

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КРАСЮК ЕКАТЕРИНА ВАСИЛЬЕВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ
МОНАРДЫ, ИНТРОДУЦИРУЕМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ
РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук,
профессор Пупыкина К.А.

Уфа, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ РАСТЕНИЙ РОДА <i>MONARDA</i> L. (обзор литературы)	14
1.1. История изучения монарды	14
1.2. Ботаническая характеристика растений рода <i>Monarda</i> L	16
1.3. Сырьевая база монарды на территории Российской Федерации	20
1.4. Химический состав растений рода <i>Monarda</i> L.	23
1.5. Фармакологическая активность и применение монарды в научной и народной медицине	26
Выводы к главе 1	33
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1. Объекты исследования	34
2.2. Методы исследования	34
2.2.1. Определение подлинности сырья	34
2.2.2. Определение доброкачественности сырья	35
2.2.3. Качественный анализ биологически активных веществ	35
2.2.4. Количественный анализ биологически активных веществ	42
2.2.5. Исследование биологической активности	47
2.2.6. Статистическая обработка результатов исследований	50
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ МОНАРДЫ	51
3.1. Сравнительное изучение морфологических особенностей различных видов монарды и определение показателей подлинности	51
3.2. Анатомио-диагностические признаки травы монарды	55
Выводы к главе 3	65
ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ МОНАРДЫ	67
4.1. Определение числовых показателей	67

4.2. Определение коэффициента водопоглощения травы монарды	71
4.3. Исследование химического состава травы монарды	72
4.3.1. Качественные реакции	72
4.3.2. Хроматографический и спектральный анализ биологически активных веществ травы монарды	75
4.3.3. Количественное определение содержания основных групп биологически активных веществ в траве монарды	86
4.4. Разработка методики количественного определения эфирного масла	100
4.5. Разработка методики количественного определения флавоноидов	113
4.6. Изучение динамики накопления эфирных масел и флавоноидов в различных видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан	131
4.7. Стандартизация сырья монарды	133
Выводы к главе 4	137
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРАВЫ МОНАРДЫ	140
5.1. Определение острой токсичности травы монарды	140
5.2. Антиоксидантная активность травы монарды	141
5.3. Противовоспалительная активность травы монарды	145
5.4. Антибактериальная активность травы монарды	147
Выводы к главе 5	149
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	150
СОКРАЩЕНИЯ	154
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	155
ПРИЛОЖЕНИЯ	171
Приложение № 1. Копия акта внедрения результатов диссертационной работы в учебную работу кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО	172

БГМУ Минздрава России

Приложение № 2. Копия акта внедрения результатов диссертационной работы в учебную работу кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава	173
Приложение № 3. Копия акта внедрения результатов диссертационной работы в работу лаборатории ГБУЗ «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств»	174
Приложение № 4. Копия письма, принятого к рассмотрению в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» проекта ФС «Монарды трава»	175
Приложение № 5. Показатели качества сырья травы монарды в процессе хранения	176
Приложение № 6. Проект фармакопейной статьи «Монарды трава»	178
Приложение № 7. Инструкция по сбору и сушки сырья	193
Приложение № 8. Копия патента РФ на изобретение	197

ВВЕДЕНИЕ

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 [31, 41, 56, 88]. 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 [5, 27, 57].

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 [4, 6, 9, 19, 59, 64, 69]. Поэтому актуальным является углубленное изучение растений рода *Monarda* L. как сырьевых источников биологически 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 травы монарды 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 [41, 60, 70, 86, 104], 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 флавоноидов и эфирных масел [57, 67]. Описание фармакологической активности для эфирного масла монарды встречается в работах отечественных и зарубежных ученых, в которых подтверждается наличие антимикробной, антиоксидантной, противовоспалительной, иммуномодулирующей, противомикробной, фунгицидной активности [64, 66, 95, 105, 107, 111]. 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, спектрофотометрии 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 спектрофотометрии, 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 «Стоматологические леденцы для лечения поражений слизистой оболочки полости рта» № 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, интродуцируемой 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 ($P = 95\%$) 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 Российской Федерации ГФ-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 № 2, 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.

