На правах рукописи

**КРАСЮК ЕКАТЕРИНА ВАСИЛЬЕВНА**

# ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ МОНАРДЫ, ИНТРОДУЦИРУЕМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

**14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия**

**АВТОРЕФЕРАТ**
**диссертации на соискание ученой степени**
**кандидата фармацевтических наук**

**Пермь - 2020**

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

**Научный руководитель:**
доктор фармацевтических наук, профессор **Пупыкина Кира Александровна**

**Официальные оппоненты:**
**Марахова Анна Игоревна -** доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», институт биохимической технологии и нанотехнологии, профессор;

**Бомбела Татьяна Владимировна -** доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с курсом ботаники, профессор.

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва.

Защита состоится «___» _____2020 г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г Пермь, ул. Полевая, 2, тел. (342) 233-55-01).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46) и на сайте (http://www.pfa.ru) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук Замараева Татьяна Михайловна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В настоящее время одним из перспективных направлений научных исследований является поиск и выявление новых видов эфиромасличных растений, как источников ценных биологически активных веществ, и создание на их основе лекарственных средств, применяемых в лечебно-профилактических целях. В Республике Башкортостан в естественных условиях произрастает ограниченное количество эфиромасличных растений, поэтому интродукция растений разных таксонов является одним из путей рационального решения вопросов воспроизводства и охраны природных растительных ресурсов, являющихся аналогами импортного растительного сырья ценного для практического использования (Корчашкина Н.В., 2009; Куркин В.А., 2007; Науменко Е.Н. и др., 2012; Самылина И.А. и др., 2010). В настоящее время ведутся широкие исследования, затрагивающие различные аспекты изучения эфиромасличных и пряно-ароматических растений, которые находят широкое применение в медицинской, пищевой промышленности, имеют хозяйственную ценность для отечественной сырьевой базы (Анищенко И.Е.,2013; Емельянов С.В. и др.,2013; Лапина А.С. и др.,2017).

Особое место среди эфиромасличных растений, занимают виды монарды. Растения рода *Monarda* L. содержат богатый набор биологически активных веществ, обладающих разнообразными видами фармакологической активности, используются как душистые и полезные пряности, улучшающие пищеварение. Эфирное масло и экстракты монарды обладают высокой бактерицидной, противовирусной, противогрибковой, антибиотической, антигельминтной активностью, проявляют иммуномодулирующее, противовоспалительное, седативное действие, восстанавливают нарушенные окислительно-восстановительные процессы в организме, стимулируют регенерацию поврежденных участков кожи и слизистых оболочек (Анищенко И.Е., 2009; Бедуленко М.А., 2013; Беспалько Л.В. и др., 2017; Говорун М.И., 2014; Кисленко В.Н. и др., 2011; Либусь О.К. и др., 2004; Мащенко З.Е., 2003). Поэтому актуальным является углубленное изучение растений рода *Monarda* L. как сырьевых источников биологических активных соединений, решение вопросов стандартизации, обоснование рационального использования лекарственного растительного сырья монарды для получения лекарственных препаратов.

Таким образом, проведение комплексных исследований, касающихся изучения химического состава и биологической активности растений рода *Monarda* L., интродуцируемых в Республике Башкортостан, выявление диагностически значимых морфолого-анатомических признаков сырья монарды, разработки методов стандартизации в соответствии с современными требованиями фармацевтического анализа является первоочередными задачами данной работы.

**Степень разработанности темы.** В отечественной и зарубежной литературе приведены сведения о некоторых морфолого-анатомических и биологических особенностях роста и развития видов рода *Monarda* L., изучалась динамика накопления эфирного масла в разные фазы вегетации растений, их компонентный состав, условия интродукции (Корчашкина Н.В., 2009; Маланкина Е.Л., 2001; Никитина А.С. и др., 2016; Саргсян Е.Э., 2015; Savickiene N., 2002), но не проводилось подробного изучения других групп биологически активных веществ, в частности полисахаридов, каротиноидов, органических кислот, сапонинов, дубильных веществ, флавоноидов, кумаринов, макро- и микроэлементов, аминокислот и др.. В Самарском государственном медицинском университете изучались морфолого-анатомические особенности травы монарды дудчатой и возможных примесных видов, петиолярная анатомия монарды дудчатой, были выделены некоторые индивидуальные вещества из группы флавоноидов, монотерпеновых фенолов и установлена их химическая структура, приведены подходы к стандартизации травы монарды дудчатой по содержанию флановоидов и эфирных масел (Лапина А.С., Куркин В.А. 2017; Лапина А.С., 2017). Описание фармакологической активности для эфирного масла монарды встречается в работах отечественных и зарубежных ученых, в которых подтверждается наличие антимикробной, антиоксидантной, противовоспалительной, иммуномодулирующей, противомикробной и фунгицидной активности (Федотов С.В., 2015; Харченко В.А., 2012; Мащенко, З.Е., 203; Marchese A. et al., 2016; Tabanca N. et al., 2013; Pathania et al., 2013). При этом недостаточно изучены фармакологические свойства водных и водно-спиртовых извлечений травы монарды.

В настоящее время в Российской Федерации не решенными остаются вопросы разработки нормативной документации для травы монарды, оценки качества лекарственного растительного сырья и стандартизации в соответствии с современными требованиями.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего исследования является комплексное фармакогностическое изучение растений рода *Monarda* L., интродуцируемых в Республике Башкортостан, обоснование возможности их использования как источников ценных биологически активных веществ.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1) провести сравнительное морфолого-анатомическое изучение видов монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, и выявить диагностически значимые макро- и микроскопические признаки;

2) изучить качественный состав биологически активных веществ различных видов монарды;

3) определить количественное содержание основных групп биологически активных веществ, изучить динамику накопления эфирного масла и флавоноидов в разные фазы вегетации растений;

4) определить критерии подлинности, показатели качества сырья монарды и разработать методики количественного определения доминирующих групп биологически активных веществ, необходимых для стандартизации сырья;

5) определить некоторые виды фармакологической активности травы монарды;

6) разработать проект фармакопейной статьи «Монарды трава».

**Научная новизна.** Впервые проведено сравнительное морфолого-анатомическое изучение представителей рода *Monarda* L., интродуцированных в условиях Республики Башкортостан. Выявлены основные диагностически значимые признаки сырья монарды, на основе которых разработаны критерии подлинности и показатели качества, необходимые для стандартизации.

Изучен состав биологически активных веществ травы различных видов монарды с использованием методов хроматоденситометрии, ВЭЖХ, УФ-спектроскопии, спектрофотомерии и проведена их сравнительная оценка. Методом газовой хроматографии с масс-детектором определен компонентный состав эфирных масел монарды и выявлено свыше 20 компонентов, среди которых преобладают в количественном отношении тимол, винилгваякол, карвакрол, метиловый эфир карвакрола, линалоол, цимол. Наличие винилгваякола в эфирном масле травы монарды двойчатой выявлено впервые. Проведено изучение фенольных соединений различных видов монарды. С использованием методов хроматографического анализа, УФ-спектроскопии, а также метода ВЭЖХ подтверждено присутствие в траве монарды веществ фенольной природы: флавоноидов (рутин, лютеолин-7-гликозид, нарингенин, гиперозид, лютеолин, катехин), фенолкарбоновой кислоты (галловой) и оксикоричных кислот (хлорогеновой, кофейной), при этом флавоноид нарингенин и хлорогеновая кислота обнаружена впервые. Впервые изучен макро-, микроэлементный и аминокислотный состав травы различных видов монарды.

Определено количественное содержание аскорбиновой кислоты, органических кислот, каротиноидов, полисахаридов, оксикоричных кислот, сапонинов, кумаринов, дубильных веществ. Разработаны методики количественного определения эфирного масла в траве монарды методом перегонки с водяным паром и суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин методом дифференциальной спектрофотомерии, установлены нормы их содержания. Проведена валидационная оценка методики количественного определения флавоноидов по критериям правильность, прецизионность, линейность и специфичность.

Определены критерии подлинности, показатели качества сырья монарды, изучена динамика накопления эфирных масел и флавоноидов в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, в зависимости от фазы вегетации растений. Установлены сроки годности и время заготовки травы монарды.

Определена острая токсичность сырья, изучена противовоспалительная, антиоксидантная, антимикробная активность водных и водно-спиртовых извлечений из травы монарды.

Приоритет и новизна исследований подтверждены патентом РФ на изобретение № 2019125919/04(050832) от 15.08.2019г.

**Теоретическая и практическая значимость работы**. Экспериментальные исследования по изучению химического состава и фармакологической активности травы монарды подтверждают целесообразность ее дальнейшего изучения и использования в медицине в лечебно-профилактических целях.

Практическая значимость работы заключается в усовершенствовании подходов к стандартизации травы монарды в соответствии с современными требованиями фармацевтического анализа и использовании результатов диссертационного исследования в учебном процессе на кафедрах фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, при анализе лекарственного растительного сырья и препаратов, содержащих эфирные масла и флавоноиды в центрах контроля качества и сертификации лекарственных средств.

