

УДК 582.998.1:547.913.2(048.85)

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПОЛЫНИ ОДНОЛЕТНЕЙ.
СЕСКВИТЕРПЕНОВЫЕ ЛАКТОНЫ**¹Д.А. Коновалов, ²О.М. Шевчук, ²Л.А. Логвиненко, ¹А.А. Хамилонов¹Пятигорский медико-фармацевтический институт –
филиал ВолгГМУ Минздрава России
E-mail: d.a.konovalev@pmedpharm.ru²ФГБУН «НБС-ННЦ», пгт. Никита, Республика Крым**BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF ARTEMISIA ANNUA.
SESQUITERPENE LACTONES**¹D.A. Konovalev, ²O.M. Shevchuk, ²L.A. Logvinenko, ¹A.A. Khamilonov¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State
Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russia
E-mail: d.a.konovalev@pmedpharm.ru²Nikitsky Botanic Garden, Nikita, Republic of Crimea
E-mail: oksana_shevchuk1970@mail.ru

Полынь однолетняя (*Artemisia annua* L.) – однолетнее травянистое растение, используемое в народной медицине Китая более двух тысяч лет. В 70-х годах XX века из надземной части этого вида был выделен сесквитерпеновый лактон артемизинин. На сегодняшний день – это самое эффективное, среди известных природных и синтетических соединений, лекарственное средство для лечения малярии. **Целью** исследования явился обзор информации, содержащейся в открытых источниках, об изучении сесквитерпеновых лактонов полыни однолетней и спектре их фармакологической активности. **Методы.** Исследование проводилось с использованием информационно-поисковых (PubMed, ScholarGoogle), библиотечных баз данных (eLibrary, Cyberleninca), а также результатов собственных исследований. **Результаты.** Установлено, что кроме эфирного масла и фенольных соединений надземная часть полыни однолетней содержит значительное количество различающихся по струк-

Artemisia annua is an herblike annual plant which has been used in Chinese folk medicine for more than 2,000 years. In 1970-s sesquiterpene lactones of artemisinin was isolated from the aboveground part of this plant. Today it is the most efficient known natural and synthetic compound for malaria treatment. The **purpose** of the study was the review of the information from the open sources about the study for sesquiterpene lactones of *Artemisia annua* referring to its pharmacological activity. **Methods.** The study was carried out using informational and search engines (PubMed, ScholarGoogle), library databases (eLibrary, Cyberleninca), and the results of our own researches. **Results.** It was established that apart from the essential oil and phenolic compounds, aboveground part of *Artemisia annua*, it

туре сесквитерпеновых лактонов. Качественный состав и количественное содержание сесквитерпеновых лактонов варьирует в зависимости от эколого-географических факторов, фазы развития растений, технологии выращивания, способа сушки и т.д. Известные фармакологические исследования извлечений из травы полыни однолетней, содержащих сесквитерпеновые лактоны, а также индивидуальных соединений этой группы характеризуют данный вид сырья как перспективный источник для дальнейшего более глубокого исследования. **Заключение.** Проведенный нами анализ, имеющихся в открытом информационном доступе, материалов по изучению сесквитерпеновых лактонов полыни однолетней, в том числе фитохимических и фармакологических, позволяют характеризовать траву полыни однолетней как перспективный источник для разработки новых лекарственных средств.

Ключевые слова: полынь однолетняя, *Artemisia annua*, сесквитерпеновые лактоны, артемизинин

Введение. В 60-х годах XX века в мире появились лекарственно-устойчивые формы малярии, из-за чего заболевание стало быстро распространяться в Юго-Восточной Азии и Африке. Существовавшие тогда противомаларийные лекарства, такие как хинин, хлорохин и другие оказались неэффективными.

В 1967 году в Китае при поддержке правительства была начата «Программа 523», в которой участвовало несколько сотен китайских ученых. Более 1000 образцов различных растений известных в народной медицине были изучены современными методами. Первичный фармакологический скрининг позволил выделить и идентифицировать несколько активных соединений. К сожалению, эти природные вещества и их синтетические

contains a significant amount of sesquiterpene lactones. Qualitative content and quantitative composition of sesquiterpene lactones varies depending on the ecological and geographic factors, plants growing phase, cultivation technology, drying methods etc. Well-known pharmacological studies of the extracts from *Artemisia annua* herb with sesquiterpene lactones, as well as individual compounds of this group characterize this type of raw materials as a perspective source for more profound research. **Conclusion.** Our analysis of the open materials on the sesquiterpene lactones of *Artemisia annua*, including phytochemical and pharmacological ones, allows characterization of the *Artemisia annua* herb as a perspective source for new drugs working out.

Keywords: *Artemisia annua*, sesquiterpene lactones, artemisinin

Introduction. In 1960-s drug resistant forms of malaria appeared. That was the reason for its fast distribution in the South-East Asia and Africa. Anti-malaria drugs of those times, such as quinine, chloroquine, and others became ineffective.

In 1967, Program 523 backed by the government started in China. It involved several hundreds of Chinese scientists. More than 1,000 samples of different plants known from the folk medicine were studied with contemporary methods. Primary pharmacological screening allowed revelation and identification of several active compounds. Unfortunately, these natural compounds and their synthetic derivatives were difficult to access or insufficiently active, or too toxic.

In early 1970-s scientists from Beijing,

производные были либо малодоступными, недостаточно активными, либо слишком токсичными.

В начале 1970-х учёные из Пекина, Юньнана и Шаньдуна почти одновременно извлекли активную фракцию надземной части полыни однолетней, контролируя исследования противомаларийным скринингом *in vivo*.

Китайское название – «qinghao», которое очень часто приводится в западной научной литературе для полыни однолетней, на самом деле относится к традиционному китайскому лекарственному средству, в состав которого входит несколько растений. Составную часть этого лекарства – траву полыни однолетней китайцы называют «huanghuahao».

Целью исследования явился обзор информации, содержащейся в открытых источниках, об изучении сесквитерпеновых лактонов полыни однолетней и спектре их фармакологической активности.

Методы. Исследование проводилось с использованием информационно-поисковых (PubMed, ScholarGoogle), библиотечных баз данных (eLibrary, Cyberleninca), а также результатов собственных исследований.

Результаты. В процессе исследования надземной части полыни в 1972 году был идентифицирован сесквитерпеновый лактон – артемизинин (**1**) (*huanghuahaosu* или ошибочно – *qinghaosu*) – источник противомаларийной активности полыни однолетней [1, 2].

Определение структуры артемизинина было выполнено объединенной исследовательской группой учёных Китайского института лекарственных веществ и Шанхайского института органической химии [3]. Очень быстро, используя данные ¹H-, ¹³C-ЯМР, масс-спектров высокого разрешения и элементного анализа, удалось установить, что это соединение является сесквитерпеном с молекулярной формулой C₁₅H₂₂O₅. Однако струк-

Yunnan, and Shandong almost at the same time isolated an active fraction of the aboveground part of *Artemisia annua*, controlling the studies with anti-malaria screening *in vivo*.

Chinese name – qinghao, which is often given for the *Artemisia annua* in western literature, in reality belongs to traditional Chinese drug, which includes several plants. An ingredient of this plant – grass of *Artemisia annua* – is called “huanghuahao” in China.

The **purpose** of the study was the review of the information from the open sources about the study for sesquiterpene lactones of *Artemisia annua* referring to its pharmacological activity.

Methods. The study was carried out using informational and search engines (PubMed, ScholarGoogle), library databases (eLibrary, Cyberleninca), and the results of our own researches.

Results. While studying the aboveground of *Artemisia annua* in 1972 sesquiterpene lactone of artemisinin (**1**) was identified (*huanghuahaosu* or wrong – *qinghaosu*) – the source of anti-malaria activity of *Artemisia annua* [1, 2].

Artemisinin structure determination was carried out by the scientists research group of the Chinese Institute of Medicinal Substances and Shanghai Institute of Organic Chemistry [3]. Very fast, using data of ¹H-, ¹³C-NMR, mass-spectrums of high definition and element analysis, it was possible to establish that this compound is sesquiterpenes with molecular formula C₁₅H₂₂O₅. However structural formula was a mystery for a long time.

In the beginning of 1975 researchers assumed the presence of peroxide bridge in ar-

турная формула долгое время оставалась загадкой.

В начале 1975 г. исследователями было предположено наличие пероксидного мостика у артемизинина [4]. Гипотеза была подтверждена простым качественным и количественным анализом (рис. 2). Было также показано, что в масс-спектре артемизинина имеется фрагмент с массой 250, образующийся при отщеплении молекулярного кислорода.

С другим сесквитерпеновым лактоном полыни однолетней – артеаннуином В (артемизинином В) связана определённая путаница, присутствующая в научной литературе 70 – 80-х годов XX века. Он также как и артемизинин содержался в активных фракциях растения. До выяснения точной структуры артемизинина оба лактона очень часто идентифицировались как основное действующее начало полыни однолетней, а их названия смешивались, или характеризовали не конкретное вещество, а сумму действующих веществ. Ввиду этого при последующих исследованиях возникли две группы сесквитерпеновых лактонов: артемизинины и артеаннуины, среди которых были не только нативные вещества, но и артефакты, т. е. вещества, возникающие в процессе выделения и разделения суммарных фракций.

Исходя из данных, полученных физическими методами, разными исследовательскими группами были предложены три возможные структуры артеаннуина В (а-в):

temisinin [4]. Hypothesis was approved by simple qualitative and quantitative analysis (fig. 2). It was also shown that mass-spectrum of artemisinin had the fragment with 250 weight, which is formed after removal of molecular oxygen.

Other sesquiterpene lactone of *Artemisia annua* – arteannuin B (artemisinin B) – is connected with some confusion in the literature of 1970s and 1980s. As well as artemisinin it entered into the composition of active fractions of the plant. Before the revelation of an exact structure of artemisinin both lactones were often identified as a basic active part of *Artemisia annua*, and their names were mixed or the sum of active substances was characterized instead of certain substance. Therefore, after the following researches two groups of sesquiterpene lactones appeared: artemisinins and arteannuins, among which not only native substances but artefacts were found as well, the substances which appeared in the process of the isolation and separation of summary fractions.

Based on the data, obtained with physical methods, by different research groups, three possible structures of arteannuin B (a-c) were offered:

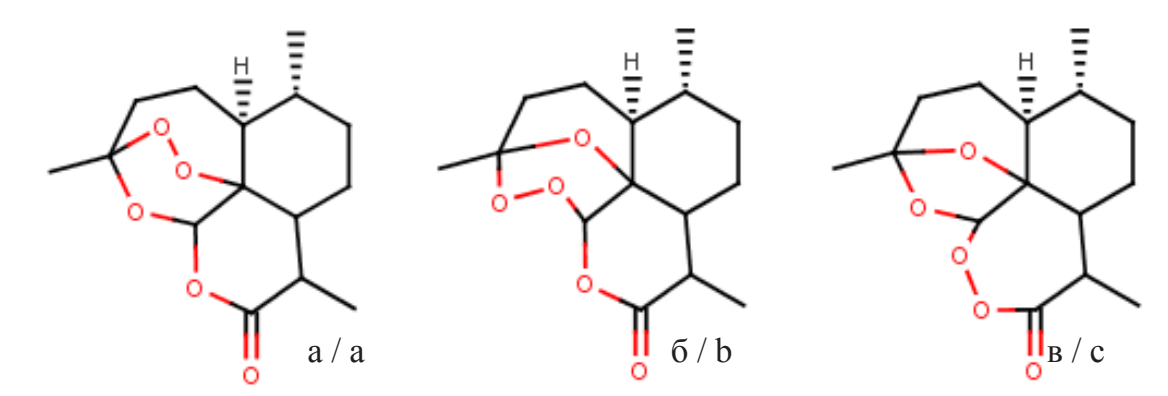


Рисунок 1 – Вероятные структуры артеаннуина В /
Figure 1 – Possible structures of arteannuin B

Структура **в** была на определённом этапе исследований наиболее предпочтительна ввиду существования близких пероксилактонов [5, 6]. Реальная структура и относительная конфигурация (**2**) были наконец доказаны рентгеноструктурным анализом, а абсолютная конфигурация получена аномальным дифракционным рентгеноструктурным анализом (abnormal diffraction x-ray crystal analysis) [7].

Сегодня артемизинин и препараты на его основе широко используются во всём мире для лечения устойчивых к обычным противомалярийным препаратам штаммов малярии (*Plasmodium*), а также церебральной малярии и малярии у детей [8].

Артемизинин по химической структуре относят к кадинановому типу сесквитерпеноидов. Химические исследования других БАС полыни однолетней китайскими учёными проводятся с начала 1980-х годов. За этот период в её надземной части были обнаружены ещё десять родственных по структуре артемизинину сесквитерпеноидов, включая деоксиартемизинин (**3**) (табл. 1) [9], артеаннуин D (**4**) [10], артеаннуин F (**5**) [11], артеаннуин E (**6**), артеаннуин A (**7**) [10], эпоксиартеаннуиновую кислоту (**8**) [12], артемизиновую кислоту (**9**) [13], метиловый эфир артемизиновой кислоты (**10**), артемизинол (**11**) [14] и артеаннуин B (**2**) [9]. Все эти соединения относятся к аморфеновому ряду сесквитерпенов, характеризующемуся присутствием цис-декалинового скелета.

С биогенетической точки зрения, артемизиновая кислота (**9**) и её 11,13-дигидропроизводное – дигидроартемизиновая кислота (**12**), которая также была выделена впоследствии из надземной части полыни однолетней, являются непосредственными предшественниками в биосинтезе артемизинина (**1**) [15]. Об этих двух соединениях [15], также как и о способах их выделения впервые сообщили китайские исследователи в начале 1980-ых годов [16]. Позже другой способ выделения артемизиновой кислоты (**9**) был описан R.Roth и N.Acton [17]. К

Structure **c** was the most preferable at the certain stage of the researches because of the close peroxy lactones [5, 6]. Real structure and relative configuration (**2**) were finally proved by x-ray crystal analysis, and absolute configuration was obtained with abnormal diffraction x-ray crystal analysis [7].