ГЛАВА 1. СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕННОСТИ РАСТЕНИЙ РОДА

MONARDA L. (обзор литературы)

1.1. История изучения монарды

Первыми растение рода монарда начали применять индейцы племени Освего, проживавшие в Северной Америки. Они заваривали листья, как чай и применяли при заболевании горла и полости рта, считая растение хорошим антисептиком. Впоследствии поселенцы из стран Европы употребляли чай, как жаропонижающее средство и при болях в желудке. Так чайный напиток получил большую популярность, а монарду стали называть «Oswega» - Освего или «Oswega bee balm» - пчелиная мята Освего [3, 15, 60].

Затем растение было привезено в Испанию, уже после открытия Колумбом нового материка, и с того места оно распространилось по всей Европе, в том числе и по России. Однако европейцы узнали о наличие растения только лишь через 85 лет из записных книг доктора Николаса Монардеса "Радостные новости из Нового Света" (дата издания - 1569 год) и "Медицинская история Западной Индии" (дата издания - 1580 год), который 1571 году совершил кругосветное путешествие, во время которого описывал неизвестные в то время Европе растения. В книгах Николас Монардес привел описания растения, обладающего ароматным запахом, напоминающим запах, мяты и лимона, из сушеных листьев которого индейцы готовила целебный напиток. И только лишь через два века монарда была введена Карлом Линнеем в свою систематическую классификацию видов "Виды растений", и род приобрел собственное наименование в честь Николаса Монардеса - "Монарда". Однако со временем о монарде начали забывать и вспомнили только лишь через сто лет. В Европе, а так же в Азии монарду начали культивировать как эфиромасличное растение [60].

К истоку XIX столетия монарду выращивали под наименованием "Бергамот" – из-за схожести с запахом цитрусового растения – бергамота,

несмотря на то, что растение иногда именовали индейской крапивой, североамериканской мелиссой, индийское перо, лимонная мята. В это время возросла популярность чайного напитка под названием «чай Освего», который назвали в честь индийского племени Освего [51, 61].

В XX столетие растение испытало вершину известности: его растили садоводы, исследовали эксперты в научной области. С периодом, когда химический состав и химическая структура соединений стала известна, появилась потребность ввести монарду в культуру с целью плантационного выращивания. Во 1988 г. одна из североамериканских компаний поместила монарду в собственный каталог пряно-овощных и овощных культур, а так же рекомендовала с целью реализации семян, а через три года, монарду в свой каталог ввели голландцы. Однако вследствие открытия новейших искусственных аналогов, ароматических добавок растение не сделалось основным по объемам выращивания сырья [28].

В Россию монарду завезли по завершению XIX столетия, как растение для украшения домов. В советский период монардой были заинтересованы эксперты, ученые и также ботанические сады. Их основная задача состояла в ведение монарды в качестве лекарственного растения. Исследование монарды, в первую очередь как овощного растения с целью внедрения в культуру средней полосы России, началось только лишь по завершении XX столетия в находящемся в московской области институте селекции и семеноводства овощных культур В. М. Дрягиным, деятельность которого раскрыли путь монарде в современный мир. Им было изучено более 43 сортов представителей рода *Monarda* L., относящихся к 12 видам. Эти данные показали перспективность введения монарды как нового пряно-вкусового растения [3, 9, 66].

На сегодняшний момент растения рода монарда вновь становятся популярными благодаря появлению новых сортов и гибридов и за счет богатого набора биологически активных веществ.

1.2. Ботаническая характеристика растений рода *Monarda* L.

Эфиромасличные растения, относящиеся к роду *Monarda* L., характеризуются сильным полиморфизмом. Установлено, что по ряду важных морфологических признаков растения рода *Monarda* L. отнесены к группе перспективных видов и могут хорошо интродуцироваться в условиях Российской Федерации. При сравнении морфологических особенностей некоторых видов монарды различного происхождения, было отмечено, что виды характеризуются широким диапазоном морфологических признаков, оказывающих существенное влияние на продуктивность растений (высота растений, число побегов и соцветий, диаметр куста, размер листьев) и установлена возможность успешного роста и развития их в качестве многолетней культуры с полным циклом сезонного развития [41, 60].