Разработан проект фармакопейной статьи «Монарды трава», который принят к рассмотрению в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» с целью включения и дополнения к Государственной Фармакопее Российской Федерации.

**Методология и методы исследований.** Методология диссертационного исследования основана на изучении отечественных и зарубежных источников литературы по фармакогностическому исследованию видов монарды, оценке степени изученности и актуальности темы. Согласно цели и задачам исследования, выбраны объекты и методы исследования.

Объектами исследования служили образцы травы монарды, интродуцируемые в Республике Башкортостан. Исследования проводили с применением методов макро- и микроскопического анализа, тонкослойной хроматографии (ТСХ), УФ-спектроскопии, газовой хроматографии с масс-детектором (ГХ/МС), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), рентгенофлуоресцентного метода, проводились качественные и гистохимические реакции на отдельные группы БАВ.

Статистическая обработка экспериментальных данных (Р = 95%) проводилась в соответствии с требованиями ГФ-XIV издания «Статистическая обработка результатов химического эксперимента и биологических испытаний», с использованием критерия Стьюдента и критерия Фишера.

**Положения, выносимые на защиту:**

- результаты сравнительного морфолого-анатомического исследования видов монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан;

- результаты изучения качественного состава и количественного содержания биологически активных веществ различных видов монарды;
- результаты разработки методик количественного определения доминирующих групп биологически активных веществ в траве монарды и определения норм их содержания;
- результаты изучения динамики накопления эфирного масла и флавоноидов в разные фазы вегетации в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан;
- результаты разработки показателей подлинности и качества травы монарды;
- результаты изучения фармакологической активности водных и водно-спиртовых извлечений из травы монарды;
- результаты разработки фармакопейной статьи «Монарды трава».

**Степень достоверности.** Степень достоверности представленных результатов исследований определяется достаточными по своему объему данными и количеству материала, использованием современных методов исследования. Для обработки результатов исследований использованы методы статистической обработки полученных результатов, которые проводили стандартными методами статистики в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ XIV издания с применением программ «Excel 7.0» (MS Office, USA), «Statistica 6.0» (StatSoft, USA).

Для методики количественного определения флавоноидов проведена валидационная оценка. Выводы, сформулированные в диссертации, аргументированы и логически вытекают из результатов выполненных фармакогностических и фармакологических исследований.

**Апробация результатов.** Основные результаты исследования доложены и обсуждены на научно-практических конференциях различного уровня:: II-й научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине (Москва, 2014); Международной научно-практической конференции «Фармацевтическое образование, наука и производство – ориентир на стратегию «Казахстан - 2020» (Казахстан, 2014); 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015» (Минск, 2015); II Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Наука и медицина: современный взгляд молодежи» (Алма-Ата, 2015); XII международной научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований» (Москва, 2015); 82-й Байкальской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины» (Иркутск, 2015); 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и

фармации – 2015» (Минск, 2015); III научно-практической конференции «Молодые ученые и фармация XXI века» (Москва, 2015); XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2016); Всероссийских научных конференциях студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2012-2016); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическое образование, наука и практика: Горизонты развития» (Курск, 2016), Всероссийской итоговой 76-й научной конференции им. Н.И. Пирогова (Томск, 2017); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическое образование, современные аспекты науки и практики» (Уфа, 2017); конкурсе работ молодых ученых по программе «У.М.Н.И.К-ХЕЛСНЕТ.» (г. Уфа, 2017 г.).

**Внедрение результатов исследования.** Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедр фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России и работу ГБУЗ РБ «Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств».

**Личный вклад автора.** Автор данной работы лично участвовал в постановке цели и задачей исследования, проведении экспериментальных исследований, интерпретации, анализе и обобщении полученных результатов, а также в подготовке публикаций по теме диссертации.

**Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России по проблеме «Изыскание и изучение новых лекарственных средств». Номер госрегистрации 01200507996.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертация соответствует паспорту специальности 14.04.02.- фармацевтическая химия, фармакогнозия. Работа представляет итог исследований, выполненный автором в творческом сотрудничестве с кафедрами фармакологии с курсом клинической фармакологии, лабораторией ЦНИЛ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, ФГБУ РАН «Институт органической химии УНЦ РАН».

**Публикации.** Основные результаты диссертационного исследования отражены в 38 научных работах, в том числе 9 статей в журналах, включенных в Перечень ВАК Министерства образования и науки РФ, 1 патент РФ на изобретение.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 197 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, трех экспериментальных глав, общих выводов, списка литературы и приложений. В работе содержатся 43

таблицы, 84 рисунка. Список цитируемой литературы включает 119 библиографических источников, из которых 16 на иностранных языках.

Во введении сформулированы актуальность исследования, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость работы, положения, выдвигаемые на защиту.

*Глава 1* содержит обзор отечественной и зарубежной литературы по исследованию растений рода монарда. В главе представлены имеющиеся данные по ботанической характеристике, ареалу произрастания, интродукции, химическому составу, описана фармакологическая активность и приведен обзор современного состояния изученности растений рода монарда по применению в научной и народной медицине.

*В главе 2* представлены и описаны объекты и методы исследования. Глава включает методики качественного и количественного определения БАВ.

*В главе 3* приводятся результаты морфолого-анатомического изучения пяти видов монарды, приведены сравнительная характеристика и выявленные диагностически значимые признаки.

*Глава 4* посвящена фитохимическому изучению травы различных видов монарды, разработке методик количественного определения содержания эфирных масел и флавоноидов, изучению компонентного состава эфирного масла видов монарды, изучению динамики накопления эфирных масел и флавоноидов в траве монарды и стандартизации сырья.

*В главе 5* приведены результаты сравнительной характеристики фармакологической активности извлечений из травы монарды.

*В приложении* представлены акты внедрения, проект фармакопейной статьи « Монарды трава», патент РФ на изобретение и другие материалы.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Объекты и методы исследования

Объектами диссертационного исследования служили образцы травы различных видов монарды: монарда дудчатая или трубчатая (*M.fistulosa* L.), монарда двойчатая (*M.didyma* L.), монарда гибридная (*M.hybrida* L.), монарда лимонная (*M.citriodora* Cerv. Ex Lag.) и монарда Рассела (*M.Rassela* Nut.), выращенные в Ботаническом саду-институте УНЦ РАН и на коллекционном участке кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Заготовку травы монарды проводили в разные фазы вегетации (2012 - 2017 г.г.). Сухой экстракт из травы монарды получали методом перколяции: экстрагент - 40% спирт этиловый, соотношение сырье-экстрагент 1:1, измельченность 2 мм.

Для проведения фармакогностических исследований использовали комплекс методов: методы макро- и микроскопического анализа (микроскоп марки «Мини-Мед 501» с фотонасадкой, микровизор (MVZ-103 с вмонтированной камерой); хроматографический анализ (тонкослойная хроматография (пластинки Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ»); УФ-спектроскопия (спектрофотометр

марки «Shimadzu UV-1800»); высокоэффективная жидкостная хроматография (хроматограф «Стайер» (Аквилон, Россия) с УФ-детектором при длине волны 254 и 360 нм); газовая хроматография с масс-детектором (хроматомасс-спектрометр фирмы Agilent Technologies, состоящий из газового хроматографа –7890 и масс-селективного детектора 5973N с квадрупольным анализатором); рентгенофлуоресцентный метод (спектрометр «PacificScientific-6520»). Определение антиоксидантной активности проводили в двух модельных системах по изучению влияния извлечений на генерацию активных форм кислорода и перекисное окисление липидов; противовоспалительной активности - на скрининговой модели формалинового отека лапки у мышей; антимикробной активности - диско-диффузным методом; определяли острую токсичность. Статистическую обработку результатов исследования проводили стандартными методами вариационной статистики.

## 2. Морфолого-анатомическое исследование растений рода монарда

Проведен сравнительный макроскопический анализ травы пяти видов монарды и установлено, что по морфологическим признакам они имеют много общего, а именно, у всех видов стебель четырехгранный, прямостоячий, облиственный, опушенный; листорасположение супротивное; листья простые, короткочершковые, жилкование перисто-краевое; цветки - обоеполые, трубчатые, двугубые; соцветия представлены шаровидными головками. Имеются некоторые отличия по высоте - от 60 до 120 см; по форме листовой пластинки – у всех видов продолговато-яйцевидной формы, у *M. citriodora* – ланцетный; край листовой пластинки у всех видов зубчатый, у *M. citriodora* пильчатый. Соцветия в виде шаровидных головок на концах основных и боковых побегов, состоящие из 30 – 50 цветков у всех видов, кроме *M. citriodora*, у которой соцветие многоярусное из 5-7 мутовок, состоящих из 15 цветков.

Изучены микродиагностические признаки сырья монарды и выявлены диагностически значимые признаки, которые проявлялись во всех частях растений, но в большей степени в листьях исследуемых видов монарды, что согласуется с литературными данными (Корчашкина Н.В., 2009), поэтому при описании раздела «Микроскопия» предлагается включить следующие признаки, представленные на рисунке 1.

