиловый спирт; метод экстрагирования – реперколяция с делением сырья на равные части в батарее из 3 перколяторов; температура экстракции – комнатная; размеры измельченного сырья – 1–3 мм. Также проведен контроль качества полученного жидкого экстракта по основным фармакопейным показателям для данной лекарственной формы: описание и идентификация, количественное определение, определение сухого остатка и относительной плотности. Содержание суммы флавоноидов в жидком экстракте полыни горькой в пересчете на рутин составило $0,154 \pm 0,004\%$, относительная плотность экстракта – $0,9103 \pm 0,0057$, сухой остаток – $4,72 \pm 0,36\%$. Определены оптимальные нормы для соответствующих показателей.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Szopa A., Pajor J., Klin P. Artemisia absinthium L. – Importance in the History of Medicine, the Latest Advances in Phytochemistry and Therapeutical, Cosmetological and Culinary Uses. *Plants*. 2020;9(1063):1–33. doi: 10.3390/plants9091063.
2. Javed A., Showkat R.M., Saima A. A Pharmacognostic Review on Artemisia absinthium. *Int Res J Pharm*. 2019;10(1):25–31. doi: 10.7897/2230-8407.10015.
3. Batiha G.E.-S., Olatunde A., El-Mleeh A. Bioactive compounds, pharmacological actions, and pharmacokinetics of wormwood (Artemisia absinthium). *Antibiotics*. 2020;35(9):1–25. doi: 10.3390/antibiotics9060353.
4. Platonov V., Suhiih G., Volochaeva M. Chemical composition of organic matter of wormwood (Artemisia absinthium L., Family of Compound flowers). *Vestnik novykh medicinskih tekhnologij. Elektronnoe izdanie*. 2019;5:149–163. doi: 10.24411/2075-4094-2019-16359. (in Russian)
5. D'yakova N., Slivkin A., Korenskaya I. Features of the accumulation of essential oil in the herb of wormwood of the bitter flora of the Voronezh region. *Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv*. 2022;11(2):140–144. doi: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-140-144. (in Russian)
6. Buzuk G., El'yashevich E. Pharmacognostic characteristics of wormwood Artemisia Absinthium L. Literature review. *Vestnik farmacii*. 2009;4:87–97. (in Russian)
7. Pishgahzadeh E., Shafaroodi H., Asgarpanah J. Analgesic and antiinflammatory activities of the essential oil from Artemisia sieberi Besser. *Brazilian J of Pharm Sci*. 2019;55:1–7. doi: 10.1590/s2175-97902019000217011.
8. Hoseinian A., Moslemi H.R., Sedaghat R. Antioxidant properties of Artemisia absinthium accelerate healing of experimental Achilles tendon injury in rabbits. *Herba Pol*. 2018;64(1):36–43. doi: 10.2478/hepo-2018-0003.
9. Nalbantsoy A., Erel S.B., Köksal C. Viper venom induced inflammation with Montivipera xanthina (Gray, 1849) and the anti-snake venom activities of Artemisia absinthium L. in rat. *Toxicon*. 2013;65:34–40. doi: 10.1016/j.toxicon.2012.12.017.
10. Basiri Z., Zeraati F., Esna-Ashari F. Topical Effects of Artemisia Absinthium Ointment and Liniment in Comparison with Piroxicam Gel in Patients with Knee Joint Osteoarthritis: A Randomized Double-Blind Controlled Trial. *Iran J Med Sci*. 2017;42(6):524–531.
11. Sushinskaya O., Golyak N. Anti-inflammatory activity of a spray based on ibuprofen and liquid wormwood extract. *Vestnik farmacii*. 2021;3(93):73–78. doi: 10.52540/2074-9457.2021.3.73. (in Russian)
12. Bekchanov H., Olimov N., Sidametova Z. Development of technology for obtaining liquid extract from sedative collection «Phlegmen». *Farmaceuticheskij zhurnal*. 2018;3:78–83. (in Russian)
13. Tabyldieva C., Cholponbaev K., Artykbaev S. The main factors influencing the completeness of extraction of green wormwood grass (Artemisia viridis Willd.). *Izvestiya Vuzov Kyrgyzstana*. 2020;6:70–72. doi: 10.26104/IVK.2019.45.557. (in Russian)



14. Dylenova E., Randalova T., Zhigzhitzhapova S. Development of a method for obtaining wormwood tincture of Yakut grass. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii*. 2019;22(8):39–43. doi: 10.29296/25877313-2019-08-07. (in Russian)
15. Savchenko L., Marinina T., Karpenko V. Obtaining an extraction preparation of anti-inflammatory and diuretic action from the Canadian Goldenrod herb. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*. 2016;18(2):195–198. (in Russian)
16. Savkov I., Hishova O. Technology for obtaining extracts leaves of raspberry vulgaris. *IV Gammermanovskie chteniya: sbornik nauchnyh trudov*. Moscow: Rusajns; 2018:313–315. (in Russian)
17. Bondarenko A. Comparative analysis of approaches to standardization of raw materials of wormwood and Austrian wormwood used in world pharmaceutical practice. *Sovremennye problemy farmakognozii: Sb. mater. III Mezhvuz. nauch.-prakt. konf. s mezhd. uch., posv. 100-letiyu SamGMU*. Edited by V. Kurkin. Samara: SamGMU; 2018:63–67. (in Russian)
18. Checheta O., Slivkin A., Safonova I. The choice of optimal parameters for chromatographic determination of routine by TLC method. *Puti i formy sovershenstvovaniya farmacevticheskogo obrazovaniya: sb. statej. ch. 2*. Voronezh; 2010:407–410. (in Russian)
19. Kisileva T., Cvetaeva E., Ustynyuk L. Development of a TLC technique for detecting flavonoids and coumarins in matrix tinctures from raw materials of various types of wormwood. *Tradicionnaya medicina*. 2007;3(10):34–38. (in Russian)
20. Dylenova E., Randalova T., Zhigzhitzhapova S. Quantitative determination of the sum of tannins and flavonoids *Artemisiae frigidae herba* and *Artemisiae jacuticae herba*. *Molodye uchyonye i farmaciya XXI veka*. 2018;1:155–160. (in Russian)
21. Prelovskaya S., Randalova T., Radnaeva L. Development of a methodology for quantitative determination of the total content of flavonoids in the herb *Artemisia subviscosa*. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Medicina i farmaciya*. 2021;1:52–57. doi: 10.18101/2306-1995-2021-1-52-57. (in Russian)