Род: *Monarda* L., семейство: *Lamiaceae* - Яснотковые



Рисунок 1 - Внешний вид монарды.

Монарда – однолетнее, двулетнее, многолетнее травянистое растение. Образуется плотные кусты высотой от 60 до 120 см.

Корневая система мочковатая, корневище длинное расположено горизонтально.

Стебли прямостоячие, жесткие, крепкие, четырехгранные, полые, разветвленные или не разветвлённые (рисунок 1).

По расположению листья супротивные, короткочерешковые, у основания черешка присутствуют прилистники. Листовая пластинка имеет длину 6-12 см, продолговато-яйцевидная, темно - пурпурно - либо просто зеленого цвета. Сверху листовая пластинка голая или опушенная короткими волосками, снизу по жилкам также идет опушение [10]. Края листовой пластинки городчато-зубчатые (рисунок 2).



Рисунок 2 - Листовая пластинка.

Соцветие - шаровидная головка, которая образованна примерно из 50 цветков. Соцветия растения появляются в верхней части стебля или при выходе из пазух. Они, как правило, внешне похожи на кластеры цветов с листвой и прицветниками (рисунок 3).



Рисунок 3 - Соцветие монарды.

Цветки монарды трубчатые, двухсторонние и симметричные: верхняя губа узкая, а низкая чуть шире, собраны, как правило, в головчатые соцветия на верхушке стебля, часто весьма необычно – в виде канделябра (в 2-3 яруса) и в пазухах стеблей. Цветки гермафродиты, так как имеют элементы и мужской и женской структуры в каждой цветке. Андрацей представлен четырьмя тычинками, геницей ценокарпный.

Формула цветка: $\uparrow \overset{\text{♀}}{\text{♀}} Ca_{(5)} Co_{(2+3)} A_4 G_{(2)}$

Оттенок цветка монарды меняется в зависимости от вида и места нахождения – он может быть красного, розового или легкого фиолетового цвета, иногда сочетая в себе все эти грани: монарда двойчатая имеет яркие красные цветы, монарда дудчатая (трубчатая) – розовые, а монарда лимонная отличается бледно-фиолетовыми лепестками. Размножается как семенами, так и вегетативно – делением куста [68].

Плод – ценобий, растрескивающийся на 4 орешка. Масса 1000 плодов (орешков) 0,2-0,3 г. Цветут различные виды в июне – сентябре, каждый более месяца. Соцветия, стебли и листья могут обладать различными сильными ароматами - лимона, мяты.

Род *Monarda* (монарда) насчитывает около 13-20 видов, среди которых есть однолетники, двулетники и многолетники. Наиболее часто встречаемые виды монарды:

- Монарда трубчатая или дудчатая (*Monarda fistulosa*, L.) – многолетнее травянистое растение. Стебель тонкий, четырёхгранный, достаточно облиственный, зелёного окрашивания с красноватым или коричневым оттенком. Лист продолговато-яйцевидной формы, края зубчатые, опушены тонкими волосками. В каждом стебле располагается до 9 соцветий крупного размера. У природного вида цветки фиолетового, лилового цвета. Данный вид более устойчив к засушливым условиям произрастания. В природе растет на сухих местах по окраине леса и прериях. Массовое цветение наступает в начале июня. Долго цветет и имеет прекрасный аромат [57].

- Монарда двойчатая (*Monarda didyma* L.) - многолетнее травянистое растение. Стебли мелковорсистые облиственные, четырёхгранные, прямостоячие. Листья яйцевидной формой светло-зелёного цвета, располагаются симметрично на коротких черешках. Цветки имеют лиловое или фиолетовое окрашивание. Данный вид зимостойкий и засухоустойчив, хорошо растёт на солнечных участках и в полутени [28, 51].