Таким образом, установлено, что все пять видов монарды имеют близкие морфолого-анатомические характеристики, что позволяет использовать их в качестве производящих растений для получения сырья – «Монарды трава» и включить в проект фармакопейной статьи.

## 3. Сравнительное фитохимическое исследование видов монарды

Для стандартизации сырья монарды изучены и определены нормы показателей качества: влажность не более 10%; зола общая не более 10 %; зола, не растворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты не более 5%;

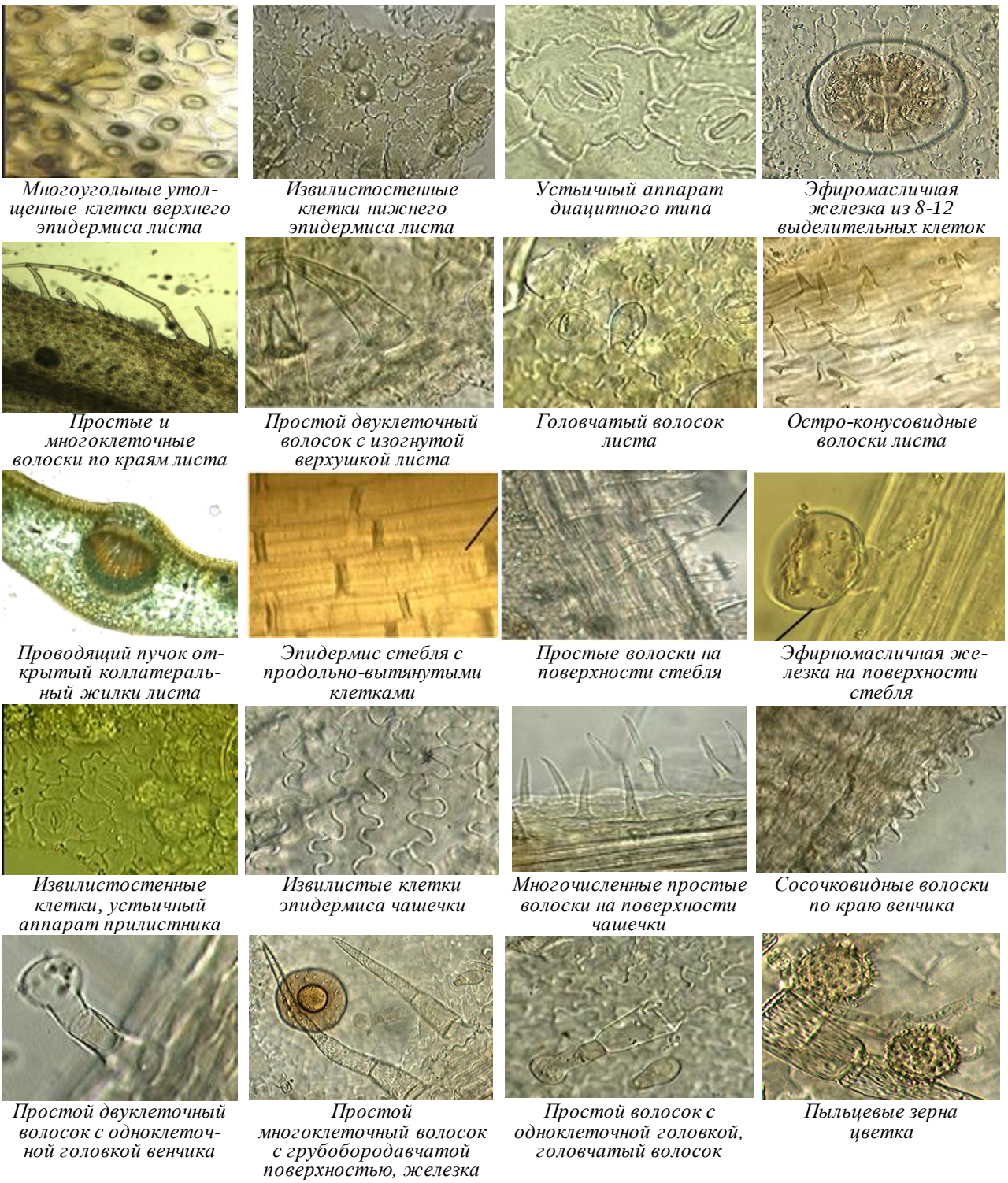



*Рисунок 1. Микроскопические признаки травы монарды.*

частиц, не проходящих сквозь сито с d=7 мм, не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм, не более 5%; кусочки стеблей не более 40%; органические примеси не более 1%; минеральной примеси не более 1%. Определены показатели радиологической и микробиологической чистоты.

В результате проведения качественных и гистохимических реакций в траве монарды были обнаружены следующие группы биологически активных веществ: полисахариды, эфирные масла, флавоноиды, кумарины, дубильные

вещества, сапонины, аминокислоты. Поскольку не все группы биологически активных веществ удалось обнаружить с помощью качественных реакций, были использованы методы хроматографического и спектрального анализа.

Обнаружение фенольных соединений проводили в 70% спиртовом извлечении из сырья монарды, при этом наилучшее разделение наблюдалось в системе растворителей «этилацетат – муравьиная кислота – вода (14:3:3)» и «этилацетат - уксусная кислота - вода (5:1:1)» (рис. 2 - 3).

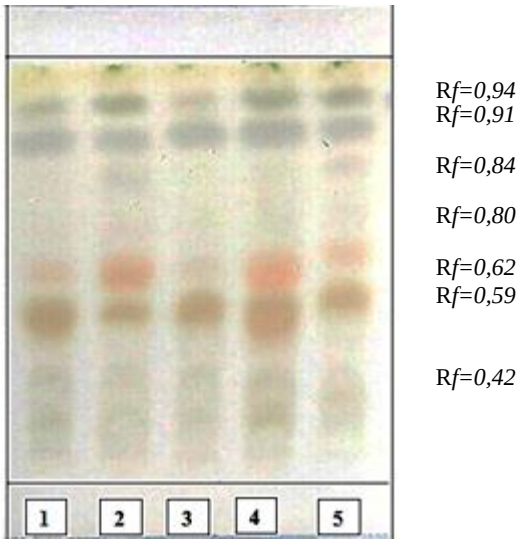



*Рисунок 2. ТСХ, система «этилацетат – муравьиная кислота - вода (14:3:3)» в УФ-свете при λ=254 нм: 1 – M. fistulosa, 2- M. didyma, 3 – M. hybrida, 4 – M. citriodora, 5 – M. Rassela.*

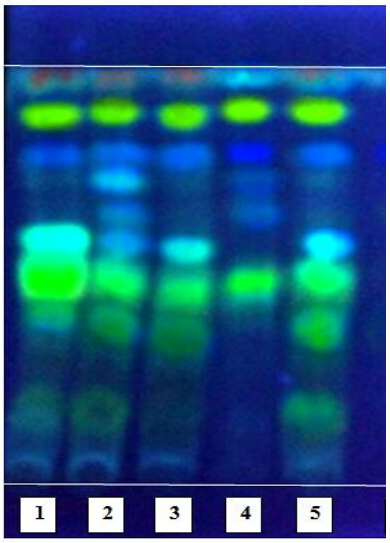
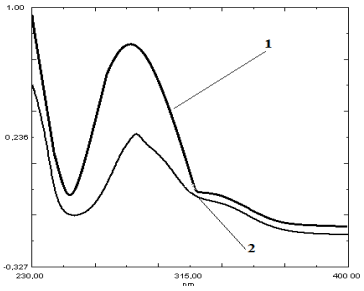



*Рисунок 3. ТСХ, система «этилацетат - уксусная кислота - вода (5:1:1)» в УФ-свете при λ=365 нм: 1 – M. fistulosa, 2- M. didyma, 3 – M. hybrida, 4 – M. citriodora, 5 – M. Rassela.*

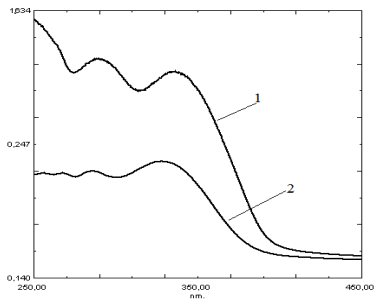
Обнаружение зон адсорбции осуществляли в видимом и УФ-свете до и после обработки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида. В качестве сравнения использовали стандартные образцы свидетелей флавоноидов, фенолкарбоновых и оксикоричных кислот. При исследовании извлечений из пяти видов монарды на хроматограмме в УФ-свете при длине волны 254 нм обнаружено 7 зон адсорбции (R*f=0,94* (катехин), R*f=0,91* (галловая кислота), R*f=0,84* (кофейная кислота), R*f=0,80* (хлорогеновая кислота), R*f=0,62* (гиперозид), R*f=0,58* (нарингенин), R*f=0,42* (рутин), которые имели оранжевую, коричневую и серую окраску; при длине волны 365 нм - 9 зон адсорбции (R*f=0,90* (лютеолин), R*f=0,86* (кофейная кислота), R*f=0,84* (неидентифицировано), R*f=0,81* (хлорогеновая кислота), R*f=0,80* (неидентифицировано), R*f=0,78* (нарингенин), R*f=0,72* (лютеолин-7-гликозид), R*f=0,58* (рутин), R*f=0,22* (неидентифицировано), которые обладали флюоресценцией от желтой, желто-зеленой до голубой, усиливающейся после проявления хромогенными реактивами.