Today artemisinin and drugs based on it are broadly used in the entire world for treatment of malaria strains (*Plasmodium*) resistant to usual anti-malaria drugs, cerebral malaria, and children malaria [8].

Artemisinin belongs to cadinane type of sesquiterpenoids by its chemical structure. Chemical studies of other biologically active substances of *Artemisia annua* by Chinese scientists have been being carried out from 1980s. For this period its aboveground part showed ten sesquiterpenoids relative by structure to artemisinin, including deoxyartemesinin (**3**) (table 1) [9], arteannuin D (**4**) [10], arteannuin F (**5**), arteannuin E (**6**), arteannuin A (**7**) [10], epoxy arteannuinic acid (**8**) [12], artemisinic acid (**9**) [13], methyl ether of artemisinic acid (**10**) artemisinol (**11**) [14], and arteannuin B (**2**) [9]. All these compounds belong to amorphenic type of sesquiterpenes, characterized by the presence of cis-decaline skilket.

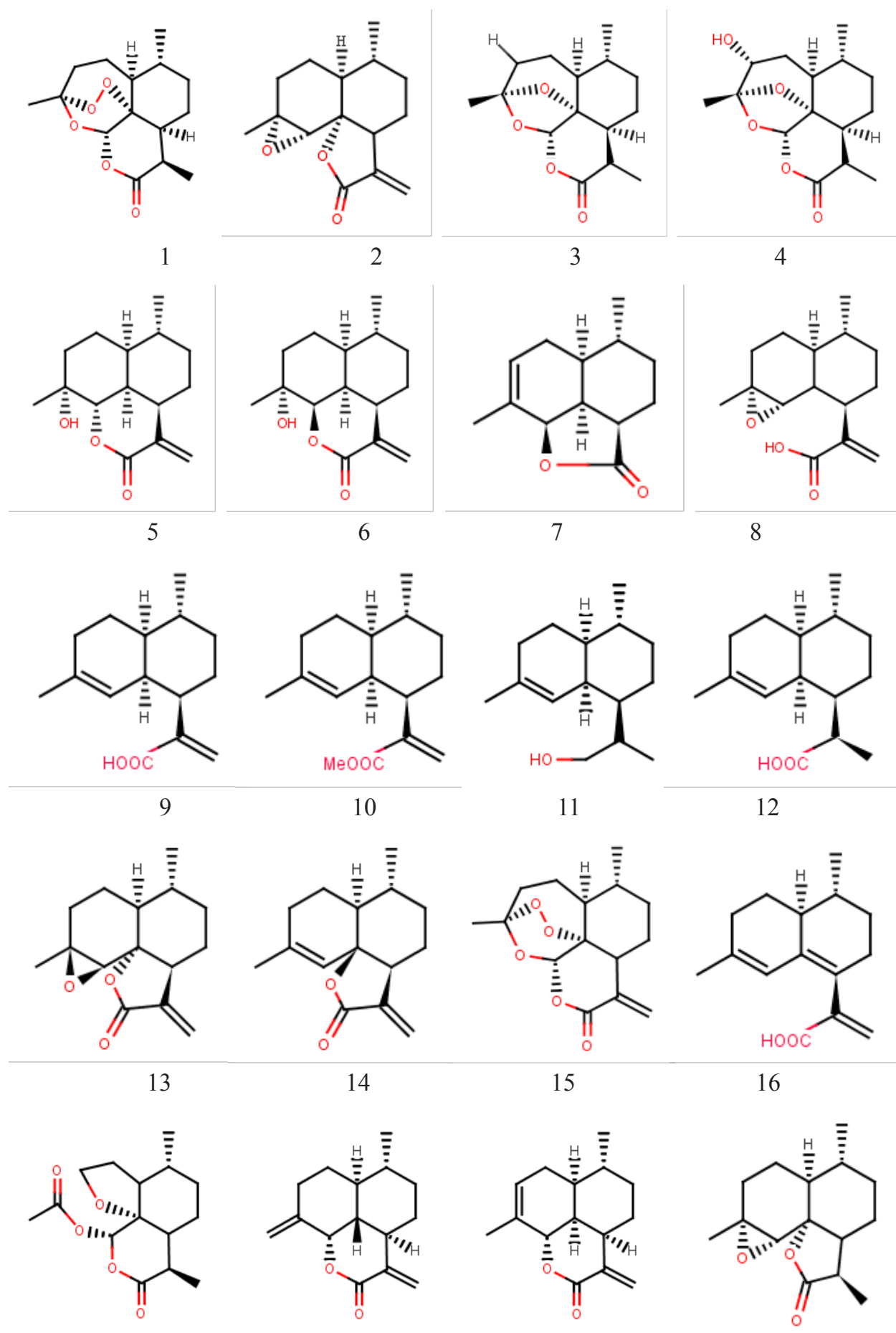
From the biogenetic point of view, artemisininic acid (**9**) and its 11,13-dehydro-derived – dehydroartemisinic acid (**12**), which was also isolated after, from the aboveground part of *Artemisia annua*, and were direct predecessors in artemisinin biosynthesis (**1**) [15]. Chinese researches were the first who reported in 1980s about these two compounds, as well as about the methods of their extraction [16]. Later, another method of artemisininic acid (**9**) was described by R. Roth and N. Acton [17].

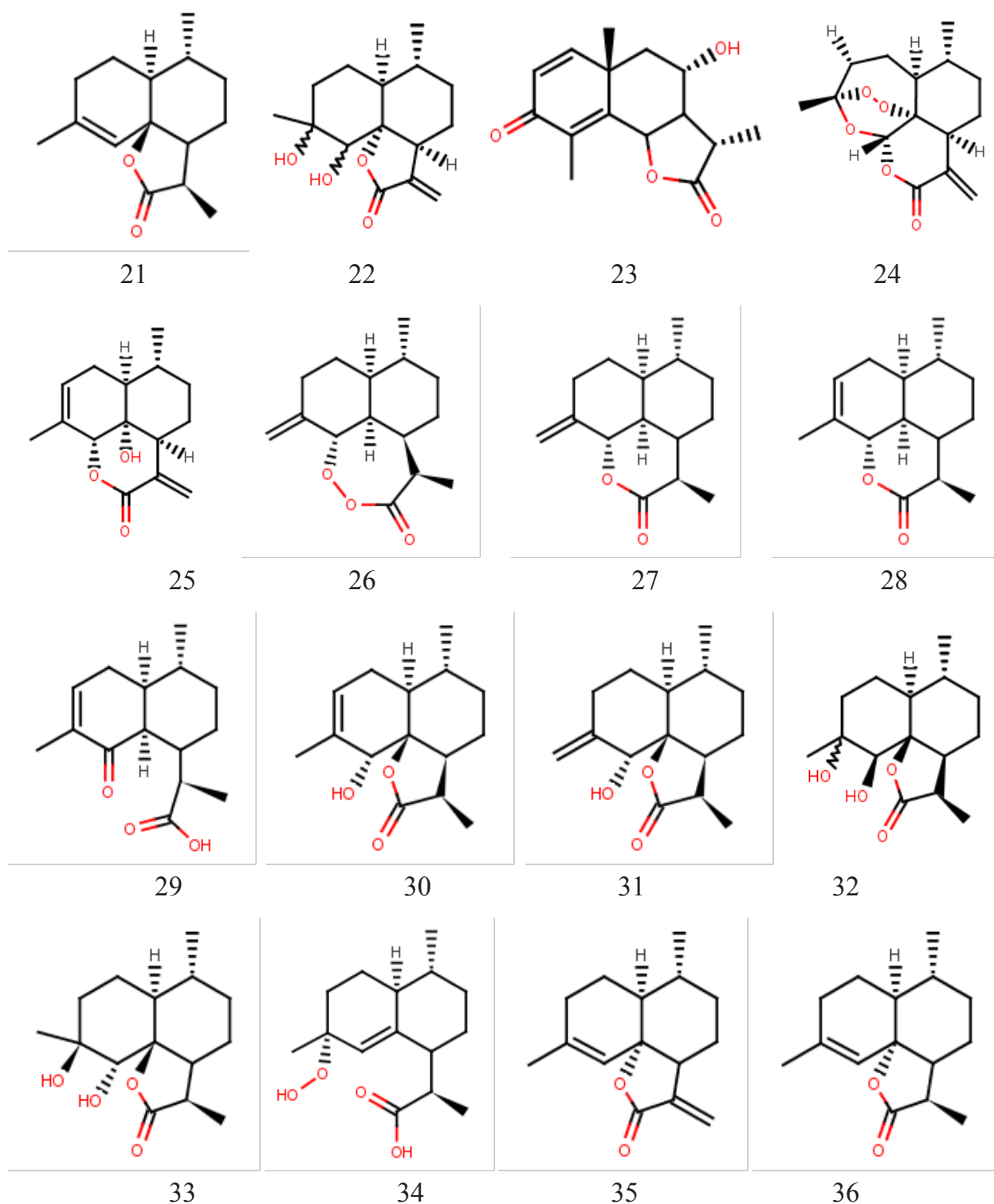
1991 году 16 близко связанных сесквитерпенов были изолированы из надземной части полыни однолетней S.Zaman и R.Sharma [18]. Затем были описаны ещё четыре сесквитерпена, включая артеаннуин С (**13**) [19], деоксиартемизинин В (**14**) [35], артемизитен (**15**) [20] и 6,7-дегидроартемизиновую кислоту (**16**) [21] (рис. 2). Вскоре после публикации S.Zaman и R.Sharma краткого обзора по сесквитерпеноидам этого растения китайскими учеными в 1992 г. было идентифицировано новое соединение под названием артемизинин G (**17**) [22]. Авторы доказали, что это соединение является продуктом разложения артемизинина, т.е. его артефактом. Новый представитель кадинанолидного ряда сесквитерпенов, аннулид (**18**), был описан в 1993 г. Структура и относительная конфигурация определялись с помощью ЯМР, хотя образец вещества содержал достаточно много примесей [23]. Продолжая исследования, G. Brown идентифицировал структурно близкий изоаннулид (**19**) [24]. Два других структурных родственника артеаннуина В: соединения **20** [25] и **21** [26], а также артемизина дигидроксикадинолид 2-А (**22**) [27], артемизин (**23**), дегидроартемизинина (**24**) [28, 29, 30] и 6 α -гидроксиизоаннулид (**25**) [31] были выделены и идентифицированы в надземной части полыни однолетней.

Семь новых сесквитерпеноидов, включая пероксилактон артеаннуин Н (**26**) и артеаннуины I–M (**27–32**), были обнаружены и идентифицированы исследовательской группой L.K. Sy с соавторами в 1998 г.[25]. Дальнейшее исследование привело к открытию нового кадинанового диола, артеаннуина О (**33**); его структура была установлена двумерным ЯМР и рентгенокристаллографией [32]. Синтез артеаннуина О (**33**) из дегидроэпидеоксиартеаннуина В (**21**) позволил авторам предложить пересмотр структуры стереохимии, заявленной для 5-OH группы в артеаннуинах К (**30**), L (**31**) и М (**32**) [32].

By 1991, 16 closely related sesquiterpenes were isolated from the aboveground part of *Artemisia annua* by S.Zaman and R. Sharma [18] (fig. 2). After that, they described four more sesquiterpenes including arteannuin C (13) [19], deoxyartemisinin B (14) [35], artemisiten (15) [20], and 6,7-dehydroartemisininic acid (16) [21] (fig. 2). Soon after the publication of a short review of sesquiterpenoids of this plant by S. Zaman and R. Sharma, Chinese scientists identified new compound called artemisinin G in 1992 (17) [22]. The authors proved that compound to be a product of artemisinin breakdown, i.e. its artefact. A new representative of cadinanolide type of sesquiterpenes – annulid (18) – was described with NMR, although the substance sample had a lot of admixtures [23]. Continuing the studies, G. Brown identified structurally close isoannulid (19) [24]. Two other structural relative to arteannuin B: compounds 20 [25] and 21 [26], as well as artemisia dihydroxicadinolid 2-A (22), artemisin (23), dehydroartemisinin (24) [28, 29, 30], and 6 α -hydroxyisoannulid (25) [31] were isolated and identified from the aboveground parts of *Artemisia annua*.

Seven new sesquiterpenoids, including peroxy lactone arteannuin H (26) and arteannuins I – M (27–32), were found and identified by a research group of L.K. Sy with co-authors in 1998 [25]. Further study led to the discovery of a new cadinane diol – arteannuin O (33); its structure was established with two-dimensional NMR and x-ray crystal analysis [32]. Synthesis of arteannuin O (33) from dehydroepideoxyarteannuin B (21) allowed authors to revise the stereochemistry structure, specified for 5-OH group in arteannuins K (30), L (31), and m (32) [32].





**Рисунок 2 – Сесквитерпеновые лактоны
и некоторые биосинтетически близкие соединения полыни однолетней**
**Figure 2 – Sesquiterpene lactones
and some biosynthetically related compounds of *Artemisia annua***

Структуры двух аморфных сесквитерпенов: деоксиартеаннуина В (35) и дигидродеоксиартеаннуина В (36), обнаруженных в надземной части полыни однолетней, были опубликованы в 2001 г. [24].

Structures of two amorphanic sesquiterpenes: deoxyarteannuin B (35) and dihydrodeoxyarteannuin B (36), found in aboveground part of *Artemisia annua* were published in 2001[24].