- Монарда лимонная (*Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag.). Однолетнее, многолетнее травянистое растение. У данного вида листья ланцетной формы слегка опушенные, серебристо-серого цвета. Соцветия составлены из 5 - 7 мутовок с мелкими темно-сиреневыми или светло-лиловыми цветками. Зацветает растение в начале июля, цветет обильно до поздних заморозков. Все части растения имеют сильный приятный, слегка пряный аромат. [39].

- Монарда гибридная (*Monarda hybrida* L.) – многолетнее травянистое растение. Данный вид получен путем скрещивания монарды трубчатой (дудчатой) и монарды двойчатой. Цветки монарды гибридной могут быть разного цвета. Среди сортов монарды гибридной различают множество подсортов, которые, в основном, отличаются частотой цветения, окраской листьев и цветов [2].

Видов монарды гораздо больше, среди которых встречаются монарды: душистая (*M. clinopodia*), средняя (*M. media*), мягкая (*M. mollis*), Бредбери (*M. bradburiana*), точечная (*M. punctata*), красная (*M. rubra*), гребенчатая (*M. pectinata*), рассеянная (*M. dispersa*) и другие [4, 8].

Таким образом, в результате многолетних исследований установлена возможность эффективного возделывания, роста и развития представителей рода *Monarda* L. в качестве многолетней культуры как в условиях нечерноземной зоны России, так и в других регионах Российской Федерации.

1.3. Сырьевая база монарды на территории Российской Федерации

Монарда в диком виде встречается на влажных лугах, холмах и лесных полянах большей части в центральных частях Северной Америки, юг Канады и Мексика. Монарда дудчатая (трубчатая) произрастает вдоль лесов, монарда двойчатая растет в районе Великих озер, расположенных в Северной Америке (рисунок 4). С 1961 года в Соединенных Штатах Америки монарду стали культивировать под названием «Дикий бергамот», которая позднее была успешно натурализована в некоторых местах Европы и Азии.



Рисунок 4 - Распространение монарды в диком виде

Монарда культивируется на территории Российской Федерации в европейской части страны, на Урале, в западной Сибири, на Дальнем Востоке, в Средней Азии, а также на Украине и в Молдавии (рисунок 5) [10, 35, 117].



Рисунок 5 - Зоны интродукции монарды.

Сырьевая база хорошо обеспечена, так как потребность в сырье монарды покрывается за счет ее интродукции. Большой пласт по работам интродукции на протяжении 25 лет, начиная с 1980-х годов, выполнен в ботанических садах Украины, Белоруссии, Молдовы, Азербайджана. В России интродукцию монарды проводят в Крыму (Никитский ботанический сад – национальный научный центр РАН), Башкортостане (Ботанический сад-институт, Уфимского научного центра РАН и коллекционный участок кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, Башкирский государственный медицинский университет), в Московской области (Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений), Северо-Западном регионе (Ленинградская область) и Западной Сибири [10, 11]. В естественных условиях в этих регионах произрастает ограниченное количество пряно-ароматических растений, поэтому интродукция является перспективной формой для введения нового лекарственного растения в медицину, а также для расширения ассортимента пряно-ароматических растений с целью замены импортного сырья. Наиболее интересными видами монарды, которые

широко интродуцируются в России, являются *Monarda fistulosa* L., - Монарда дудчатая (трубчатая), *Monarda didyma* L., - Монарда двойчатая и *Monarda citriodora* L. - Монарда лимонная.

При выращивании монарды и интродукции необходимо учитывать, что заросли дают большой урожай в протяжении 5-6 лет, однако по истечении данного времени они имеют необходимость в обновлении. Урожайность надземной массы в зависимости от вида монарды является от 4-20 т/га (Крым и Республика Адыгея) до 22 т/га (Северо-Запад России). В Молдавии урожайность наземной массы находится в пределах 13,6-18,6 т/га [9].