Вещества, соответствующие по значениям R*f* стандартным образцам свидетелей элюировали с хроматографических пластин, проводили их кристаллизацию, перекристаллизацию спиртом этиловым и идентифицировали с использованием метода УФ-спектроскопии. Спектральные характеристики

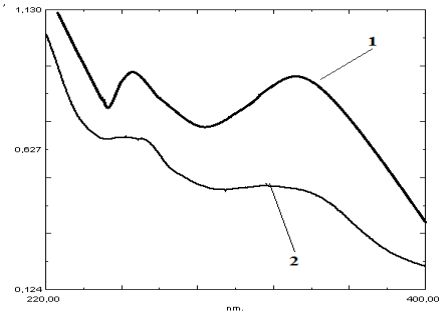
исследуемых веществ сопоставляли со стандартными образцами свидетелей и по совпадению максимумов поглощения судили об их идентичности (рис. 4).



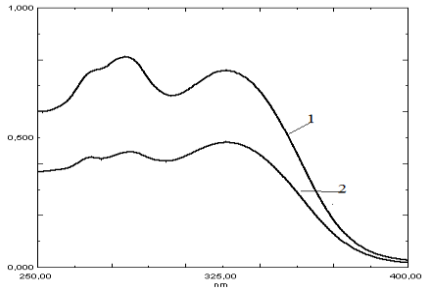

*УФ-спектры СО катехина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 272±2 нм; $\lambda_2$ = 381±2 нм).*



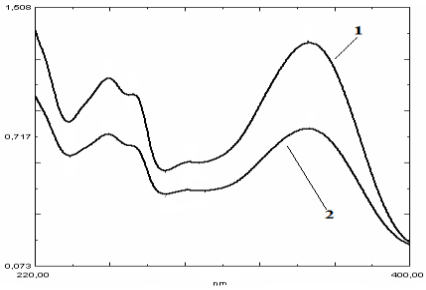

*УФ-спектры СО галловой кислоты (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 276±2 нм; $\lambda_2$ = 222±2 нм).*



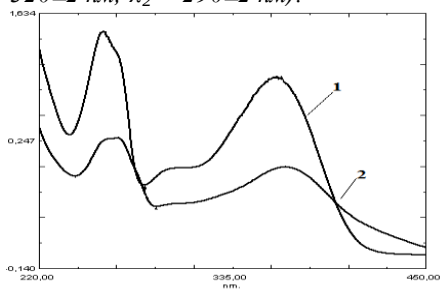

*УФ-спектры СО кофейной кислоты (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 320±2 нм; $\lambda_2$ = 290±2 нм).*



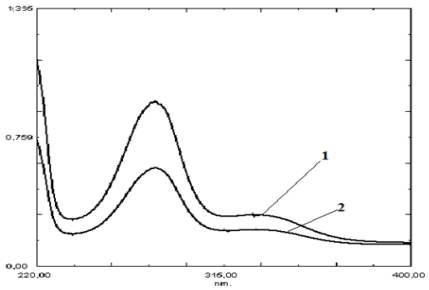

*УФ-спектры СО хлорогеновой кислоты (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 324±2 нм; $\lambda_2$ = 235±2 нм).*



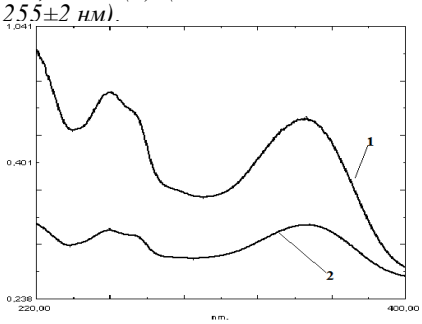

*УФ-спектры СО лютеолина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 350±2 нм; $\lambda_2$ = 255±2 нм).*



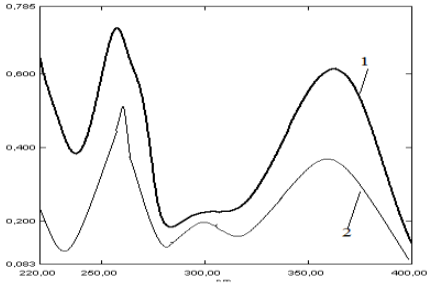

*УФ-спектры СО гиперозида (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 361±2 нм; $\lambda_2$ = 257±2 нм).*




*УФ-спектры СО нарингенина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 283±2 нм; $\lambda_2$ = 226±2 нм).*




*УФ-спектры СО лютеолин-7-гликозида (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 348±2 нм; $\lambda_2$ = 265±2 нм).*




*УФ-спектры СО рутина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1$ = 360±2 нм; $\lambda_2$ = 258±2 нм).*

*Рисунок 4. УФ-спектры, выделенных из травы монарды веществ в сравнении с веществами-свидетелями.*

В результате выявлено наличие в сырье пяти видов монарды следующих соединений: флавоноиды (рутин, нарингенин, лютеолин, лютеолин-7-гликозид, гиперозид, катехин), фенолкарбоновая кислота - галловая и оксикоричные кислоты - кофейная и хлорогеновая. Для подтверждения качественного состава фенольных соединений в видах монарды применяли метод ВЭЖХ. Проведенная сравнительная характеристика подтвердила наличие веществ, обнаруженных хроматографическими и спектральными методами исследованиями.

Для обнаружения кумаринов и сапонинов использовали хлороформные извлечения в сравнении с веществами-свидетелями. Наилучшее разделение кумаринов наблюдалось в системе растворителей «этилацетат – бензол» (1:2) и после обработки хромогенными реактивами во всех видах монарды обнаружена зона кумарина (R*f* =0,80) кирпично-красной окраски. Наилучшее разделение

сапонинов наблюдали в системе: «петролейный эфир - хлороформ - кислота уксусная (10:4:0,4)», после проявления в видах монарды обнаружены пятна розово-вишневого цвета, переходящего в голубой со значением R*f*=0,24, которое совпадало с урсоловой кислотой. Каротиноиды исследовали в гексановом извлечении в системе «гексан – диэтиловый эфир» (80:20), при этом на хроматограмме после обработки хромогенными реактивами наблюдали пятна синего цвета на желто-зеленом фоне с *Rf*~0,60; 0,82 предположительно отнесенные к каротиноидам. Для обнаружения аскорбиновой кислоты и органических кислот использовали водные извлечения. Для исследования присутствия аскорбиновой кислоты использовали систему «этилацетат - кислота уксусная» (80:20)), и наблюдали после проявления хроматограммы появление белого пятна на розовом фоне (R*f*=0,81), а для органических кислот – систему «этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода» (100:11:11: 25), которые после обработки хромогенным реактивом обнаруживали в виде желтых пятен на синем фоне: *Rf* – 0,39; 0,62; 0,80, совпадающие с веществами свидетелями лимонной, аскорбиновой и яблочной кислот.

Следующим этапом исследования было определение количественного содержания основных групп биологически активных веществ, обнаруженных в траве различных видов монарды, с использованием известных и модифицированных методик, изучением спектральных характеристик в определенном интервале длин волн для выявления оптимальной длины волны, при которой необходимо проводить количественное определение (табл. 1).