Биосинтез сесквитерпеновых лактонов в процессе онтогенеза полыни однолетней

Хотя полный биосинтетический путь метаболизма артемизинина и некоторых его предшественников не был установлен полностью, некоторые этапы биотрансформации были объяснены как *in vitro* так и *in vivo*. Akhila и др. считают, что биосинтетический путь метаболизма артемизинина начинается с мевалоновой кислоты и изопентенилпирофосфата [33]. Другая биосинтетическая схема предполагает, что исходным предшественником артемизинина является фарнезилдифосфат, циклизация которого приводит к аморфа-4,11-диену (рис. 3) [34].

Этот сесквитерпен гидроксилируется до артемизинового спирта [35], окисление которого приводит к артемизиновому альдегиду. Восстановление двойной связи при C11-C12 далее даёт дигидроартемизиновый альдегид, который впоследствии окисляется до дигидроартемизиновой кислоты [35]. Как считает ряд исследователей, дигидроартемизиновая кислота преобразуется в артемизинин неферментативно [38]. Соотношения между этими предшественниками и артемизинином изменяются в генотипах различного происхождения, что предполагает существование различных хемотипов полыни однолетней [36]. Значительное количество артемизинина в растении часто совпадает с высоким содержанием дигидроартемизиновой кислоты и низким содержанием артемизиновой кислоты, как, например, во вьетнамском генотипе [36]. В бедных артемизинином генотипах часто обнаруживаются высокие уровни содержания артемизиновой кислоты, при незначительном содержании дигидроартемизиновой кислоты. T. Wallaart с соавторами [36] предположили, что различия между хемотипами биосинтетически обуслов-

Biosynthesis of sesquiterpene lactones in a process of ontogenesis of *Artemisia annua*

Although full biosynthetic metabolism path of artemisinin and some of its predecessors were not established in a full scale, some stages of biotransformation were explained *in vitro* as well as *in vivo*. Akhila and others assume that biosynthetic path of metabolism of artemisinin starts from mevalonic acid and isopentenyl pyrophosphate [33]. Another biosynthetic scheme supposes that farnesyl-diphosphate is the initial predecessor of artemisinin, cyclization of which leads to amorpho-4,11-dien (fig. 3) [34].

This sesquiterpene is hydroxylated to artemisinin alcohol [35], oxidation of which leads to artemisinin aldehyde. Reduction of double link with C11-C12 gives dihydroartemisinin aldehyde, which after that is oxidated up to dihydroartemisinin acid [35]. According to some researches dihydroartemisininic acid transforms into artemisinin in non-fermentative way [38]. Correlation between these predecessors and artemisinin alters in different origin genotypes, which supposes different chemotypes of *Artemisia annua* [36]. Significant amount of artemisinin in plant is often coincide with high content of dihydroartemisininic acid and low content of artemisininic acid, as for example in Vietnamese genotype [36]. Genotypes with low artemisinin often have high level of artemisinin acid with insignificant amount of dihydroartemisininic acid. T. Wallaart with co-authors [36] supposed that differences between chemotypes are biosynthetically conditioned by the ability to reduce artemisininic acid up to dihydroar-

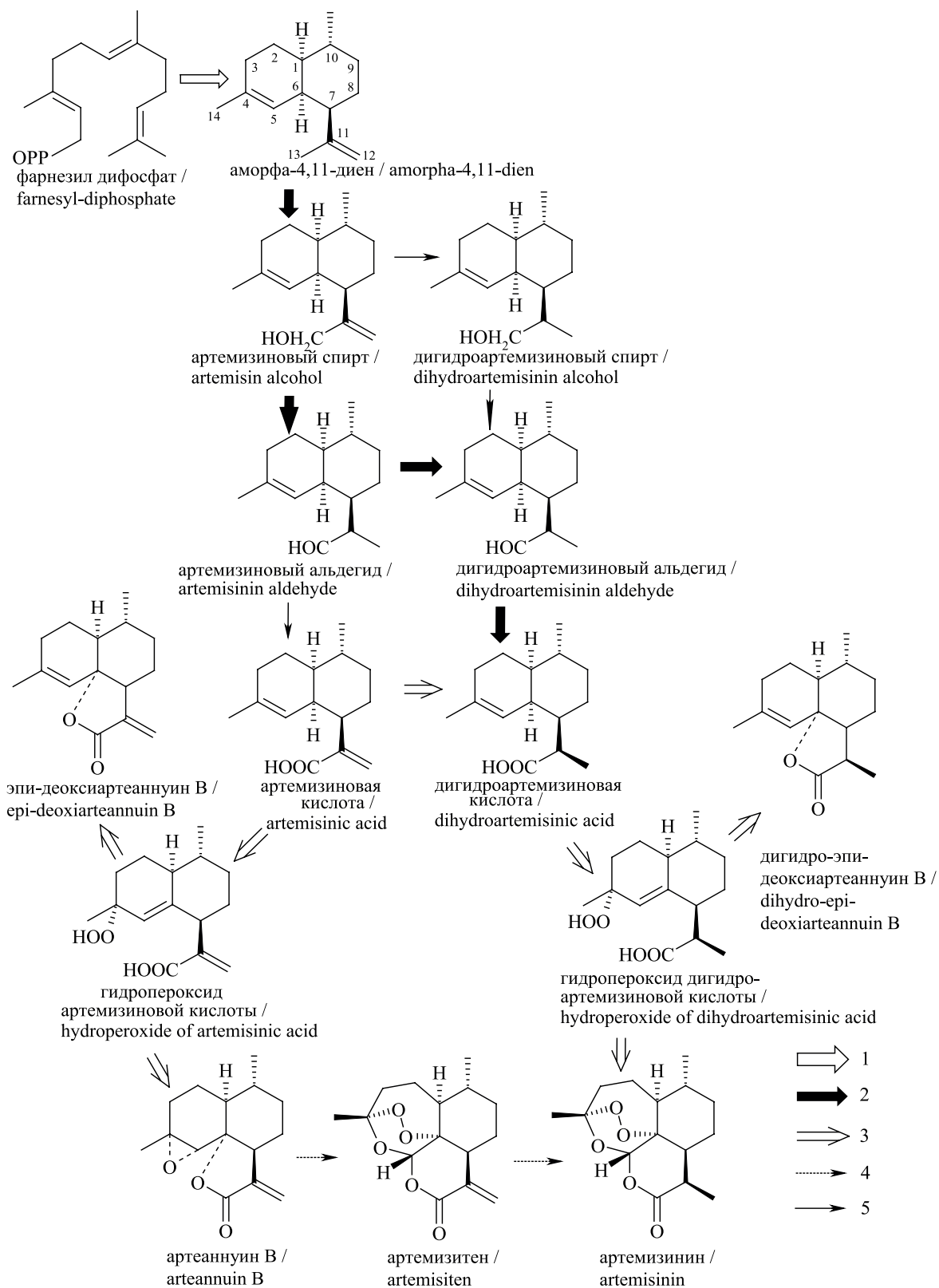


Рисунок 3 – Гипотетические схемы биосинтеза артемизинина по:
 1 – Bouwmeester и др. [34]; 2 – Berteа и др. [35]; 3 – Wallaart и др. [36];
 4 – Woerdenbag и др. [37]; 5 – варианты
Figure 3 – Hypothetic schemes of biosynthesis according to:
 1 – Bouwmeester and others [34]; 2 – Berteа and others [35];
 3 – Wallaart and others [36]; 4 – Woerdenbag and others [37]; 5 – variants

лены способностью к восстановлению артемизиновой кислоты до дигидроартемизиновой в генотипах с высокими уровнями артемизиновой кислоты. Недавние результаты С. Berteа с соавторами [35], однако, исключают артемизиновую кислоту как прямого предшественника артемизинина во вьетнамском генотипе.

Полынь однолетняя содержит артемизиновой кислоты в 8-10 раз больше артемизинина. Поэтому считалось, что эта кислота – его возможный биогенетический предшественник. Исследования А. Akhila не характеризуют артемизиновую кислоту как предшественника артемизинина, но другие авторы [39] полагают, что артемизиновая кислота возможный биогенетический предшественник и для артеаннуина В и для артемизинина, последовательно или независимо. Y. Wang и др. использовали ³H-маркированную по С-15 (экзоциклический метилен) артемизиновую кислоту и показали, что она способна преобразовываться и в артеаннуин В и в артемизинин. R. Sangwan и др. сообщили об *in vitro* и *in vivo* преобразовании артемизиновой кислоты в артеаннуин В и артемизинин [39]. Группа исследователей под руководством E. Staba биосинтезировала изопентенилпирофосфат и в артеаннуин В и в артемизинин [40]. Поэтому артеаннуин В также считали биосинтетическим предшественником артемизинина [41]. Бесклеточный листовый гомогенат листьев полыни однолетней был использован для преобразования артеаннуина В в артемизинин [41].

Недавно дигидроартемизининовая альдегидредуктаза (RED1) была клонирована из полыни однолетней [42]. Этот фермент может потенциально преобразовать дигидроартемизининовый альдегид в дигидроартемизининовый спирт, вещество, которое, представляет «мертвый конечный продукт», таким образом,

temisinin in genotypes with high levels of artemisinin acid. Recent results of C. Berteа with co-authors [35] however, exclude the artemisininic acid as a direct predecessor of artemisinin in Vietnamese genotype.

Artemisia annua contains 8-10 times more artemisinic acid than artemisinin. Therefore this acid was considered to be its possible biological predecessor. Studies of A. Akhila do not characterize artemisinic acid, as artemisinin predecessor but other authors [39] assume that artemisinic acid is a possible biogenetic predecessor for arteannuin B and artemisinin, consequently and independently. Y. Wang and others used ³H-marked in C-15 (exocyclic methylene) artemisinin acid and showed that it was able to transform into arteannuin B and artemisinin. R. Sangwan and others reported about *in vitro* and *in vivo* transformation of artemisinin acid into arteannuin B and artemisinin [39]. Researchers group under direction of E. Sraba biosynthesized isopentenyl pyrophosphate in arteannuin B and in artemisinin [40]. Therefore arteannuin B was also considered as a biosynthetic predecessor of artemisinin [41]. Cell-free homogenate of *Artemisia annua* leaves was used to transform arteannuin B into artemisinin [41].

Recently, dihydroartemisinin aldehyde reductase (RED1) has been cloned from *Artemisia annua* [42]. This ferment may transform dihydroartemisinin aldehyde in dihydroartemisinin alcohol, substance, which is a “dead final product”, thus influencing the artemisinin efficiency in negative way.

At least two chemotypes of *Artemisia annua* with different composition of essential oil during vegetative period were described [36]. On chemotype shows a high content of

воздействуя на выход артемизинина отрицательным способом.

По крайней мере, два хемотипа полыни однолетней с разными составами эфирного масла во время вегетативного периода были описаны [36]. Один хемотип показывает высокое содержание дигидроартемизиновой кислоты и артемизинина, а второй – высокое содержание артемизиновой кислоты и артеаннуина В, но низкие количества артемизинина. Согласно предыдущим исследованиям не обнаружено преобразование артемизиновой кислоты in planta до дигидроартемизиновой кислоты или наоборот [43]. Было предложено, чтобы артеаннуин В мог быть преобразован в артемизинин in planta [44].

Для оценки конкуренции за предшественников и экспрессии генов терпенового метаболизма в разных растительных тканях полыни однолетней, что может влиять на выход артемизинина, был использован qPCR-метод [45]. Четыре гена метаболического биосинтетического пути артемизинина (аморфа-4,11-диен синтаза, цитохром P450-зависимая гидролаза, Δ 11(13)-артемизининового альдегида редуктаза и альдегиддегидрогеназа 1) показали значительно более высокую экспрессию (в 40-500 раз) в цветочных почках и молодых листьях по сравнению с другими тканями (старые листья, стебли, корни и культура волосатых корней). Эти высокие уровни экспрессии обуславливают большую вероятность синтеза предшественников артемизинина в цветочных почках и молодых листьях, что частично подтверждается более высокой плотностью трихом на этих органах растения. Экспрессия других сесквитерпеновых синтаз была намного ниже. Следовательно, их влияние на выход артемизинина относительно ограничено.

Артемизитен – эндопероксид, близко связанный с артемизинином, был выделен и охарактеризован впервые в 1985

артемизинной кислоты и артеаннуина В, но в малом количестве артемизинина. Согласно предыдущим исследованиям, артемизинная кислота transformation in planta into dihydroartemisinic acid was not found, as well as vice versa [43]. It was offered to transform arteannuin B into artemisinin in planta [44].

QOQR-метод was used to estimate competitiveness for predecessors and expression of genes of terpenic metabolism in different plant tissues of *Artemisia annua*, which may influence the artemisinin efficiency [45]. Four genes of metabolic biosynthetic path of artemisinin (amorph-4,11-dien synthase, cytochrome P450-dependent of hydrolysis, Δ 11(13)-artemisinin aldehyde reductase and aldehyde dehydrogenase 1) showed significantly higher expression (40-500 times) in flower buds and young leaves in comparison with other tissues (old leaves, stalks, roots, and culture of hairy roots). These high levels of expression condition a big possibility of synthesis of artemisinin predecessors in flower buds and young leaves, which is partially proved by higher density of trichomes in these plant organs. Expression of other sesquiterpene synthases was significantly lower. Consequently their influence for artemisinin efficiency is relatively limited.

Artemisiten is an endoperoxyde, closely related to artemisinin. For the first time it was isolated and characterized in 1985 [46]. Correlation of artemisiten concentration to artemisinin increases from 1:20 in early period of growth to 1:1 in the beginning of blossom.

Artemisinin is accumulated mainly in leaves (89%). It is also found in young green stalks (trace quantities), flowers, and seeds

году [46]. Соотношение концентрации артемизитена к артемизинину увеличивается от 1:10 в ранний период развития растения до 1:1 в фазу начала цветения.