Монарда, в силу своих биологических особенностей, лучше произрастает на почвах со слабокислой либо нейтральной реакцией среды. Хорошо развивается при достаточной влагообеспеченности, но и засушливые периоды переносит стойко. Растение морозостойкое, предпочитает открытые солнечные участки. При небольшом затенении куст развивается не высокий, и обильность цветения падает на 50% [41, 54, 79]. Монарда хорошо устойчива к болезням и садовым вредителям. В жаркую и сухую погоду на монарде часто можно увидеть ложномучнистую росу, которая не причиняет вреда, но значительно портит внешний вид. Профилактика данного заболевания заключается в содержании почвы во влажном состоянии с помощью мульчирования и полива, а также разреженности посадок, которая обеспечивает проходимость воздуха вокруг стеблей. Характерны другие болезни и вредители, которыми поражается монарда: грибковая ржавчина, изредка – вирус табачной мозаики, долгоносик (обычно на легких почвах). Монарда может отпугивать многих живущих в почве насекомых-вредителей, благодаря содержанию в корнях растения эфирного масла [60].

Анализ благополучной интродукции по ряду хозяйственно значимых признаков и свойств велась для монарды дудчатой, двойчатой и средней, которые были отнесены к группе перспективных видов и также определена вероятность возможного успешного роста и развития в качестве многолетней культуры представителей рода Монарда в условиях нечерноземной области

России, Московской области, где образцы трех видов рода *Монарда* проходят полный цикл сезонного развития. Осуществление ключевых агротехнических способов (своевременная посадка, прополки, междурядные обработки) и выполнение оптимальных сроков уборки сырья дают возможность стабильно получать неплохой урожай сырья со значительным содержанием эфирных масел в условиях нечерноземной области Российской Федерации [41].

Несмотря на то, что исследования по интродукции монарды проводились в разных регионах отличных друг от друга почвенно-климатическими условиями, ученые признали этот вид «перспективным» для промышленного выращивания. Поэтому для получения эфирного масла необходимо соблюдать агротехнические приемы, которые разрабатываются в ботанических садах регионов России [9, 11, 41, 60].

1.4. Химический состав растений рода *Monarda* L.

Виды рода *Monarda* L. относятся к эфиромасличным растениям, характеризующимся полихимизмом и широким диапазоном содержания эфирных масел в сырье. Во многих работах отмечается, что периодом, характеризующимся максимальным накоплением эфирных масел в сырье, является фаза цветения растения, которая приходится на июль-начало августа, когда условия для этого наиболее благоприятны. Исследования по определению содержания эфирного масла в сырье различных видов монарды показали, что количество эфирного масла существенно изменялось в процессе роста и достигало максимума в листьях и в соцветиях в фазе начала цветения. По этому показателю образцы монарды, выращенной в нечерноземной полосе России не уступают таковым в сырье, получаемом в условиях Молдовы, Украины и Крыма. Содержание эфирного масла в абсолютно сухом сырье колеблется от 0,95 до 2,5% [26, 32, 35, 41].

Состав эфирного масла растений рода *Monarda* L. практически является однотипным. Преобладающими компонентами являются тимол или

карвакрол, содержание которых в смеси варьирует от 41% до 85%, а также связанные с ними биохимически п-цимол и терпинен. В эфирном масле монарды высокое содержание цимола, линалоола, мирцена, цинеола, сабинена, терпинена, туйена, туйола, борнеола. Что касается соотношения тимола и карвакрола, то оно у одного и того же вида часто очень сильно варьирует. В зависимости от климатических и почвенных факторов, периода вегетации, а также от видового состава растительного окружения в одном и том же виде может преобладать один из указанных фенолов [26, 32, 35, 41, 60, 73, 95].

Исследования Е.Т. Жиликовой, Е.Н. Науменко, О.О. Новикова монарды трубчатой показали, что в эфирном масле содержится 34 компонента, среди которых тимол (65,9%), карвакрол (1,53%), метилкорвакрол (4,72%), пинокамфен (4,03%), γ -терпинен (0,23%), п-цимен (5,97%) [36, 118]. В эфирном масле монарды двойчатой Р.В. Опариным, Л.М. Покровским и Г.И. Высочиной установлено наличие 50 компонентов, среди которых основными являются тимол (64,9%), карвакрол (1,2%), п-цимол (9,5%), γ -терпинен (3,6%) [35].