Таблица 1 – Показатели содержания БАВ в траве монарды, (n=5)

| Группы БАВ, метод количественного определения | *Содержание БАВ, %* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | *M. fistulosa* | *M. didyma* | *M. hybrida* | *M. citriodora* | *M. Rassela* |
| Аскорбиновая кислота (титриметрия) | **0,125± 0,004** | 0,098± 0,004 | 0,084± 0,003 | 0,092± 0,003 | 0,111± 0,004 |
| Органические кислоты (титриметрия) | 2,812± 0,081 | **3,616± 0,109** | 2,165± 0,058 | 2,233± 0,061 | 3,121± 0,088 |
| Каротиноиды (спектрофотометрия, λ=450 нм) | 0,036± 0,001 | **0,039± 0,001** | 0,038± 0,001 | 0,036± 0,001 | 0,036± 0,001 |
| Полисахариды (спектрофотометрия, λ=460 нм) | 0,861± 0,027 | **0,932 ±0,023** | 0,662± 0,019 | 0,511± 0,015 | 0,694± 0,022 |
| Кумарины (спектрофотометрия, λ=310 нм) | **0,355± 0,008** | 0,251± 0,005 | 0,224± 0,007 | 0,118± 0,005 | 0,327± 0,008 |
| Оксикоричные кислоты (спектрофотометрия, λ=325 нм) | **4,791± 0,103** | 4,621± 0,123 | 3,740 ± 0,119 | 4,062 ± 0,023 | 3,881± 0,112 |
| Сапонины (спектрофотометрия, λ=310 нм) | **0,022± 0,001** | 0,010± 0,001 | 0,017± 0,001 | 0,012± 0,001 | 0,018± 0,001 |
| Дубильные вещества: титриметрия<br>спектрофотометрия(λ=545нм) | 7,83± 0,26<br>4,63± 0,23 | **9,44± 0,46**<br>**5,55± 0,21** | 9,05± 0,32<br>4,82± 0,28 | 5,42± 0,36<br>3,13± 0,19 | 8,23± 0,19<br>4,20± 0,26 |
| Аминокислоты (суммарное содержание) | 7,95± 0,32 | **8,42± 0,39** | 7,57± 0,28 | 7,44± 0,25 | 7,11± 0,22 |

Проведена сравнительная характеристика содержания макро- и микроэлементов. Установлено, что среди макроэлементов калий в большем количестве накапливается в траве *M. citriodora* 1,22%, натрий в *M. fistulosa* и *M. didyma* 0,27%, кальций – в *M. fistulosa* 1,47%, фосфор в *M. fistulosa*, *M. didyma*, *M. hybrida* – 0,22%. Среди микроэлементов: цинк в большем количестве накапливается в *M. fistulosa* -73,34 мг%, железо – в *M. fistulosa* – 97,47 мг%, медь – в *M. didyma* 7,95 мг%, марганец в *M. Rassela* – 383,14 мг%, по содержанию йода на первом месте стоит *M. fistulosa* и *M. didyma* - 0,20 мг%.

Согласно литературным данным, монарда является эфиромасличным растением, поэтому необходимо было выбрать метод количественного определения, обеспечивающий максимальный выход эфирного масла. В результате исследований и расчета критерия Фишера установлено, что более статистически значимым является метод 1 (ГФ XIV). Были разработаны оптимальные условия получения эфирного масла из сырья монарды и установлено, что наибольший его выход наблюдается из *M. citriodora* Cerv. Ex Lag. и *M.didyma* L., а наименьший - из *M. Rassela* Nut. (табл. 2).

Таблица 2 - Метрологические характеристики определения эфирных масел

| № | Исследуемый объект | n | f | $\bar{x}$ | $S^2$ | Sx | P,% | T (P,*f*) | $E_\alpha$ | $E_{ср}$, % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *M. fistulosa* | 5 | 4 | 1,23 | 0,00014 | 0,011 | 95 | 2,78 | 0,027 | 2,26 |
| 2 | *M.didyma* | 5 | 4 | 1,72 | 0,00012 | 0,010 | 95 | 2,78 | 0,028 | 2,64 |
| 3 | *M.hybrida* | 5 | 4 | 0,95 | 0,00008 | 0,009 | 95 | 2,78 | 0,025 | 2,72 |
| 4 | *M.citriodora* | 5 | 4 | 2,28 | 0,00061 | 0,025 | 95 | 2,78 | 0,068 | 3,02 |
| 5 | *M.Rassela* | 5 | 4 | 0,63 | 0,00004 | 0,006 | 95 | 2,78 | 0,018 | 2,87 |

Органолептические свойства эфирных масел, полученных от различных видов монарды, характеризовались следующими характеристиками: маслянистые прозрачные жидкости от желтоватого до красновато-желтого цвета, с приятным ароматным лимонно-карвакрольным или мятно-тимольным запахом, с показателем преломления от 1,4983 до 1,5033.

Проведена сравнительная оценка содержания эфирного масла как в видах монарды, выращенных в условиях Республики Башкортостан, так и в монарде, выращенной в более благоприятных для эфиромасличных растений климатических условиях. В качестве объекта исследования служило сырье *M. citriodora*, заготовленной в Краснодарском крае, выход эфирного масла которой составил 2,11±0,13%. При этом следует отметить, что интродуцированные виды монарды по количественному содержанию эфирного масла не уступали монарде из Краснодарского края и даже в образце *M. citriodora* выход был больше и составил 2,28±0,07%. Данный факт можно объяснить тем, что родиной монарды является Северная Америка, где климат ближе к нашему умеренному континентальному.

Для полученных образцов эфирного масла из травы различных видов монарды был изучен компонентный состав методом газовой хроматографии с масс-детектором. Результаты представлены на рисунке 5 и в таблице 3.