Артемизинин, как считается, в основном накапливается в листьях (89%). Обнаруживается также в молодых зелёных стеблях (следовые количества), цветках и семенах [47]. Артемизинин и артемизитен не были обнаружены в корнях [48]. Низкие уровни артеаннуиновой кислоты и артеаннуина В присутствовали в боковых корнях.

Листья полыни однолетней покрыты железистыми трихомами [49]. Двурядные железистые трихомы состоят из 10 клеток, дифференцированных в зависимости от яруса по структуре и функциям [49]. Именно в трихомах, покрывающих листья и соцветия полыни однолетней, были обнаружены самые высокие концентрации артемизинина [50]. Поэтому они считаются участками его биосинтеза и накопления [28]. Один из биотипов полыни однолетней, лишённый железок, не содержал ни артемизинин ни артемизитен. M. Duke и др. заключают, что артемизинин содержится в железистых трихомах полыни однолетней, которые в большом количестве обнаруживаются на её листьях и цветках [28]. J. Ferreira с соавторами поддерживает это заключение [48]. Содержание артемизинина в соцветиях в стадию бутонизации не превышало его содержание в листьях. Однако в фазу полного цветения в соцветиях оно было в 4-11 раз выше, чем в листьях [48].

В процессе онтогенеза полыни количественное содержание артемизинина сначала увеличивается, а затем уменьшается [48]. Самые высокие концентрации этого лактона в растении обнаруживались во время вегетативных стадий [50], до цветения [51] или во время цветения [48].

Третьим по значимости сесквитерпеном данного вида полыни является артеаннуин В [54].

[47]. Artemisinin and artemisiten were not found in roots [48]. Low levels of arteannuic acid and arteannuin B were found in side roots.

Artemisia annua leaves were covered with glandular trichomes [49]. Two row glandular trichomes consist of 10 cells, differentiated dependent from the level by structure and functions [49]. The highest concentrations of artemisinin were found in trichomes, which cover the leaves and inflorescences of *Artemisia annua* [50]. Therefore they are considered the areas of its biosynthesis and accumulation [28]. One of the biotypes of *Artemisia annua* devoid of glandules, did not have artemisinin or artemisiten. M. Duke and others concluded that glandular trichomes of *Artemisia annua* had artemisinin, which is found in a big number in its leaves and flowers [28]. J. Ferreira with co-authors supported this conclusion [48]. Content of artemisinin in inflorescences in budding stage did not exceed its content in leaves. However it was 4-11 times higher than in leaves in a full blossom phase [48].

In a process of ontogenesis of *Artemisia* quantitative content of artemisinin increased in the beginning, and the decreased [48]. The highest concentrations of this lactone in the plant were found during vegetative stages [50], before the blossom [51], or during the blossom [48].

Arteannuin B is the third significant sesquiterpenes of this type of *Artemisia* [54].

J. Laughlin [52] reported that the biggest efficiency of the artemisinic acid from the raw materials was observed while blossom, preceding the increase of artemisinin content. H. Woerdenbag and others [30] con-

J. Laughlin [52] сообщил, что наибольший выход артемизиновой кислоты из сырья наблюдается во время цветения, предшествуя увеличению содержания артемизинина. H. Woerdenbag и др. [30] заключили, что концентрации артемизиновой кислоты и артеануина В уменьшаются в процессе увеличения содержания артемизинина, а максимальные концентрации артемизитена следуют за максимумом артемизинина в растении.

Изменение содержания артемизинина и биосинтетически связанных сесквитерпенов: артемизиновой кислоты, артеаннуина В и артемизитена в течение вегетационного периода было изучено во Вьетнаме [30]. Самое высокое содержание артемизинина (0,86% на абс. сухой вес) наблюдалось в листьях 5-месячных растений, когда масса листьев по отношению к массе всего растения достигала максимума. Впоследствии, содержание артемизинина постепенно понижалось. В этот же период обнаруживались самые высокие концентрации артемизиновой кислоты (0,16% от абс. сухого веса) и артеаннуина В (0,08% от абс. сухого веса). Содержание артемизитена колебалось в разные стадии развития в пределах от 0,002 до 0,09% от абс. сухого веса.

Однако все эти данные характеризуют особенности биосинтеза артемизинина и связанных веществ по фазам развития целого растения, не учитывая характер их распределения по фазам развития отдельных органов. А, тем не менее, на растении одновременно находятся верхние молодые и нижние, часто отмирающие в процессе развития, листья. В отдельно взятом растении концентрации артемизинина часто выше в верхних листьях по сравнению с нижними листьями в вегетативные фазы развития целого растения [50], но эта закономерность может измениться после цветения [52].

В экспериментах, проведённых

cluded that the concentration of artemisinic acid and arteannuin B decreased while process of increasing of artemisinin quantity, and maximum concentrations of artemisiten followed the maximum of artemisinin in the plant.

The change of artemisinin content and biosynthetically linked sesquiterpenes: artemisinin acid, arteannuin B and artemisiten during vegetation period was studied in Vietnam [30]. The highest content of artemisinin (0.86% of absolutely dry weight) was found in the leaves of 5 month plants, when leaves weight in relation to the total weight of the plant reached maximum. Consequently, the content of artemisinin gradually decreased. At the same period there were the highest concentrations of artemisinin acid (0.16% of absolutely dry weight) and arteannuin B (0.08% of absolutely dry weight). The content of artemisiten oscillated in different stages of development from 0.002% to 0.09% from absolutely dry weight.

However all these data characterize the peculiarities of biosynthesis of artemisinin and linked substances in growing phases of the plant, without considering the character of their distribution in separate organs development phases. Nevertheless, the plant simultaneously has upper young and lower, dying out leaves. Artemisinin concentration in a plant ofent may be higher in upper leaves in comparison with lower leaves in vegetative phases, development of entire plant [50], but this regularity may change after the blossom [52].

In experiments carried out by M. Lommen with co-authors [53] content of artemisinin in growth period and develop-

М. Lommen с соавторами [53], содержание артемизинина в процессе роста и развития листьев полыни однолетней сопоставлялось с их площадью и сухим весом. Авторы доказали, что стареющие (отмирающие) коричневые листья содержат больше артемизинина в пересчёте на одинаковую площадь и сухой вес.

Установлено влияние климатических факторов на содержание артемизинина в растении [54]. Факторы окружающей среды, такие как освещённость, температура, содержание влаги в почве и в воздухе, засоленность почвы, значительно влияли на выход целевых веществ из сырья [55].

Биологическая активность сесквитерпеновых соединений полыни однолетней
Спектр биологической активности извлечений и веществ, выделенных из полыни однолетней, широк.

Артемизинин – мощное противомалярийное соединение даже в сравнении с хлорохином в отношении устойчивого к хинину *Plasmodium falciparum* и других вызывающих малярию паразитов. Для объяснения механизма противомалярийного действия, учеными Шанхайского института лекарственных средств была создана модель взаимодействия этого соединения с гемом (рис. 4).

ment of *Artemisia annua* leaves correlated with their square and dry weight. Authors proved that ageing (obsolete) brown leaves with more artemisinin in terms of an equal square and dry weight.

The influence of climatic factors on the content of artemisinin in a plant was established [54]. Factors of the environment such as illumination, temperature, moisture in soil and air, salinity of soil significantly influences the coming out target substances from the raw materials [55].

Biological activity of sesquiterpenic compound of *Artemisia annua*

Spectrum of biological activity of extracts and substances, isolated from *Artemisia annua* is wide.

Artemisinin is a powerful antimalarial compound even in comparison with chloroquine in relation to *Plasmodium falciparum*, resistant to quinine and other parasites which provoke malaria. To explain the mechanism of anti-malaria action, scientists of Shanghai Institute of Drugs created a model of interconnection of this compound with hemin (fig. 4).

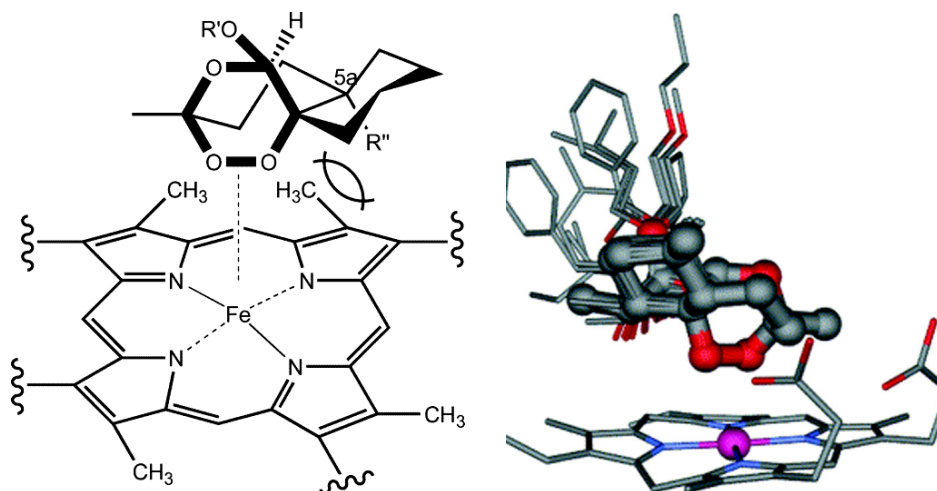


Рисунок 4 – Взаимодействие пероксидного мостика молекулы артемизинина с железом в молекуле гема

Figure 4 – Interreacting of peroxide bridge of artemisinin molecule with Ferrum in hemin molecule

При вступлении артемизинина в контакт с атомом железа гемина происходит химическая реакция с образованием огромного количества свободных радикалов. Их синтез внутри клетки приводит к разрушению клеточных структур и гибели клетки. Токсичность артемизинина для малярийного плазмодия обусловлена неспособностью паразита выводить железо, содержащееся в эритроцитах, которыми он питается [56].

Артемизинин и его синтетические производные (артемизинин и натрия артемизинат) исследовались китайскими учеными в условиях клиники в начале 1970-ых. Лечение с использованием артемизинина и производных протекало без каких-либо очевидных побочных эффектов. Более 3000 больных малярией, зараженных *P. vivax* и *P. falciparum*, были клинически вылечены артемизинином и его производными. Эти вещества также оказались эффективными при церебральной малярии. В процессе лечения температура тела пациентов становилась нормальной через 72 часа, а полное излечение наступало через 120 часов.

Клинические исследования одного из препаратов на основе артемизинина – артеэтера были проведены в 8 различных центрах в Индии на 267 пациентах с неосложнённой и на 211 пациентах с осложнённой формой малярии (*P. falciparum*). Эти испытания подтвердили эффективность трёхдневного курса лечения с артеэтером.

На основе артемизинина M.Z. Abdin с соавторами был синтезирован дигидроартемизинин, который проявил более высокую противомаларийную активность, чем исходное соединение, но его структура менее стабильна. Так же были синтезированы и другие производные артемизинина, среди них были найдены вещества, которые показали более высокую эффективность, чем артемизинин [57].

After artemisinin reaction with heme iron atom, there is a chemical reaction with formation of a big number of free radicals. Their synthesis inside a cell leads to destruction of cell structures and its death. Toxicity of artemisinin for malaria plasmodium is conditioned by the incapability of a parasite to egest iron in erythrocytes, which it feeds on.

Artemisinin and its synthetic derivatives (artemether and sodium artesunate) were studied by Chinese scientists in clinic conditions in the beginning of 1970s. Treatment with artemisinin and its derivatives proceeded without any evident side effects. More than 3,000 malaria patients, infected with *P. vivax* and *P. falciparum* were clinically treated with artemisinin and its derivatives. These substances also were efficient in cerebral malaria treatment. While treatment, body temperature of patients became normal in 72 hours, and the full recovery was in 120 hours.

Clinical study of one of the drugs based on artemisinin – arteether were carried out in 8 different centers of India on 267 patients with intact and 211 patients with complicated form of malaria (*P. falciparum*). These studies proved the efficiency of 3 day treatment course with arteether.

M.Z. Abdin with co-authors synthesized dihydroartemisinin based on the artemisinin. It exhibited higher antimalarial activity than the original compound, but its structure is less stable. Other artemisinin derivatives were also synthesized. In the result, more efficient substances than artemisinin were found [57].

Кроме противомаларийной активности, сесквитерпеновые лактоны полыни однолетней обладают цитотоксическим эффектом. Это действие реализуется посредством блокирования разрушения цитостатических Т-лимфоцитов, подавляющих рост раковых клеток. Хотя точные механизмы биологического действия сесквитерпеновых лактонов не ясны, но известно, что это происходит из-за инактивации ядерного фактора, связанного с фосфорилированием тирозина через альфа-метилен-бутиролактонную группу, которая является химически активной [58].

Большинство опухолевых клеток нуждаются в большом количестве железа для поддержания активного деления. Поверхность таких клеток усеяна рецепторами, обеспечивающими поступление железа внутрь клеток. Это и позволяет артемизинину обнаруживать и убивать такие клетки. Профилактический эффект артемизинина может объясняться его способностью либо распознавать предраковые клетки, тоже характеризующиеся повышенным потреблением железа, либо лишать опухоль способности формировать сосудистую сеть, необходимую для ее роста [59].

В 2010 г. установлено, что артемизинин ингибирует содержащий гем белок (гемопротейн) NO-синтазы, ковалентно соединяясь с протетическим гемом клеток опухоли [60] и бактерий. Впоследствии показали, что артемизинин в состоянии улучшить и даже прервать суставной синовит, раннюю фазу ревматоидного артрита, в мышцах, ингибируя производство NO [61].