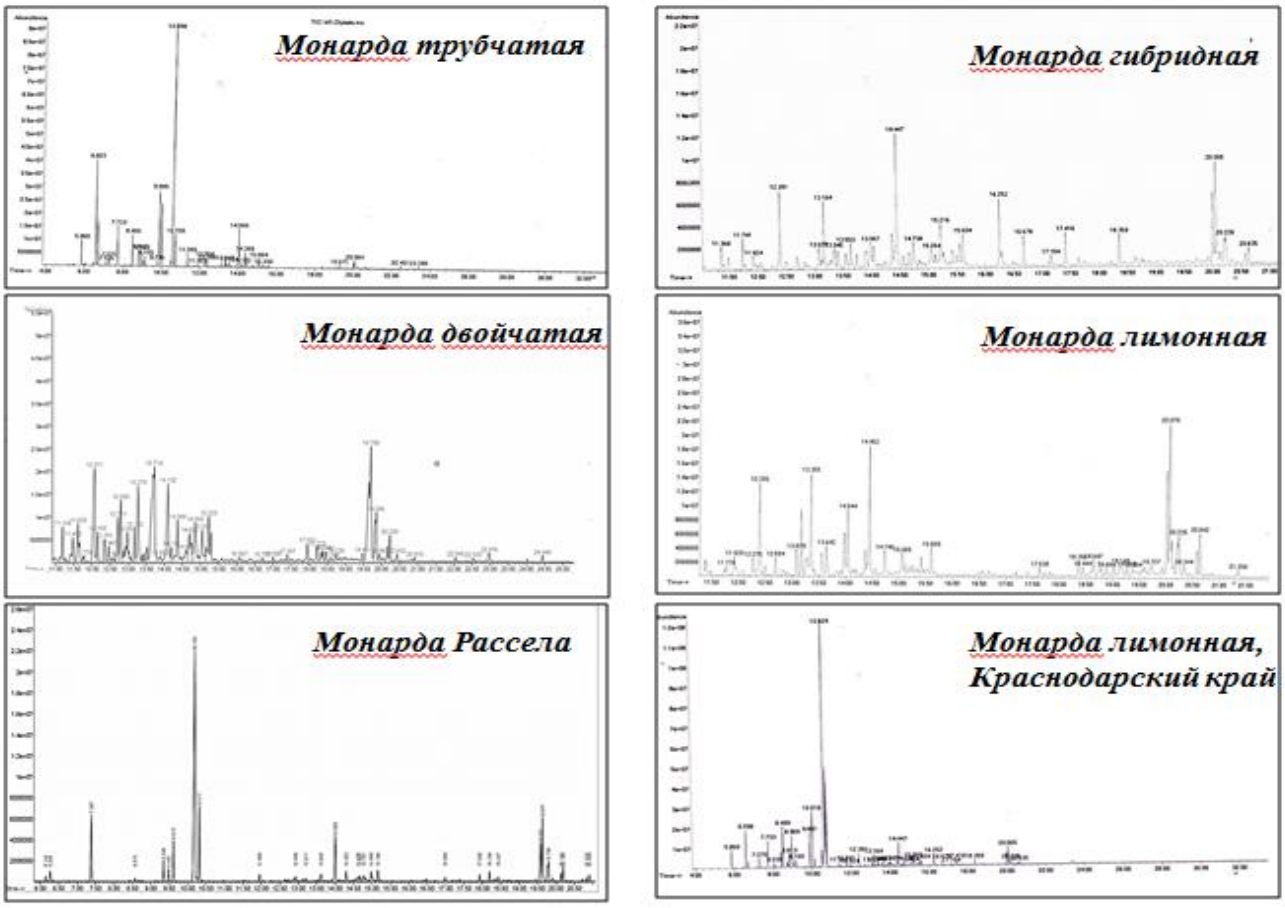



*Рисунок 5. Хроматограммы эфирного масла исследуемых видов монарды.*

Таблица 3 – Компонентный состав эфирных масел видов монарды, %

| Компоненты эфирного масла | Содержание в смеси, % | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Monarda fistulosa* | *Monarda didyma* | *Monarda hybrida* | *Monarda Rassela* | *Monarda citriodora* | *Monarda citriodora* (Красн.край) |
| Винилгвая-кол | - | **36,43±0,81** | - | - | - | - |
| Гераниол | **1,85±0,11** | 1,22±0,04 | 1,74±0,42 | 1,10±0,17 | 1,44±0,20 | 1,12±0,13 |
| Карвакрол | 3,03±0,12 | 2,00±0,05 | - | **19,76±0,5** | 3,4±0,12 | 2,28±0,12 |
| Камфора | 2,98±0,11 | - | **4,18±0,12** | - | 2,13±0,08 | 1,21±0,04 |
| Линалоол | 3,83±0,15 | 2,64±0,08 | 3,83±0,14 | **17,31±0,52** | 3,02±0,11 | 13,72±0,50 |
| Лимонен | **0,44±0,10** | 0,40±0,21 | 0,38±0,22 | 0,22±0,08 | 0,27±0,14 | 0,27±0,15 |
| Метиловый эфир карвакрола | 13,02±0,41 | 15,59±0,30 | 2,25±0,08 | 3,26±0,22 | 14,96±0,62 | **17,25±0,51** |
| Мирцен | 0,28±011 | **0,33±0,11** | 0,17±0,05 | - | 0,12±0,03 | 0,17±0,03 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Оксид кари-офиллена | - | 2,42±0,06 | **2,79±0,10** | 1,17±0,07 | 1,10±0,04 | 1,54±0,04 |
| Терпинен | 0,38±0,04 | 0,36±0,03 | - | 0,34±0,04 | 0,12±0,02 | 0,22±0,04 |
| Тимол | 37,36±1,21 | 6,50±0,25 | **54,42±1,90** | 25,01±0,93 | 28,65±1,10 | 31,87±1,32 |
| Фарнезол | **4,76±0,13** | 2,13±0,06 | - | - | 1,54±0,04 | 0,86±0,08 |
| 1,8-цинеол | **2,33**±0,05 | 1,90±0,27 | 0,54±0,07 | 1,33±0,08 | 1,98±0,06 | 1,67±0,16 |
| Цимол | 12,89±0,42 | 7,9±0,19 | 2,6±0,07 | 4,11±0,15 | 10,21±0,40 | **15,71±0,43** |

Анализируя компонентный состав эфирных масел видов монарды установлено присутствие в эфирном масле *M.fistulosa* L. 28 компонентов, *M.didyma* L. – 42 компонентов, *M.hybrida* L. – 32 компонентов, *M.citriodora* Cerv. Ex Lag. – 23 компонентов, *M.Rassela* Nut. - 24 компонентов и в *M.citriodora* Cerv. Ex Lag., заготовленной в Краснодарском крае, - 24 компонентов монотерпеновой, сесквитерпеновой и ароматической природы. Основными, преобладающими в количественном отношении, компонентами эфирного масла травы монарды являются тимол, карвакрол, метиловый эфир карвакрола, цимол, в монарде двойчатой впервые обнаружен винилгваякол.

Для выявления верхних и нижних границ содержания эфирного масла в траве монарды, было проведено исследование на 5 сериях, которое показало, что выход эфирного масла варьирует от 0,50% до 2,31%, поэтому предлагается норма содержания эфирного масла - не менее 0,50 %.

При разработке методики количественного определения флавоноидов в траве монарды был выбран метод дифференциальной спектрофотомерии. На начальном этапе были изучены спектральные характеристики спиртовых извлечений из различных видов монарды и стандартных образцов свидетелей флавоноидов. Для того, чтобы исключить влияние сопутствующих веществ, к растворам извлечений и веществ-свидетелей добавляли комплексообразователь - 1% спиртовый раствор алюминия хлорида и наблюдали батохромный сдвиг. В результате было установлено, что максимум поглощения извлечений из травы монарды имеет более близкие значения к максимуму поглощения лютеолина ($\lambda_{max}$ комплекса $AlCl_3$/HCl 398 нм). Применение метода хроматоденситометрии подтвердило наличие лютеолина во всех видах монарды по хроматографическим пикам, их площади, высоте, значениям *Rf (~0,89-0,90)*, поэтому данный флавоноид был выбран в качестве доминирующего в сумме, на который вести пересчет и аналитическая длина волны, при которой необходимо проводить количественное определение предлагается 398±2 нм (рис. 6 - 7).

Разработаны оптимальные условия методики количественного определения флавоноидов из травы различных видов монарды: экстрагент – спирт этиловый 40%; соотношение сырья и экстрагента 1:30; измельченость сырья - 1 мм; экстракция двухкратная на кипящей водяной бане по 30 минут; комплексообразователь - 1% спиртовый раствор $AlCl_3$ в количестве 1 мл,

реакция комплексообразования развивается в течение 45 минут и комплексы остаются стабильны в течение 1 часа. Результаты представлены в таблице 4.

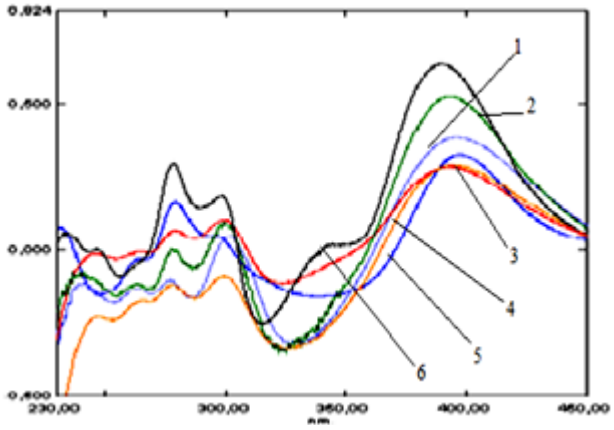



*Рисунок 6. Дифференциальные спектры извлечений видов монарды и СО лютеолина ($\lambda_{max}$ комплекса $AlCl_3/HCl$ 398-400 нм): 1 – M. fistulosa, 2- M. didyma, 3 – M. hybrida, 4 – M. citriodora, 5 – M. Rassela, 6- лютеолин*

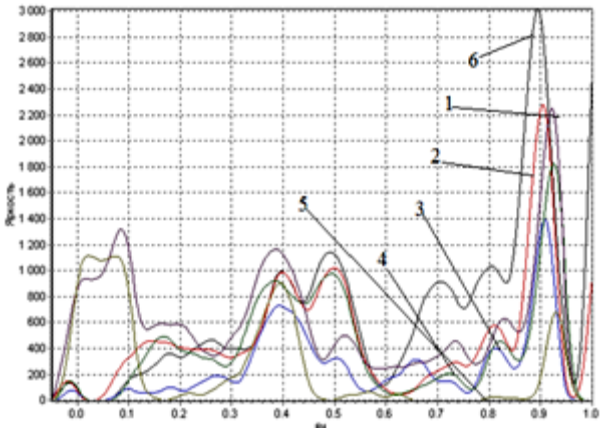



*Рисунок 7. Денситограмма извлечений из видов монарды: 1 – M. fistulosa, 2- M. didyma, 3 – M. hybrida, 4 – M. citriodora, 5 – M. Rassela, 6- лютеолин.*

Таблица 4 - Метрологическая характеристика методики количественного определения флавоноидов

| № | Исследуемый объект | f | $\bar{x}$ | $S^2$ | Sx | P,% | t(P,*f*) | $E_\alpha$ | $\varepsilon$,% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *M. fistulosa* | 5 | 1,573 | 0,000038 | 0,0062 | 95 | 2,57 | 0,016 | 1,03 |
| 2 | *M.didyma* | 5 | 1,631 | 0,000065 | 0,0080 | 95 | 2,57 | 0,021 | 2,26 |
| 3 | *M.hybrida* | 5 | 1,524 | 0,000132 | 0,0114 | 95 | 2,57 | 0,029 | 1,93 |
| 4 | *M.citriodora* | 5 | 1,619 | 0,000089 | 0,0094 | 95 | 2,57 | 0,024 | 1,50 |
| 5 | *M.Rassela* | 5 | 0,905 | 0,000119 | 0,0109 | 95 | 2,57 | 0,028 | 3,09 |

Установлено, что наибольшее содержание флавоноидов наблюдалось в сырье *Monarda didyma* L. и *M.citriodora* Cerv. Ex Lag. Отсутствие систематической ошибки методики подтверждено «опытами с добавками» стандартного образца к навеске сырья монарды. Проведена валидация методики количественного определения флавоноидов в траве монарды по критериям: правильность, прецизионность, линейность и специфичность.

На основании полученных результатов, было установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин во всех видах монарды варьирует от 0,90% до 1,63%. Учитывая эти показатели, предлагается установить норму содержания флавоноидов в пересчете на лютеолин в траве монарды - не менее 0,90 %.

Для выбора оптимального периода заготовки сырья монарды проводили сравнительную характеристику динамики накопления эфирных масел и флавоноидов в разные фазы вегетации в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан. Установлено, что наибольшее содержание вышеуказанных групп БАВ наблюдается в фазу цветения. Для определения срока годности сырья монарды проводили определение показателей качества в период с 2012-2017 г.г., на основании чего предлагается срок годности сырья

«Монарды трава» 3 года. На основе выполненных морфолого-анатомических, фитохимических и товароведческих исследований разработан проект фармакопейной статьи «Монарды трава».

Таким образом, по результатам сравнительного изучения химического состава видов монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, установлено, что все пять видов имеют схожий химический состав и незначительно отличаются лишь по количественному содержанию отдельных групп биологически активных веществ.

**4. Изучение фармакологической активности настоя травы монарды**

Определена острая токсичность травы монарды и установлено, что она относится к классу малотоксичных соединений, что позволяет судить о ее безопасности и возможности дальнейшего использования.

Изучена антиоксидантная активность водных и спиртовых извлечений из различных видов монарды, в системах, моделирующих процессы выработки активных форм кислорода и перекисного окисления липидов и установлено, что водные извлечения по сравнению со спиртовыми обладают наибольшей антиоксидантной активность при концентрации 1,0 мг/мл. При этом, наиболее выраженную активность проявляла *Monarda fistulosa* L., а наименьшую – *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag..

Поведена сравнительная оценка противовоспалительной активности различных видов монарды и установлено, что более выраженную активность проявляют водные настои *Monarda hybrida* L. и *Monarda fistulosa* L., достоверно уменьшая отек лапки по сравнению с контрольной группой на 26% и 16,2% соответственно.

Изучена антимикробная активность различных видов монарды и установлено, что как водные, так и спиртовые излечения обладают выраженной антимикробной активностью в отношении *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans.* При этом более активно влияют на задержку роста микроорганизмов спиртовые извлечения из травы монарды по сравнению с водными.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований достигнута цель работы и решены все поставленные задачи по комплексному фармакогностическому изучению растений рода *Monarda* L., интродуцируемых в Республике Башкортостан.

### Итоги выполнения исследования

1. Проведено сравнительное морфолого-анатомическое изучение пяти представителей рода *Monarda* L., интродуцированных в условиях Республики Башкортостан, выявлены диагностически значимые макро- и микроскопические признаки, необходимые для определения подлинности сырья и установлено, что *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda hybrida* L., *Monarda*

*citriodora* Cerv. Ex Lag., *Monarda Rassela* Nut. имеют близкие морфолого-анатомические характеристики.

2. Изучен качественный состав биологически активных веществ травы различных видов монарды и проведена их сравнительная характеристика. С использованием современных физико-химических методов анализа идентифицированы 6 флавоноидов (рутин, лютеолин-7-гликозид, нарингенин, гиперозид, лютеолин, катехин); фенолкарбоновая кислота (галловая); оксикоричные кислоты (хлорогеновая, кофейная) и кумарин. Впервые в траве обнаружены флавоноид нарингенин и хлорогеновая кислота. Изучен компонентный состав эфирных масел различных видов монарды и выявлено наличие в них более 20 компонентов, среди которых преобладают в количественном отношении тимол, винилгваякол, карвакрол, метиловый эфир карвакрола, линалоол, цимол. Наличие винилгваякола в эфирном масле травы *Monarda didyma* L. выявлено впервые. Изучен макро-, микроэлементный и аминокислотный состав травы различных видов монарды. Установлено, что химический состав исследуемых видов монарды является однотипным.

3. Проведено количественное определение основных групп биологически активных веществ и установлено, что во всех пяти видах их содержание отличается незначительно, но несколько больше наблюдается в траве *Monarda fistulosa* L. (аскорбиновая кислота (0,125±0,004%), кумарины (0,355±0,008%), оксикоричные кислоты в пересчете на кофейную кислоту (4,791±0,103%), сапонины (0,022±0,001%) и траве *Monarda didyma* L. (органические кислоты (3,616±0,109%), каротиноиды (0,039±0,001%), полисахариды (0,932±0,023%), дубильные вещества в пересчете танин (9,44±0,46%) и катехин (5,55±0,21%), аминокислоты (суммарное содержание 8,42±0,39%). Эфирные масла и флавоноиды в пересчете на лютеолин, которые включены в проект фармакопейной статьи преобладают в *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag. (2,28±0,07% и 1,62±0,02%) и *Monarda didyma* L. (1,72±0,03% и 1,63±0,02%).

4. Изучена динамика накопления эфирного масла и флавоноидов в разные фазы вегетации в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, и установлено, что в большем количестве они накапливаются в растениях в фазу цветения, которая является оптимальной для заготовки сырья.

5. Определены критерии подлинности и показатели качества сырья монарды, необходимые для стандартизации: влажность не более 10%; эфирного масла не менее 0,5%; содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин не менее 0,9%, зола общая не более 10 %; зола, не растворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной не более 5%; частиц, не проходящих сквозь сито с d=7 мм, не более 10%; частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм, не более 5%; кусочки стеблей не более 40%; органические примеси не более 1%, минеральной примеси не более 1%.

6. Разработаны методики количественного определения эфирного масла в траве монарды методом перегонки с водяным паром и суммы флавоноидов в

пересчете на лютеолин методом дифференциальной спектрофотометрии. Установлены нормы их содержания: «содержание эфирного масла» - не менее 0,5%; «содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин» - не менее 0,9 %. Проведена валидационная оценка методики количественного определения флавоноидов по критериям правильность, прецизионность, линейность и специфичность.

7. Проведена сравнительная оценка фармакологической активности водных и спиртовых извлечений из травы различных видов монарды и установлено, что более выраженной антиоксидантной и противовоспалительной активностью обладают водные извлечения из травы монарды, а при определении антимикробной активности более активно влияют на задержку роста микроорганизмов спиртовые извлечения по сравнению с водными, при этом из видов монарды более активной по действию является *M. fistulosa* L.

8. На основе морфолого-анатомических, фитохимических, товароведческих и фармакологических исследований разработан проект фармакопейной статьи «Монарды трава».

9. По результатам сравнительного изучения пяти видов монарды (*M. fistulosa* L., *M.didyma* L., *M.hybrida* L., *M.citriodora* Cerv. Ex Lag., *M.Rassela* Nut.), интродуцируемых в Республике Башкортостан, установлено, что все исследуемые виды имеют близкие морфолого-анатомические характеристики, являются источниками ценных биологически активных веществ, характеризующихся схожим химическим составом, отличающимся лишь незначительно по количественному содержанию отдельных групп БАВ, и могут быть рекомендованы для заготовки сырья «Монарды трава». Установленные виды фармакологической активности подтверждают целесообразность дальнейшего изучения представителей рода *Monarda* L. и использования их в медицине в лечебно-профилактических целях.

**Рекомендации**

Результаты диссертационного исследования по изучению растений рода *Monard*a L. способствуют решению вопросов воспроизводства и охраны природных растительных ресурсов, являющихся аналогами импортного растительного сырья ценного для практического использования, и позволяют усовершенствовать подходы к стандартизации травы монарды в соответствии с современными требованиями фармацевтического анализа, что может использоваться в учебном процессе по дисциплинам «Фармакогнозия», «Фармацевтическая химия».

**Перспективы дальнейшей разработки темы** заключаются в более подробном изучении химического состава и фармакологической активности различных видов монарды с целью обоснования и расширения возможности ее использования в практической медицине и создания новых лекарственных препаратов.

**Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Красюк, Е.В. Монарда-как потенциальный источник ценных биологически активных веществ / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко // **Медицинский вестник Башкортостана**. - 2012. - Т. 7. - № S5. - С. 72-74.

2. Красюк, Е.В. Изучение монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств**. - 2013. - № 2. - С. 41-43.

3. Красюк, Е.В. Динамика накопления эфирного масла в видах монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан, в зависимости от фазы вегетации растений / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Традиционная медицина**. - 2015. - № 2 (41). - С. 39-40.

4. Красюк, Е.В. Изучение параметров выделения эфирного масла из видов монарды, интродуцированной в Башкортостане / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств**. - 2015. - № 5(10). - С. 19-23.

5. Красюк, Е.В. Характеристика фенольных соединений видов монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко // **Башкирский химический журнал**. - 2015. - Т. 22. - № 3. - С. 79-83.

6. Пупыкина, К.А. Изучение некоторых эфирномасличных растений, интродуцированных в условиях Республики Башкортостан / К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко, Е.В. Красюк, А.В. Шумадалова // **Традиционная медицина**. - 2015. - № 5. - С. 114-116.

7. Оценка активности лекарственных растений флоры Башкортостана / К.А. Пупыкина, Л.А. Валеева, Н.Н. Макарова, Г.Г. Давлятова, Е.В. Красюк [и др.] //**Традиционная медицина**. - 2015. № 3 (42). - С. 41-43.

8. Красюк, Е.В Качественный анализ и разработка методики количественного определения флавоноидов в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Медицинский вестник Башкортостана**.- 2016. - Т.11. - № 5(65). - С.73-77.

9. Анищенко, И.Е. Компонентный состав эфирных масел некоторых представителей рода MONARDA L. итродуцированных в республике Башкортостан / И.Е. Анищенко, К.А. Пупыкина, Е.В. Красюк, О.Ю. Жигунов// **Известия Уфимского научного центра РАН**. 2017, №3. С.71-76.

10. Красюк, Е.В. Исследование антимикробной активности растений рода Монарда, интродуцируемых в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, А.Д. Красюк // Вестник Башкирского государственного университета. – 2019. - №6. – С. 120-123.