У пациентов с карциномой простаты и уровнем специфического антигена (PSA) > 800 мкг/л после краткосрочного лечения с бакалитумидом (50 мг/день в течение 14 дней) и долгосрочного приема капсул с сырьем полыни однолетней и производными артемизинина (непре-

Apart from antimalarial activity, sesquiterpene lactones of *Artemisia annua* have cytotoxic effect. This action is implemented by means of blocking of cytostatic T-lymphocytes which suppress the growth of cancer cells. Although exact mechanisms of biological action of sesquiterpene lactones are not clear, it is known that it is possible because of the inactivation of a nuclear factor, connected with phosphorylation of tyrosine through α -methylene- butyrolactonic group which is chemically active [58].

The majority of tumorous cells need in a big amount of iron for active segmentation. Surface of such cells is covered with receptors, which provide iron income into the cells. This allows artemisinin to detect and eliminate such cells. Preventive effect of artemisinin can be explained by its ability to reveal precancerous cells which are characterized by increased iron consumption, or to deprive cancer from formation of the vascular tree necessary for its growth [59].

It was established in 2010 that artemisinin inhibits NO-syntheses with hem protein, covalently connecting with prosthetic hem of tumor cells [60] and bacteria. Consequently, it was established that artemisinin was able to improve and break arthrous synovitis, early stage of rheumatoid arthritis, in muscles, inhibiting the production of NO [61].

Patients with prostate carcinoma and level of specific antigen (PSA) > 800 μ g/l after short-term treatment with bacalimumid (50 mg/day within 14 days) and long term application of capsules with *Artemisia annua* raw materials and artemisinin deriva-

ривно 5×50 мг/день) уровень PSA существенно понизился (0,98 мкг/л). По мнению авторов исследования последующие контролируемые клинические испытания должны уточнить возможность использования соединений полыни однолетней при раке простаты [62].

Многочисленные исследования показали, что артемизинин и его производные эффективны в отношении разнообразных изогенных опухолей животных [62] и человека [63, 64]. Артезунат также ингибирует воспаление и окислительный стресс *in vivo*, вызванные канцерогенными веществами [65]. Эффективность артемизинина, его производных и полыни однолетней была оценена в нескольких клинических фазах испытаний (I и II) при терапии рака животных и человека [66, 67]. Недавнее управляемое плацебо, рандомизированное и двойное слепое испытание фазы II в пациентах с colorectal карциномой продемонстрировало, что у пациентов, берущих таблетки артезуната в дополнение к стандартной хирургической терапии, было преимущество выживания [67].

Производные артемизинина – дигидроэпидоксипартемизинин и дезоксиартемизинин, выделенные из сесквитерпеновой фракции спиртового экстракта полыни однолетней, были изучены на наличие антиульцерогенного действия на модели язв, вызванных спиртом этиловым и индометацином. Установлено, что соединения проявляют противовосвечную активность. Предполагается, что антиульцерогенный эффект обусловлен увеличением синтеза простагландина [68].

У сесквитерпеновых лактонов полыни однолетней были обнаружены инсектицидные и гербицидные свойства [69].

tives (5×50 mg/day) PSA level decreased significantly (0.98 µg/l). In opinion of the author of the study, further controlling clinical researches should make sure the possibility of *Artemisia annua* compounds in prostate cancer [62].

A lot of researches showed that artemisinin and its derivatives efficient towards different isogenic tumors of animals [62] and humans [63, 64]. Artesunate also inhibits inflammation and oxidational stress *in vivo*, provoked by cancer-causing substances [65]. Efficiency of artemisinin, its derivatives and *Artemisia annua* was estimated in several clinical phases of trials (I and II) in cancer therapy of animals and humans [66, 67]. Recent managed placebo, randomized in a double blind experiment of phase II in patients with colorectal carcinoma demonstrated that patients which take artesunate pills in addition to the standard surgical therapy had advantage of survival [67].

Artemisinin derivatives – dihydroepidoxiartemisinin and desoxyartemisinin – isolated from sesquiterpene fraction of the alcohol extract of *Artemisia annua*, were studied for the presence of antiulcerogenic action at the ulcer models, provoked by the ethanol and indomethacin. It was established that the compounds exhibit anti-ulcerous activity. It is supposed that anti-ulcerogenic effect was conditioned by the increase of synthesis of prostaglandin [68].

Sesquiterpene lactones of *Artemisia annua* had insecticide and herbicide properties [69].

Полынь однолетняя как источник лекарственного растительного сырья

По оценке Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) потребность в артемизинине в 2006 году составляла 96 000 кг для обеспечения как минимум 120 миллионов курсов лечения. Хотя ежегодно во всём мире регистрируется до 500 миллионов случаев заболевания малярией.

Содержание артемизинина в листьях дикорастущей полыни однолетней значительно изменяется в зависимости от генотипа, эколого-географических факторов и фазы заготовки сырья. В сырье с промышленных плантаций среднее содержание его приблизительно 1% в пересчёте на сухой вес. Количество собираемого сырья зависит не только от культивара растения, но также от климата, плотности роста и использования удобрений и ирригации. Исследование, проведённое в полевых условиях во Вьетнаме, показало выход сырья 7000 кг/га в пересчёте на абсолютно сухую массу и приблизительно 30 кг/га артемизинина при плотности посадки – 20 растений на м². Более позднее сообщение описывает многократный сбор сырья в полевых испытаниях в Индии. Наибольшее содержание артемизинина наблюдалось в молодых листьях. Эта техника позволяет увеличивать выход артемизинина, собирая молодые листья от тех же самых растений до четырех раз за сезон, с максимальным выходом артемизинина 77,5 кг/га. Лучшая сельскохозяйственная практика и ирригация позволяют получать 4000-5000 кг/га сырья в пересчёте на абсолютно сухой вес, тогда как небольшие производители в областях без ирригации собирают только 1000 кг/га. Исходя из этих данных, общая потребность в сырье полыни однолетней для получения артемизинина составляет от 3000 до 14 000 гектаров, чтобы получить

Artemisia annua as the source of medicinal plant raw materials

According to the World Healthcare Organization (WHO) artemisinin demand in 2006 amounted to 96,000 kg to supply at least 120 million treatment courses. Although there are up to 500 cases of malaria registered every year.

Content of artemisinin in the leaves of wild-growing *Artemisia annua* varies significantly depending on genotype, ecological and geographic factors, and raw materials harvesting phase. In raw materials of industrial plantations its average content amounts to 1% in terms of dry weight. Quantity of the raw materials gathered depends not only on a variety of the plant, but also on the climate, growth density, and the use of fertility and irrigation. The study, carried out in field conditions in Vietnam, showed the production of raw materials amounted to 7,000 kg/ha in terms of absolutely dry weight and about 30 kg/ha of artemisinin, at the density of 20 plants per m². Later report describes a repeated collection of raw materials in field research in India. The biggest content of artemisinin was found in young leaves. This technique allows increasing artemisinin output, gathering young leaves of the same plants up to 4 times a season, with maximum output of artemisinin of 77.5 kg/ha. The best agricultural practice and irrigation allows receiving 4,000-5,000 kg/ha or raw materials in terms of absolutely dry weight, while small producers in areas without irrigation only gathered 1,000 kg/ha. According to these data, general demand in *Artemisia annua* raw materials to obtain artemisinin amounts to from 3,000 to 14,000

120 миллионов курсов лечения. Площадь необходимых плантаций полыни однолетней во многом определяется также эффективностью технологии выделения артемизинина.

Полынь однолетняя – широко распространённое растение на Кавказе и в Предкавказье в частности.

Методы анализа сесквитерпеновых лактонов в сырье полыни однолетней

Анализ артемизинина в сырье в силу ряда факторов является затруднительным:

- ✓ вещество является нестабильным;
- ✓ концентрация его в растении относительно низка;
- ✓ отсутствуют селективные реагенты, образующие хромогенные комплексы с артемизинином;
- ✓ сопутствующие вещества, содержащиеся в исходных извлечениях из сырья, затрудняют его обнаружение.

Исследование термической стабильности показало, что артемизинин устойчив до 150°C, но начинает разрушаться при 180-200 °C [70]. Кроме того, он чувствителен к кислотной и щелочной обработке [71].

Хроматография в тонком слое (ТСХ) использовалась, чтобы оценить содержание артемизинина [10, 70] в сырье, но из-за отсутствия селективных хромогенных реагентов и присутствия близких по структуре сопутствующих веществ, этот метод оказался не достаточно точным. ВЭЖХ с УФ обнаружением при 210 нм также использовалась для аналитических целей, но присутствие веществ, поглощающих в данной области спектра, существенно снижало точность определения артемизинина [51, 72].

Так как артемизинин и дигидроартемизинин термически неустойчивы и в их структуре практически отсутствуют

ha, to obtain 120 million treatment courses. The square of necessary plantations of *Artemisia annua* is also determined by the efficiency of artemisinin isolation technology.

Artemisia annua is a widespread plant in the Caucasus, particularly in the Ciscaucasia.

Methods of sesquiterpene lactones analysis in the raw materials of *Artemisia annua*

Analysis of artemisinin in the raw materials is challenging due to the range of factors:

- ✓ the substance is unstable;
- ✓ its concentration in a plant is relatively low;
- ✓ there are no selective reagents which form chromogenic complexes with artemisinin;
- ✓ accessory agents in the initial extracts form the raw materials complicate its detection.

Study of thermic stability showed that artemisinin is resistant to 150°C but starts destroying at 180-200°C [70]. Apart of that it is sensible to acid and alkaline processing [71].

Thin-layer chromatography (TLC) was used to estimate the content of artemisinin [10, 70] in the raw materials, but because of the absence of the selective chromogenic reagents and presence of structurally related accessory agents, this method was not precise enough. HPLC with UV detection at 210 nm was also used for analytic purposes but the presence of substances which absorbed in this field of spectrum significantly decreased the accuracy of artemisinin determination [51, 72].

Since artemisinin and dihydroartemisinin are thermally unstable and their structure practically does not have ultraviolet of

ультрафиолетовые или флуоресцентные хромофоры [73], также как и функциональные группы пригодные для дериватизации, развитие чувствительных аналитических методов для определения этих веществ – серьёзная проблема. Два различных подхода использовались для определения этих веществ:

- ✓ предварительное кислотное или основное разложение для получения УФ-поглощающих веществ и последующий их ВЭЖХ-анализ [72];
- ✓ ВЭЖХ с электрохимическим восстановлением [74].

М.М. ElDomiaty и др. сообщили об определении примеси артемизитена к артемизинину с помощью обращённо-фазной ВЭЖХ [75]. Метод ВЭЖХ с полярографическим обнаружением артемизинина и его производных был также развит [76]. Недавно был описан метод ГЖХ для определения артемизинина (предел чувствительности составил 100 нг) [77]. Этот метод основан на линейных соотношениях, полученных между концентрацией артемизинина и соответствующими площадями пиков для любого из двух продуктов его термического разложения. Быстрый скрининговый метод, основанный на тандемной масс-спектрометрии, описан для веществ, выделяемых вместе с артемизинином из первичных гексановых извлечений полыни однолетней [78]. Кроме того, были описаны хромато-масс-спектрометрический [79] метод и радиоиммуноанализ. В 1993 г. М. Jaziri и соавторы сообщили о разработке косвенного энзим-связывающего метода, основанного на способности пероксидной функциональной группы артемизинина взаимодействовать со специфическими антителами.

Несколько работ было посвящено анализу биосинтетически связанных с артемизинином соединений: артеаннуиновой кислоты, артеаннуина В и артемизитена.

fluorescent chromophores [73], as well as functional groups able for derivatization, development of sensitive analytical methods of these substances determination has been a serious problem. Two different approaches were used to determine these substances:

- ✓ preliminary acid and base decomposition to obtain UV-absorbing substances and further HPLC analysis [72];
- ✓ HPLC with electronic and chemical reduction [74].

M.M. ElDomiaty and others reported about the determination of admixture of artemisiten to artemisinin with reverse phase HPLC [75]. HPLC Method with polarographic detection of artemisinin and its derivatives was also worked out [76]. Recently, the method of gas-liquid chromatography has been described for the artemisinin determination (sensitivity limit amounted to 10 ng) [77]. This method was based on the linear correlations, obtained between the concentration of artemisinin and corresponding areas of peaks of any of the products of its thermic decomposition. Fast screening method, based on the tandem mass-spectrometry was described for the substances, being isolated together with artemisinin from the initial hexane extracts of *Artemisia annua* [78]. Apart of that, chromate-mass-spectrometric method [79] and method of radio-immune-analysis were described. In 1993 M. Jaziri and co-authors reported about the working out of an indirect enzyme-binding method, based on the ability of peroxide functional group of artemisinin to interreact with peculiar antibodies.

Several works were devoted to the analysis of compounds, biosynthetically

ТСХ использовалась для одновременного обнаружения этих веществ.

Термическая неустойчивость эндопероксидной функции артемизитена и артемизинина позволяла определять продукты их пиролиза. Простой метод одновременного обнаружения и количественного определения неповрежденного артемизинина и его биопредшественников был предложен D.R. Vandenberghe с соавторами [29]. Предел чувствительности данного метода оказался значительно ниже тех концентраций веществ, которые обнаруживаются в растении.

Заключение. Таким образом, полынь однолетняя является важным источником биологически активных сесквитерпеновых лактонов, некоторые из которых, как, например, артемизинин, артемизининовая кислота и др. уже используются для получения лекарственных средств.

Кроме того, сесквитерпеновые лактоны полыни однолетней обладают цитотоксическим, противовоспалительным, антиульцерогенным и другими видами фармакологической активности.

Проведенный нами анализ, имеющихся в открытом информационном доступе, материалов по изучению сесквитерпеновых лактонов полыни однолетней, в том числе фитохимических и фармакологических, позволяют характеризовать траву полыни однолетней как перспективный источник для разработки новых лекарственных средств.

Библиографический список

1. Klayman D.L. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China // *Science*. 1985. Vol. 228. P. 1049–1055.
2. Li Y., Wu Y.L. How Chinese scientists discovered qinghaosu (artemisinin) and developed its derivatives. What are the future perspectives? // *Med. Trop.* 1998. Vol. 58. P. 9S-12S.
3. Liu J.-M., Ni M.-Y., Fan Y.-F., Tu Y.-

related to artemisinin: arteannuin acid, arteannuin B, and artemisiten. TLC was used for simultaneous detection of these substances.

Thermic instability of endoperoxide function of artemisinin and artemisiten allowed determination of products of their pyrolysis. A simple method of the simultaneous detection of quantitative determination of an intact artemisinin and its bio-predecessors was offered by D.R. Vandenberghe with co-authors [29]. The sensibility limit of this method was significantly lower the concentration of substances, found in the plant.

Conclusion. Thus, *Artemisia annua* is the most important source of biologically active sesquiterpene lactones, some of which as for example artemisinin, artemisinic acid and others have already been used to obtain medicinal drugs.

Apart of that, sesquiterpene lactones of *Artemisia annua* have cytotoxic, anti-inflammatory, anti-ulcerogenic and other types of pharmacological activity.

Our analysis of the open data about sesquiterpene lactones of *Artemisia annua*, including phytochemical and pharmacological, allows characterizing the herb of *Artemisia annua* as a perspective source for new drugs working out.

References

1. Klayman D.L. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science*. 1985. Vol. 228. P. 1049-1055.
2. Li Y., Wu Y.L. How Chinese scientists discovered qinghaosu (artemisinin) and developed its derivatives. What are the future perspectives? *Med. Trop.* 1998. Vol. 58. P. 9S-12S.
3. Liu J.-M., Ni M.-Y., Fan Y.-F., Tu Y.-

- Y., Wu Z.-H., Wu Y.-L., Chou W.-S. Structure and reactions of arteannuin // *Huaxue Xuebao*. 1979. Vol. 37. Is.2. P. 129–141.
4. Xu X.-X., Zhu J., Huang D.-Z., Zhou W.-S. Total synthesis of (+)-yingzhao-su A // *Tetrahedron Lett.* 1991. Vol. 32. P. 5785–5788.
 5. Jeremic D., Jokic A., Behbud A., Stefanovic M. A new type of sesquiterpene lactone isolated from *artemisia annua* L. arteannuin B // *Tetrahedron Lett.* 1973. Vol. 32. P. 3039–3042.
 6. Uskokovic M. R., Williams T. H., Blount J. F. The structure and absolute configuration of arteannuin B // *Helv. Chim. Acta*. 1974. Vol. 57, no.3. P. 600–602.
 7. Qinghaosu Antimalarial Coordinating Research Group et al. Institute of Biophysics, CAS. The crystal structure and absolute configuration of qinghaosu // *Scientia Sinica*. 1979. Vol. 11. P. 1114–1128.
 8. Yeung S., Pongtavornpinyo W., Hastings I.M., Mills A.J., White N.J. Anti-malarial drug resistance, artemisinin-based combination therapy, and the contribution of modeling to elucidating policy choices // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004. Vol. 71. P. 179–186.
 9. Tu Y.-Y., Ni M.-Y., Zhong Y.-R., Li L.-N., Cui S.-L., Zhang M.-Q., Wang X.-Z., Liang X.-T. Studies on the chemical constituents of *Artemisia annua* L. // *Acta Pharmaceutica Sinica*. 1981. Vol. 16, no.5. P. 366–370.
 10. Tu Y.-Y., Ni M.-Y., Zhong Y.-R., Li L.-N., Cui S.-L., Zhang M.-Q., Wang X.-Z., Liang X.-T. Studies on the constituents of *Artemisia annua*. Part II. // *Planta Medica*. 1982. Vol. 44. P. 143–145.
 11. Zhu D.-Y., Deng D.-A., Zhang S.-G, Xu R.-S. Structure of artemisilactone // *Acta Chim. Sinica*. 1984. Vol. 42, no.9. P. 937–939.
 12. Wu Z.-H., Wang Y.-Y. Structure and
- Y., Wu Z.-H., Wu Y.-L., Chou W.-S. Structure and reactions of arteannuin. *Huaxue Xuebao*. 1979. Vol. 37, Is.2. P. 129–141.
 4. Xu X.-X., Zhu J., Huang D.-Z., Zhou W.-S. Total synthesis of (+)-yingzhao-su A *Tetrahedron Lett.* 1991. Vol. 32. P. 5785–5788.
 5. Jeremic D., Jokic A., Behbud A., Stefanovic M. A new type of sesquiterpene lactone isolated from *artemisia annua* L. arteannuin B. *Tetrahedron Lett.* 1973. Vol. 32. P. 3039–3042.
 6. Uskokovic M. R., Williams T.H., Blount J. F. The structure and absolute configuration of arteannuin B. *Helv. Chim. Acta*. 1974. Vol. 57, No.3. P. 600–602.
 7. Qinghaosu Antimalarial Coordinating Research Group et al. Institute of Biophysics, CAS. The crystal structure and absolute configuration of qinghaosu. *Scientia Sinica*. 1979. Vol. 11. P. 1114–1128.
 8. Yeung S., Pongtavornpinyo W., Hastings I.M., Mills A.J., White N.J. Anti-malarial drug resistance, artemisinin-based combination therapy, and the contribution of modeling to elucidating policy choice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004. Vol. 71. P. 179-186.
 9. Tu Y.-Y., Ni M.-Y., Zhong Y.-R., Li L.-N., Cui S.-L., Zhang M.-Q., Wang X.-Z., Liang X.-T. Studies on the chemical constituents of *Artemisia annua* L. *Acta Pharmaceutica Sinica*. 1981. Vol. 16, No.5. P. 366–370.
 10. Tu Y.-Y., Ni M.-Y., Zhong Y.-R., Li L.-N., Cui S.-L., Zhang M.-Q., Wang X.-Z., Liang X.-T. Studies on the constituents of *Artemisia annua*. Part II. *Planta Medica*. 1982. Vol. 44. P. 143–145.
 11. Zhu D.-Y, Deng D.-A., Zhang S.-G, Xu R.-S. Structure of artemisilactone. *Acta Chim. Sinica*. 1984. Vol. 42, No.9. P. 937–939.
 12. Wu Z.-H., Wang Y.-Y. Structure and

- synthesis of arteannuin and related compounds. XI. Identification of epoxyarteannuinic acid // *Acta Chim. Sinica*. 1984. Vol. 42. P. 596.
13. Tu Y.-Y., Ni M.-Y., Chung Y.-Y., Li L.-N. Chemical constituents in *Artemisia annua* L. and the derivatives of artemisinin // *Zhong Yao T'ong Bao (Bull. Chin. Nat. Med.)*. 1981. Vol. 6, no.2. P. 31.
14. Zhu D.-Y., Zhang S.-G., Liu B.-N., Fan G.-J., Liu J., Xu R.-S. Study on antibacterial constituents of Qing Hao (*Artemisia annua* L.) // *Zhongcaoyao (Chin. Trad. Herb. Drug)*. 1982. Vol. 13, no.2. P. 54.
15. Huang J.-J., Xia Z.-Q., Wu L.-F. Constituents of *Artemisia annua* L. I. Isolation and identification of 11R(-)-dihydroarteannuinic acid // *Acta Chim. Sin.* 1987. Vol. 45. P. 609–612.
16. Tian Y., Wei Z.-Y., Wu Z.-H. Studies on the chemical constituents of Qing Hao (*Artemisia annua*), a traditional Chinese herb // *Zhongcaoyao*. 1982. Vol. 13. P. 249–251.
17. Roth R. J., Acton N. Isolation of arteannuinic acid from *Artemisia annua* // *Planta Med.* 1987. Vol. 53. P. 501–502.
18. Zaman S.-S., Sharma R.-P. Some aspects of the chemistry and biological activity of artemisinin and related antimalarials // *Heterocycles*. 1991. Vol. 32, Is.8. P. 1593–1637.
19. Misra L.N. Arteannuin C, a sesquiterpene lactone from *Artemisia annua* // *Phytochemistry*. 1986. Vol. 25, Is.12. P. 2892–2893.
20. Acton N., Klayman D.L. Artemisitene, a new sesquiterpene lactone endoperoxide from *Artemisia annua* // *Planta Med.* 1985. Vol. 5. P. 441–442.
21. El-Ferally F.-S., Al-Meshal I. A., Khalifa S. I. epi-Deoxyarteannuin B and 6,7-dehydroartemisinic acid from *Artemisia annua* // *J. Nat. Prod.* 1989. Vol. 52. P. 196–198.
- synthesis of arteannuin and related compounds. XI. Identification of epoxyarteannuinic acid. *Acta Chim. Sinica*. 1984. Vol. 42. P. 596.
13. Tu Y.-Y., Ni M.-Y., Chung Y.-Y., Li L.-N. Chemical constituents in *Artemisia annua*, L. and the derivatives of artemisinin. *Zhong Yao T'ong Bao (Bull. Chin. Nat. Med)*. 1981. Vol. 6, No.2. P. 31.
14. Zhu D.-Y., Zhang S.-G., Liu B.-N., Fan G.-J., Liu J., Xu R.-S. Study on antibacterial constituents of Qing Hao (*Artemisia annua* L.). *Zhongcaoyao (Chin. Trad. Herb. Drug)*. 1982. Vol. 13, No.2. P. 54.
15. Huang J.-J., Xia Z.-Q., Wu L.-F. Constituents of *Artemisia annua* L. I. Isolation and identification of 11R(-)-dihydroarteannuinic acid. *Acta Chim. Sin.* 1987. Vol. 45. P. 609–612.
16. Tian Y., Wei Z.-Y., Wu Z.-H. Studies on the chemical constituents of Qing Hao (*Artemisia annua*), a traditional Chinese herb. *Zhongcaoyao*. 1982. Vol. 13. P. 249–251.
17. Roth R. J., Acton N. Isolation of arteannuinic acid from *Artemisia annua*. *Planta Med.* 1987. Vol. 53. P. 501–502.
18. Zaman S.-S., Sharma R.-P. Some aspects of the chemistry and biological activity of artemisinin and related antimalarials. *Heterocycles*. 1991. Vol. 32, Is.8. P. 1593–1637.
19. Misra L.N. Arteannuin C, a sesquiterpene lactone from *Artemisia annua*. *Phytochemistry*. 1986. Vol. 25, Is.12. P. 2892–2893.
20. Acton N., Klayman D.L. Artemisitene, a new sesquiterpene lactone endoperoxide from *Artemisia annua*. *Planta Med.* 1985. Vol. 5. P. 441–442.
21. El-Ferally F.-S., Al-Meshal I. A., Khalifa S. I. epi-Deoxyarteannuin B and 6,7-dehydroartemisinic acid from *Artemisia annua*. *J. Nat. Prod.* 1989. Vol. 52. P. 196–198.

22. Wei Z.X., Pan J.P., Li Y. Artemisinin-G – a sesquiterpene from *Artemisia annua* // *Planta Med.* 1992. Vol. 58. Is. 3. P. 300.
23. Brown G. D. Annulide, a sesquiterpene lactone from *Artemisia-Annua* // *Phytochemistry.* 1993. Vol. 32. Is. 2. P. 391–393.
24. Sy L.K., Brown G.D. Deoxyarteannuin-B, dihydro-deoxyarteannuin-B and tans-5-hydroxy-2-isopropenyl-5-methylhex-3-en-1-ol from *Artemisia annua* // *Phytochemistry.* 2001. Vol. 58. Is. 8. P. 1159–1166.
25. Sy L. K., Brown G. D., Haynes R. A novel endoperoxide and related sesquiterpenes from *Artemisia annua* which are possibly derived from allylic hydroperoxides // *Tetrahedron.* 1998. Vol. 54. Is.17. P. 4345–4356.
26. Brown G. D. Two new compounds from *Artemisia annua* // *J. Nat. Prod.* 1992. Vol. 55. Is.12. P. 1756–1760.
27. Brown G. D. Cadinanes from *Artemisia annua* that may be intermediates in the biosynthesis of artemisinin // *Phytochemistry.* 1994. Vol. 36. Is.3. P. 637–641.
28. Duke M.V., Paul R.N., Elsohly H.N., Sturtz G., Duke S.O. Localization of artemisinin and artemisitene in foliar tissues of glanded and glandless biotypes of *Artemisia annua* I. // *Int. J. Plant Sci.* 1994. Vol. 155. P. 365–372.
29. Vandenberghe D. R., Vergauwe A. N., Van Montagu M., Van Den Eeckout E. G. Simultaneous Determination of Artemisinin and Its Bioprecursors in *Artemisia annua* // *J. Nat. Prod.* 1995. Vol. 58. P. 798–803.
30. Woerdenbag H.J., Pras N., Nguyen G.C., Bui T.B., Bos R., Van Uden W., Pham V.Y., Nguyen V.B., Batterman S., Lugt C.B. Artemisinin related sesquiterpenes and essential oils in *Artemisia annua* during a vegetation period in Vietnam // *Planta Med.* 1994. Vol. 60. P. 272–275.
22. Wei Z.X., Pan J.P., Li Y. Artemisinin-G – a sesquiterpene from *Artemisia annua*. *Planta Med.* 1992. Vol. 58, Is. 3. P. 300.
23. Brown G. D. Annulide, a sesquiterpene lactone from *Artemisia-Annua*. *Phytochemistry.* 1993. Vol. 32, Is. 2. P. 391–393.
24. Sy L.K., Brown G.D. Deoxyarteannuin-B, dihydro-deoxyarteannuin-B and tans-5-hydroxy-2-isopropenyl-5-methylhex-3-en-1-ol from *Artemisia annua*. *Phytochemistry.* 2001. Vol. 58, Is. 8. P. 1159–1166.
25. Sy L. K., Brown G. D., Haynes R. A novel endoperoxide and related sesquiterpenes from *Artemisia annua* which are possibly derived from allylic hydroperoxides. *Tetrahedron.* 1998. Vol. 54, Is.17. P. 4345–4356.
26. Brown G. D. Two new compounds from *Artemisia annua*. *J. Nat. Prod.* 1992. Vol. 55, Is.12. P. 1756–1760.
27. Brown G. D. Cadinanes from *Artemisia annua* that may be intermediates in the biosynthesis of artemisinin. *Phytochemistry.* 1994. Vol. 36, Is.3. P. 637–641.
28. Duke M.V., Paul R.N., Elsohly H.N., Sturtz G., Duke S.O. Localization of artemisinin and artemisitene in foliar tissues of glanded and glandless biotypes of *Artemisia annua* I. *Int. J. Plant Sci.* 1994. Vol. 155. P. 365-372.
29. Vandenberghe D. R., Vergauwe A. N., Van Montagu M., Van Den Eeckout E. G. Simultaneous Determination of Artemisinin and Its Bioprecursors in *Artemisia annua*. *J. Nat. Prod.* 1995. Vol. 58. P. 798-803.
30. Woerdenbag H.J., Pras N., Nguyen G.C., Bui T.B., Bos R., Van Uden W., Pham V.Y., Nguyen V.B., Batterman S., Lugt C.B. Artemisinin related sesquiterpenes and essential oils in *Artemisia annua* during a vegetation period in Vietnam. *Planta Med.* 1994. Vol. 60. P. 272-275.