11. Красюк, Е.В. Изучение и выбор оптимальных условий получения эфирного масла из различных видов монарды / Е.В. Красюк, К.А Пупыкина, И.Е.Анищенко // «Вопросы теоретической и практической медицины»: Матер. 77-й Российской научной конференции студентов и молодых ученых. - Т.1. - Уфа: Изд-во ГОУ ВПО БГМУ, 2012. - С. 311 – 312.

12. Красюк, Е.В. Изучение элементного состава различных видов монарды, культивируемой в Республике Башкортостан/ Е.В. Красюк, К.А Пупыкина, И.Е.Анищенко // «Актуальные вопросы медицинской науки»: Матер. Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием - Ярославль, 2012. –С. 331-332.

13. Красюк, Е.В Изучение аминокислотного состава монарды, культивируемой в Республике Башкортостан /Е. В. Красюк, К.А Пупыкина, И.Е. Анищенко // «Актуальные вопросы современной медицины»: Всероссийская Байкальская научно-практическая конфер. молодых ученых и студентов с международным участием - Иркутск, 2012. – С. 224.

14. Красюк, Е.В Сравнительный анализ макроскопических признаков растений рода Монарда, культивируемых в Республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А Пупыкина // «Вестник БГМУ»: Матер. Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Сетевое издание, №2 (приложение). -2012. – С. 56 – 60.

15. Красюк, Е.В Изучение антиоксидантной активности растений рода Монарда, культивируемых в Республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А Пупыкина // Вестник БГМУ: Матер. 78-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием. - Сетевое издание, №1 (прилож.) – Уфа, 2013. - С.1659-1662.

16. Красюк, Е.В. Изучение химического состава монарды, культивируемой в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // Лекарственные растения: фундаментальные и

прикладные проблемы материалы I Международной научной конференции, 21 мая 2013 г.- Новосибирск, 2013. - С. 183-184.
17. Красюк, Е.В. Определение содержания экстрактивных веществ в различных видах монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // Научно-практический журнал «Молодежный инновационный вестник»: Матер. IX Всероссийской Бурденковской студенческой научной конференции //. – Том II, №1. - Воронеж, 2013. – С. 193.
18. Особенности накопления биологически активных веществ в некоторых лекарственных растениях из флоры Башкортостана / А.Р. Казеева, Е.В. Красюк, А.В. Шумадалова, С.Р. Шамсутдинова [и др.] // «Вестник Башкирского государственного медицинского университета»: Сборник материалов 79-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Сетевое издание, №3 (приложение). – Уфа, 2014. – С. 1746 – 1749.
19. Изучение некоторых дикорастущих и культивируемых растений из флоры Башкортостана/ К.А. Пупыкина, Г.Г. Шайдуллина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк [и др.] // Гаммермановские чтения - 2014»: Сборник научных трудов научно-методической конференции - Санкт-Петербург, 2014. – С. 92 – 95.
20. Пупыкина, К.А. Исследование некоторых представителей семейства губоцветных из флоры Башкортостана на содержание эфирных масел / К.А. Пупыкина, Анищенко И.Е., Е.В. Красюк, А.В. Шумадалова // «Лекарственные растения: биоразнообразие, технологии, применение: Сборник научных статей I Международной научно-практической конференции – Гродно: ГГАУ, 2014. - С. 172-174.
21. Красюк, Е.В. Определение содержания аскорбиновой кислоты в видах монарды, культивируемых в Республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А Пупыкина // «Современные аспекты медицины и фармации - 2014»: Матер. 74-й Всеукраинской научно-практической конференции с международным участием - Запорожье, 2014. - С. 178-179.
22. Красюк, Е.В. Исследование эфирного масла видов монарды, культивируемых в Башкортостане /Е. В. Красюк, К.А Пупыкина, И.Е. Анищенко // «Сеченовский вестник» // «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине»: Матер. II-й научно-практической конференции. - №1(15). – Москва, 2014. – С. 128-129.
23. Результаты фитохимического изучения некоторых дикорастущих и интродуцированных в условиях Республики Башкортостан растений / К.А. Пупыкина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк [и др]. // «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям»: Матер. III международной научно-практической интернет конференции – Полтава, 2014. – С. 139-140.
24. Исследование противовоспалительной активности некоторых растений дикорастущих и интродуцированных в Башкортостане / К.А. Пупыкина, Л.А. Валеева, Н.Н. Макарова, Е.В. Красюк [и др.] // «Вестник ЮКГФА»: Сборник трудов Международной научно-практической конференции "Фармацевтическое образование, наука и производство - ориентир на стратегию "Казахстан-2020" - 2014. - №3 (68), Том IV. – С. 99-102.
25. Пупыкина, К.А. К вопросу изучения химического состава некоторых лекарственных растений из флоры Башкортостана // К.А. Пупыкина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк, С.Р. Шамсутдинова //«Вестник ЮКГФА»: Сборник трудов Международной научно-практической конференции "Фармацевтическое образование, наука и производство - ориентир на стратегию "Казахстан-2020" - Республика Казахстан, 2014. - №3 (68), Том IV. – С. 102-105.
26. Пупыкина, К.А. Анализ лекарственных растений из флоры Башкортостана на содержание биологически активных веществ / К.А. Пупыкина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк, С.Р. Шамсутдинова // Вестник БГМУ (сетевое издание) – №6, 2014. - С.66-69.
27. Красюк, Е.В. Определение полисахаридов в различных видах монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А Пупыкина // «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015»: Сборник тезисов докладов 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Минск, 2015. - С.1648.

28. Красюк, Е.В. Количественное определение эфирного масла в различных видах монарды, интродуцированной в республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А Пупыкина // «Наука и медицина: современный взгляд молодежи»: Сборник тезисов II Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященная 85-летию КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова.-Алма-Ата, 2015. – С.134.
29. Красюк, Е.В. Сезонная динамика накопления эфирных масел в видах монарды, интродуцированных в республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А Пупыкина // «Евразийский союз ученых»: XII международная научно-практическая конференция «Современные концепции научных исследований» - Москва. - №3 (12) /2015. – Часть 7. – С. 154-155 - 2015. - № 3-7 (12). - С. 154-155.
30. Красюк, Е.В. Определение полисахаридов в различных видах монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А Пупыкина // «Актуальные вопросы современной медицины»: Матер. 82-й Байкальской научно-практической конференции с международным участием. - Иркутск, 2015. - С.386-387.
31. Кузнецова, О.С. Анатомо-диагностические признаки растений рода *Monarda* L., интродуцированных в Республике Башкортостан / О.С. Кузнецова, Е.В. Красюк, К.А Пупыкина // «Вестник БГМУ» (сетевое издание): Матер. 80-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – №2 (прилож.), 2015. - С.1757-1761.
32. Красюк, Е.В. Отличия морфологических признаков видов монарды, иннтродуцированных в республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А Пупыкина, И.Е. Анищенко // Молодые учёные и фармация XXI века: Сборник научных трудов третьей научно-практической конференции с международным участием.- ВИЛАР, 2015.-С. 291-293.
33. Изучение микробиологической активности водных извлечений из растительного сырья / С.Г. Яковлев, Е.В. Красюк, А.Р. Казеева, А.Р. Мавзютов [и др.] // «Вестник БГМУ» (сетевое издание): Матер. 81-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – №4 (прилож.), 2016. - С.551-554.
34. Определение содержания кумаринов в некоторых дикорастущих и интродуцированных лекарственных растениях флоры Башкортостана / Е.В. Красюк, С.Р. Шамсутдинова, В.В. Пупыкина, А.Р. Казеева [и др.] // «Фармацевтическое образование, наука и практика: горизонты развития»: Матер. Всероссийской научно-практической конференции с международным участием». – Курск, 2016. – С.483-485.
35. Красюк, Е.В. Сравнительная оценка определения дубильных веществ в траве монарды различными методами / Е.В. Красюк, В.А.Селезнева, К.А Пупыкина // «Вестник БГМУ» (сетевое издание): Матер. 82-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – №2 (прилож.), 2017. – С.661-664.
36. Красюк, Е.В. Определение полифенольных соединений в различных видах монарды / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина //Сборник материалов Всероссийской 76-й студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2017. – С. 246.
37. Красюк, Е.В. Определение сапонинов в различных видах монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А Пупыкина // «Роль молодежи в развитии медицинской науки»: Матер. XII научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием ТадГМУ им. Абуали ибни Сино. – Душанбе, 2017. – С. 305.
38. Красюк, Е.В. Сравнительное изучение сапонинов в различных видах монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, А.Д. Красюк //«Вестник ЮКМА»: Международная научно-практическая конференция «Современные аспекты медицины и фармации: образование, наука и практика», №3 (87), 2019. Том II.- С.3-5.

**Патенты:**

Патент РФ на изобретение № 2019125919/04(050832) от 15.08.2019г. «Стоматологические леденцы для лечения поражений слизистой оболочки полости рта» // Красюк Е.В., Пупыкина К.А., Аверьянов С.В., Салангина Е.В.