31. Pathak A. K., Jain D. C., Bhakuni R. S., Chaudhuri P. K., Sharma R. P. Deo-oxidation of arteannuin-B with chlorotrimethylsilane and sodium-iodide // *J. Nat. Prod.* 1994. Vol. 57. Is. 12. P. 1708–1710.
32. Sy L. K., Cheung K. K., Zhu N. Y., Brown G. D. Structure elucidation of Arteannuin-O, a novel cadinane diol from *Artemisia annua* and the synthesis of Arteannuin-K, Arteannuin-L, Arteannuin-M and Arteannuin-O // *Tetrahedron.* 2001. Vol. 57. Is. 40. P. 8481–8493.
33. Akhila A., Kumkum R., Thakur R.S. Biosynthesis of artemisinic acid in *Artemisia annua* // *Phytochemistry.* 1990. Vol. 29. P. 2129–2132.
34. Bouwmeester H.J., Wallaart T.E., Jansen M.H.A. et al. Amorpha-4,11-diene synthase catalyses the first probable step in artemisinin biosynthesis // *Phytochemistry.* 1999. Vol. 52. P. 843–854.
35. Berteau C.M., Freije J.R., van der Woude H. et al. Identification of intermediates and enzymes involved in the early steps of artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. // *Planta Med.* 2005. Vol. 71. P. 40–47.
36. Wallaart T.E., Pras N., Beekman A.C., Quax W.J. Seasonal variation of artemisinin and its biosynthetic precursors in plants of *Artemisia annua* of different geographical origin; proof for the existence of chemotypes // *Planta Med.* 2000. Vol. 66. P. 57–62.
37. Woerdenbag H. J., Lugt C. B., Pras N. *Artemisia annua* L.: a source of novel antimalarial drugs // *Pharmaceutisch Weekblad.* – 1990. – Vol. 12, no. 5. – P. 169–181.
38. Brown G.D., Sy L.K. In vivo transformations of dihydroartemisinic acid in *Artemisia annua* plants // *Tetrahedron.* 2004. Vol. 60. P. 1139–1159.
39. Sangwan R.S., Agarwal K., Luthra R., Thakur R.S., Singh-Sangwan N. Bio-
31. Pathak A. K., Jain D. C., Bhakuni R. S., Chaudhuri P. K., Sharma R. P. Deo-oxidation of arteannuin-B with chlorotrimethylsilane and sodium-iodide. *J. Nat. Prod.* 1994. Vol. 57, Is. 12. P. 1708–1710.
32. Sy L. K., Cheung K. K., Zhu N. Y., Brown G. D. Structure elucidation of Arteannuin-O, a novel cadinane diol from *Artemisia annua* and the synthesis of Arteannuin-K, Arteannuin-L, Arteannuin-M and Arteannuin-O. *Tetrahedron.* 2001. Vol. 57, Is. 40. P. 8481–8493.
33. Akhila A., Kumkum R., Thakur R.S. Biosynthesis of artemisinic acid in *Artemisia annua*. *Phytochemistry.* 1990. Vol. 29. P. 2129–2132.
34. Bouwmeester H.J., Wallaart T.E., Jansen M.H.A. et al. Amorpha-4,11-diene synthase catalyses the first probable step in artemisinin biosynthesis. *Phytochemistry.* 1999. Vol. 52. P. 843–854.
35. Berteau C.M., Freije J.R., van der Woude H. et al. Identification of intermediates and enzymes involved in the early steps of artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. *Planta Med.* 2005. Vol. 71. P. 40–47.
36. Wallaart T.E., Pras N., Beekman A.C., Quax W.J. Seasonal variation of artemisinin and its biosynthetic precursors in plants of *Artemisia annua* of different geographical origin; proof for the existence of chemotypes. *Planta Med.* 2000. Vol. 66. P. 57–62.
37. Woerdenbag H. J., Lugt C. B., Pras N. *Artemisia annua* L.: a source of novel antimalarial drugs. *Pharmaceutisch Weekblad.* 1990. Vol. 12, No. 5. P. 169–181.
38. Brown G.D., Sy L.K. In vivo transformations of dihydroartemisinic acid in *Artemisia annua* plants. *Tetrahedron.* 2004. Vol. 60. P. 1139–1159.
39. Sangwan R.S., Agarwal K., Luthra R., Thakur R.S., Singh-Sangwan N. Bio-

- transformation of arteannuic acid into arteannuin-B and artemisinin in *Artemisia annua* // *Phytochemistry*. 1993. Vol. 34. P. 1301–1302.
40. Martinez B.C., Staba E.J: The production of artemisinin in *Artemisia annua* L. tissue cultures // *Adv. Cell. Cult.* 1988. Vol. 6. P. 69–87.
41. Nair M.S.R., Basile D.V. Bioconversion of arteannuin B to artemisinin // *J. Nat. Prod.* 1993. Vol. 56. P. 1559–1566.
42. Rydén A.-M., Ruyter-Spira C., Quax W.J., Osada H., Muranaka T., Kayser O., Bouwmeester H. The Molecular cloning of dihydroartemisinic aldehyde reductase and its implication in artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* // *Planta med.* 2010. Vol. 76. Is.15. P. 1778–1783.
43. Brown G.D., Sy L.K. In vivo transformations of artemisinic acid in *Artemisia annua* plants // *Tetrahedron*. 2006. Vol. 63. P. 9548–9566.
44. Dhingra V., Narasu M.L. Purification and characterization of an enzyme involved in biochemical transformation of arteannuin B to artemisinin from *Artemisia annua* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. Vol. 281. P. 558–561.
45. Olofsson, L., Engström, A., Lundgren, A., Brodelius, P. Relative expression of genes of terpene metabolism in different tissues of *Artemisia annua* L. // *BMC Plant Biology*. 2011. Vol. 11. P. 45–56.
46. Acton N., Klayman D.L., Rollmann I.J. Reductive electrochemical HPLC assay for artemisinin (qinghaosu) // *Planta Med.* 1985. Vol. 5. P. 445–446.
47. Charles D.J., Simon J.E., Wood K.V., Heinstejn P. Germplasm variation in artemisinin content of *Artemisia annua* using an alternative method of artemisinin analysis from crude plant extracts // *Journal of Natural Products*. 1990. Vol. 53. P. 157–160.
48. Ferreira J.F.S., Simon J.E., Janick J. Developmental studies of *Artemisia annua*: transformation of arteannuic acid into arteannuin-B and artemisinin in *Artemisia annua*. *Phytochemistry*. 1993. Vol. 34. P 1301–1302.
40. Martinez B.C., Staba E.J: The production of artemisinin in *Artemisia annua* L. tissue cultures. *Adv. Cell. Cult.* 1988. Vol. 6. P 69–87.
41. Nair M.S.R., Basile D.V. Bioconversion of arteannuin B to artemisinin. *J. Nat. Prod.* 1993. Vol. 56. P. 1559–1566.
42. Rydén A.-M., Ruyter-Spira C., Quax W.J., Osada H., Muranaka T., Kayser O., Bouwmeester H. The Molecular cloning of dihydroartemisinic aldehyde reductase and its implication in artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*. *Planta med.* 2010. Vol.76, Is.15. P.1778-1783.
43. Brown G.D., Sy L.K. In vivo transformations of artemisinic acid in *Artemisia annua* plants. *Tetrahedron*. 2006. Vol. 63. P. 9548-9566.
44. Dhingra V., Narasu M.L. Purification and characterization of an enzyme involved in biochemical transformation of arteannuin B to artemisinin from *Artemisia annua*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. Vol. 281. P. 558-561.
45. Olofsson L., Engström A., Lundgren A., Brodelius P. Relative expression of genes of terpene metabolism in different tissues of *Artemisia annua* L. *BMC Plant Biology*. 2011. Vol. 11. P.45-56.
46. Acton N., Klayman D.L., Rollmann I.J. Reductive electrochemical HPLC assay for artemisinin (qinghaosu). *Planta Med.* 1985. Vol. 5. P. 445–446.
47. Charles D.J., Simon J.E., Wood K.V., Heinstejn P. Germplasm variation in artemisinin content of *Artemisia annua* using an alternative method of artemisinin analysis from crude plant extracts. *Journal of Natural Products*. 1990. Vol. 53. P. 157-160.
48. Ferreira J.F.S., Simon J.E., Janick J. Developmental studies of *Artemisia annua*:

- flowering and artemisinin production under greenhouse and field conditions // *Planta medica*. 1995. Vol. 61, no. 2. P. 167–170.
49. Duke S.O., Paul R.N. Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. // *Int. J. Plant Sci.* 1993. Vol. 154. P. 107–118.
50. Gupta S.K., Singh P., Bajpai P. et al. Morphogenetic variation for artemisinin and volatile oil in *Artemisia annua* // *Ind. Crop. Prod.* 2002. Vol. 16. P. 217–224.
51. Liersch R., Soicke H., Stehr C., Tullner H.U. Formation of artemisinin in *Artemisia annua* during one vegetation period // *Planta Med.* 1986. Vol. 52. P. 387–390.
52. Laughlin J.C. The influence of distribution of antimalarial constituents in *Artemisia annua* L. on time and method of harvest // *Acta Hort.* 1995. Vol. 390. P. 67–73.
53. Lommen W.J.M., Schenk E., Bouwmeester H.J., Verstappen F.W.A. Trichome dynamics and artemisinin accumulation during development and senescence of *Artemisia annua* leaves // *Planta med.* 2006. Vol. 72. P. 336–345.
54. Ferreira J.F.S., Simon J.E., Janick J. Relationship of artemisinin content of tissue cultured, greenhouse grown, and field grown plants of *Artemisia annua* // *Planta Med.* 1995. Vol. 61. P. 351–355.
55. Weathers P.J., Cheetham R.D., Follansbee E., Theoharides K. Artemisinin production by transformed roots of *Artemisia annua* // *Biotechnol Lett.* 1994. Vol. 16. P. 1281–1286.
56. Meshnick S.R. Artemisinin mechanisms of action, resistance and toxicity // *Int. J. Parasitology.* 2002. Vol. 32. P. 1655–1660.
57. Abdin M. Z., Israr M., Rehman R. U., Jain S. K. Artemisinin, a novel antimalarial drug: biochemical and molecular approaches for enhanced production
- flowering and artemisinin production under greenhouse and field conditions. *Planta medica*. 1995. Vol. 61, No.2. P. 167-170.
49. Duke S.O., Paul R.N. Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. *Int. J. Plant Sci.* 1993. Vol. 154. P. 107–118.
50. Gupta S.K., Singh P., Bajpai P. et al. Morphogenetic variation for artemisinin and volatile oil in *Artemisia annua*. *Ind. Crop. Prod.* 2002. Vol. 16. P. 217-224.
51. Liersch R., Soicke H., Stehr C., Tullner H.U. Formation of artemisinin in *Artemisia annua* during one vegetation period. *Planta Med.* 1986. Vol. 52. P. 387-390.
52. Laughlin J.C. The influence of distribution of antimalarial constituents in *Artemisia annua* L. on time and method of harvest. *Acta Hort.* 1995. Vol. 390. P. 67-73.
53. Lommen W.J.M., Schenk E., Bouwmeester H.J., Verstappen F.W.A. Trichome dynamics and artemisinin accumulation during development and senescence of *Artemisia annua* leaves. *Planta med.* 2006. Vol. 72. P. 336-345.
54. Ferreira J.F.S., Simon J.E., Janick J. Relationship of artemisinin content of tissue cultured, greenhouse grown, and field grown plants of *Artemisia annua*. *Planta Med.* 1995. Vol. 61. P. 351–355.
55. Weathers P.J., Cheetham R.D., Follansbee E., Theoharides K. Artemisinin production by transformed roots of *Artemisia annua*. *Biotechnol Lett.* 1994. Vol. 16. P. 1281–1286.
56. Meshnick S.R. Artemisinin mechanisms of action, resistance and toxicity. *Int. J. Parasitology.* 2002. Vol. 32. P. 1655-1660.
57. Abdin M. Z., Israr M., Rehman R. U., Jain S. K. Artemisinin, a novel antimalarial drug: biochemical and molecular approaches for enhanced production.

- // *Planta medica*. 2003. Vol. 69. Is. 04. P. 289–299.
58. Takatsuki S., Narui T., Ekimoto H. et al. Studies on cytotoxic activity of animal and plant crude drugs // *Nat. Med.* 1996. Vol. 50, no. 2. P. 145–157.
59. Kroes B.H., Quarries H.C., Van Ufford Q., Tinbergen-De Boer R.L., Van Den Berg A.J.J., Beukelman C.J., Labadie R.P., Van Dijk H. Modulatory effects of *Artemisia annua* extracts on human complement, neutrophil oxidative burst and proliferation of T lymphocytes // *Phytotherapy Research*. 1995. Vol. 9. Is. 8. P. 551–554.
60. Zeng Q. P., Zhang P. Z. Artesunate mitigates proliferation of tumor cells by alkylating heme-harboring nitric oxide synthase // *Nitric Oxide*. 2011. Vol. 24, no. 2. P. 110–112.
61. Bao F., Wu P., Xiao N., Qiu F., Zeng Q.P. Nitric oxide-driven hypoxia initiates synovial angiogenesis, hyperplasia and inflammatory lesions in mice // *PloS one*. 2012. Vol. 7, no. 3. P. e34494.
62. Michaelsena Fr.W., Saeed M.E.M., Schwarzkopf J., Efferth Th. Activity of *Artemisia annua* and artemisinin derivatives, in prostate carcinoma // *Phyto-medicine*. 2015. Vol. 22. P. 1223–1231.
63. Du J.H., Zhang H.D., Ma Z.J., Ji K.M. Artesunate induces oncosis-like cell death in vitro and has antitumor activity against pancreatic cancer xenografts in vivo // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2010. Vol. 65. P. 895–902.
64. Ma H., Yao Q., Zhang A.M., Lin S., Wang X.X., Wu L., Sun J.G., Chen Z.T. The effects of artesunate on the expression of EGFR and ABCG2 in A549 human lung cancer cells and axenograft model // *Molecules*. 2011. Vol. 16. P. 10556–10569.
65. Ng D.S., Liao W., Tan W.S., Chan T.K., Loh X.Y., Wong, W.S. Anti-malarial drug artesunate protects against cig-
- Planta medica*. 2003. Vol. 69, Is. 04. P. 289-299.
58. Takatsuki S., Narui T., Ekimoto H. et al. Studies on cytotoxic activity of animal and plant crude drugs. *Nat. Med.* 1996. Vol. 50, No. 2. P. 145-157.
59. Kroes B.H., Quarries H.C., Van Ufford Q., Tinbergen-De Boer R.L., Van Den Berg A.J.J., Beukelman C.J., Labadie R.P., Van Dijk H. Modulatory effects of *Artemisia annua* extracts on human complement, neutrophil oxidative burst and proliferation of T lymphocytes. *Phytotherapy Research*. 1995. Vol. 9, Is. 8. P. 551-554.
60. Zeng Q. P., Zhang P. Z. Artesunate mitigates proliferation of tumor cells by alkylating heme-harboring nitric oxide synthase. *Nitric Oxide*. 2011. Vol. 24, No. 2. P. 110-112.
61. Bao F., Wu P., Xiao N., Qiu F., Zeng Q.P. Nitric oxide-driven hypoxia initiates synovial angiogenesis, hyperplasia and inflammatory lesions in mice. *PloS one*. 2012. Vol. 7, No. 3. P. e34494.
62. Michaelsena Fr.W., Saeed M.E.M., Schwarzkopf J., Efferth Th. Activity of *Artemisia annua* and artemisinin derivatives, in prostate carcinoma. *Phytomedicine*. 2015. Vol. 22. P. 1223–1231.
63. Du J.H., Zhang H.D., Ma Z.J., Ji K.M. Artesunate induces oncosis-like cell death in vitro and has antitumor activity against pancreatic cancer xenografts in vivo. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2010. Vol. 65. P. 895–902.
64. Ma H., Yao Q., Zhang A.M., Lin S., Wang X.X., Wu L., Sun J.G., Chen Z.T. The effects of artesunate on the expression of EGFR and ABCG2 in A549 human lung cancer cells and axenograft model. *Molecules*. 2011. Vol. 16. P. 10556–10569.
65. Ng D.S., Liao W., Tan W.S., Chan T.K., Loh X.Y., Wong, W.S. Anti-malarial drug artesunate protects against cig-

- arette smoke-induced lung injury in mice // *Phytotherapy*. 2014. Vol. 21. P. 1638–1644.
66. Breuer E., Efferth T. Treatment of Iron-Loaded Veterinary Sarcoma by *Artemisia annua* // *Nat. Prod. Bioprospect.* 2014. Vol. 4. P. 113–118.
67. Krishna S., Ganapathi S., Ster I.C., Saeed M.E., Cowan M., Finlayson C., Kovacsevics H., Jansen H., Kremsner P.G., Efferth T., Kumar D. A randomised, double blind, placebo-controlled pilot study of oral artesunate therapy for colorectal cancer // *EBioMed.* 2015. Vol. 2. P. 82–90.
68. Foglio M. A., Dias P. C., Antônio M. A., Possenti A., Rodrigues R. A. F., da Silva É. F. et al. Antiulcerogenic activity of some sesquiterpene lactones isolated from *Artemisia annua* // *Planta medica.* 2002. Vol. 68, no.6. P. 515–518.
69. Tripathi A. K., Prajapati V., Aggarwal K. K., Kumar S. Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1, 8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) // *Journal of Economic Entomology.* 2001. Vol. 94, no. 4. P. 979–983.
70. Luo X.D., Shen C.C. The chemistry, pharmacology, and clinical applications of qinghaosu (artemisinin) and its derivatives // *Med. Res. Rev.* 1987. Vol. 7. P. 29–52.
71. Zheng M., Li L., Chen S. Chemical transformations of qinghaosu, a peroxidic antimalarial // *Tetrahedron.* 1983. Vol. 36. P. 2941–2946.
72. Zhao S.S., Zeng M. Spectrometric high pressure liquid chromatography (HPLC) studies on the analysis of Qinghaosu // *J. Med. Plant. Res.* 1985. Vol. 3. P. 233–237.
73. Theoharides A.D., Smyth M.H., Ashmore R.W., Halverson J.M., Zhou Z.M., Ridder W.E., Lin A.J. Determination of
- arette smoke-induced lung injury in mice. *Phytotherapy*. 2014. Vol. 21. P. 1638–1644.
66. Breuer E., Efferth T. Treatment of Iron-Loaded Veterinary Sarcoma by *Artemisia annua*. *Nat. Prod. Bioprospect.* 2014. Vol. 4. P. 113–118.
67. Krishna S., Ganapathi S., Ster I.C., Saeed M.E., Cowan M., Finlayson C., Kovacsevics H., Jansen H., Kremsner P.G., Efferth T., Kumar D. A randomised, double blind, placebo-controlled pilot study of oral artesunate therapy for colorectal cancer. *EBioMed.* 2015. Vol. 2. P. 82–90.
68. Foglio M. A., Dias P. C., Antônio M. A., Possenti A., Rodrigues R. A. F., da Silva É. F. et al. Antiulcerogenic activity of some sesquiterpene lactones isolated from *Artemisia annua*. *Planta medica.* 2002. Vol. 68, No.6. P. 515-518.
69. Tripathi A. K., Prajapati V., Aggarwal K. K., Kumar S. Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1, 8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology.* 2001. Vol. 94, No. 4. P. 979-983.
70. Luo X.D., Shen C.C. The chemistry, pharmacology, and clinical applications of qinghaosu (artemisinin) and its derivatives. *Med. Res. Rev.* 1987. Vol. 7. P. 29–52.
71. Zheng M., Li L., Chen S. Chemical transformations of qinghaosu, a peroxidic antimalarial. *Tetrahedron.* 1983. Vol. 36. P. 2941–2946.
72. Zhao S.S., Zeng M. Spectrometric high pressure liquid chromatography (HPLC) studies on the analysis of Qinghaosu. *Plant Med. J. Med. Plant Res.* 1985. Vol. 3. P. 233–237.
73. Theoharides A.D., Smyth M.H., Ashmore R.W., Halverson J.M., Zhou Z.M., Ridder W.E., Lin A.J. Determination of

- dihydroqinghaosu [dihydroartemisinin] in blood by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry // Anal. Chem. 1988. Vol. 60. P. 115–120.
74. Zhou Z.M., Anders J.C., Chung H., Theoharides A.D. Analysis of artesunic acid and dihydroQHS in blood by HPLC with reductive EC detection // J. Chromatogr. 1987. Vol. 414. P. 77–90.
75. El Domiaty M.M., Al Meshal I.A., El Feraly F.S. Reversed-phase HPLC determination of artemisitene in artemisinin // J. Liq. Chromatogr. 1991. Vol. 14. P. 2317–2330.
76. Zhou Z., Huang Y., Xie G., Sun X., Wang Y., Fu L., Jian H., Guo X., Li G. HPLC with polarographic detection of artemisinin and its derivatives and application of the method to the pharmacokinetic study of artemether // J. Liq. Chromatogr. 1988. Vol. 11. P. 1117–1137.
77. Sipahimalani A.T., Fulzele D.P., Heble M.R. Rapid method for the detection and determination of artemisinin by gas chromatography // J. Chromatogr. 1991. Vol. 538. P. 452–455.
78. Ranasinghe A., Sweatlock J.D., Cooks R.G. A rapid screening method for artemisinin and its congeners using Ms/Ms: Search for new analogues in *Artemisia annua* // Journal of natural products. 1993. Vol. 56, no. 4. P. 552–563.
79. Woerdenbag H.J., Luers J.F.J., Van Uden W., Pras N., Malingre Th., Alfermann A.W. Production of the new antimalarial drug in shoot cultures of *Artemisia annua* L. // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 1993. Vol. 32. P. 247–257.
- dihydroqinghaosu [dihydroartemisinin] in blood by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. Anal. Chem. 1988. Vol. 60. P. 115–120.
74. Zhou Z.M., Anders J.C., Chung H., Theoharides A.D. Analysis of artesunic acid and dihydroQHS in blood by HPLC with reductive EC detection. J. Chromatogr. 1987. Vol. 414. P. 77–90.
75. El Domiaty M.M., Al Meshal I.A., El Feraly F.S. Reversed-phase HPLC determination of artemisitene in artemisinin. J. Liq. Chromatogr. 1991. Vol. 14. P. 2317–2330.
76. Zhou Z., Huang Y., Xie G., Sun X., Wang Y., Fu L., Jian H., Guo X., Li G. HPLC with polarographic detection of artemisinin and its derivatives and application of the method to the pharmacokinetic study of artemether. J. Liq. Chromatogr. 1988. Vol. 11. P. 1117–1137.
77. Sipahimalani A.T., Fulzele D.P., Heble M.R. Rapid method for the detection and determination of artemisinin by gas chromatography. J. Chromatogr. 1991. Vol. 538. P. 452–455.
78. Ranasinghe A., Sweatlock J.D., Cooks R.G. A rapid screening method for artemisinin and its congeners using Ms/Ms: Search for new analogues in *Artemisia annua*. Journal of natural products. 1993. Vol. 56, No. 4. P. 552–563.
79. Woerdenbag H.J., Luers J.F.J., Van Uden W., Pras N., Malingre Th., Alfermann A.W. Production of the new antimalarial drug in shoot cultures of *Artemisia annua* L. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 1993. Vol. 32. P. 247–257.

* * *

Коновалов Дмитрий Алексеевич – доктор фармацевтических наук, профессор, заместитель директора по науке, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов:

* * *

Konovalev Dmitry Alexeevich – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Deputy Director of Research, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia. Area of expertise:

фитохимия, фармакогнозия, сесквитерпеновые лактоны, полиацетиленовые соединения, *d.a.konovalov@pmedpharm.ru*

Шевчук Оксана Михайловна – доктор биологических наук, заведующий лабораторией ароматических и лекарственных растений ФГБУН «НБС-ННЦ», пгт. Никита, Республика Крым. Область научных интересов: интродукция и селекция лекарственных растений, *oksana_shevchuk1970@mail.ru*.

Логвиненко Лидия Алексеевна – научный сотрудник лаборатории ароматических и лекарственных растений ФГБУН «НБС-ННЦ», пгт. Никита, Республика Крым. Область научных интересов: интродукция и селекция лекарственных растений, куратор коллекции лекарственных растений.

Хамилонов Артур Александрович – аспирант кафедры фармакогнозии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фитохимия, фармакогнозия, *spartan400@yandex.ru*.

phytochemistry, pharmacognosy, sesquiterpenic lactones, polyacetylene compounds. E-mail: d.a.konovalov@pmedpharm.ru.

Shevchuk Oksana Mikhailovna – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Aromatic and Medicinal Plants in Nikitsky Botanic Garden, Nikita, Republic of Crimea. Area of expertise: introduction and selection of medicinal plants. *E-mail: oksana_shevchuk1970@mail.ru.*

Logvinenko Lidiya Alekseevna – scientific worker of the laboratory of aromatic medicinal plants in Nikitsky Botanic Garden, Nikita, Republic of Crimea. Area of expertise: introduction and selection of medicinal plants, supervisor of the medicinal plants collection.

Khamilo Artur Aleksandrovich – postgraduate student at the Chair of Pharmacognosy, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia. Area of expertise: phytochemistry, pharmacognosy. *E-mail: spartan400@yandex.ru.*

Поступила в редакцию 29.09.2016
Принята к печати 21.10.2016

Received 29.09.2016
Accepted for publication 21.10.2016