Кроме эфирных масел в состав растений рода *Monarda* L. входят горечи, аскорбиновая кислота, дубильные вещества (катехин, танин), витамины группы В, флавоноиды (лютеолин, кверцитин, рутин, лютеолин–7–гликозид и гиперозид) и гидрооксикоричные кислоты (кумаровая кислота, кофейная кислота) [86, 104].

В стеблях, листьях и цветках содержатся монардин и монардеин, которые по своей структуре и свойствам являются производными пеларгонидина - группа антоцианидинов (хлористого - 4,3,5,7 - тетраоксифлавина – $C_{27}H_{31}O_{15}Cl$), растительные пигменты, обладающие диуретическим действием (рисунок 6) [108].

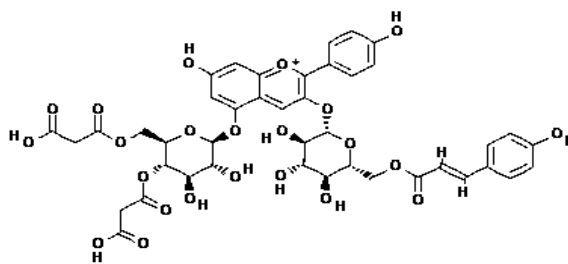


Рисунок 6 - Монардеин

В листьях монарды накапливается значительное количество водорастворимых антиоксидантов (витамины группы В, катехины, полифенолы), которые легко экстрагируются горячей водой [90].

Исследования В.А. Куркина, А.С. Лапиной посвящены изучению химического состава монарды дудчатой и других примесных видов, выделены и идентифицированы индивидуальные вещества из группы флавоноидов (изороифолин, линарин и дидимин, апигенин и акацетин), монотерпеновые фенолы (тимол), установлена их химическая структура, предлагается проводить стандартизацию монарды дудчатой по содержанию флавоноидов в пересчете на изороифолин. Определено, что монарда дудчатая является перспективным растением, сырье которого может быть использовано для разработки и создания лекарственных растительных препаратов, что подтверждается также наличием диуретической и бактериостатической активности в отношении клинических штаммов *Burkholderia*, выделенных от пациентов с муковисцидозом [57, 67].

Многолетние изучения Корчашкиной Н.В. по исследованию биологических особенностей роста и формирования развития видов рода *Monarda* L. в условиях нечерноземной зоны Российской Федерации выявили то, что виды монарды считаются перспективными с целью выращивания и заготовки, так как отличаются высоким содержанием эфирного масла: у монарды дудчатой оно составило 1,39-2,43%, монарды двойчатой 1,66-2,13% и монарды средней 2,05%. Авторы отмечают, что количество эфирного масла в растений рода *Monarda* L. меняется в зависимости от фазы вегетации,

достигая собственного максимума в начале цветения, при этом содержание эфирного масла в сырье обуславливается не только лишь значительным его содержанием в отдельных органах, но долей листьев и соцветий, представляющие более ценной частью урожая. Наибольшее его содержание в листьях отмечалось в фазе начала цветения, а потом начинало уменьшаться. В соцветиях оно сохранялось высоким до фазы массового цветения, по мере со временем постепенно снижалось. Исследования изучаемых образцов показали, что основными компонентами эфирных масел исследуемых образцов являются п-цимол, тимол, карвакрол, которые обладают выраженным антимикробным и фунгистатическим действием, и состав эфирных масел отличался как в зависимости от фазы уборки, так и от образца с изменениями в основном в пределах метаболической вилки тимол-карвакрол [41].

Однако, химический состав других групп биологически активных веществ в видах монарды изучен недостаточно, что делает актуальным дальнейшие исследования растений рода *Monarda* L..

1.5. Фармакологическая активность и применение монарды в научной и народной медицине

Монарда выращивается не только как декоративное, но как эфиромасличное, лечебное и пряно-ароматическое растение. Это великолепные медоносы с весьма душистыми листьями и цветками. Листья, стебли также цветки практически всех видов монарды обладают приятным мятно-лимонным, терпким ароматом. Монарда с давних пор применялась индейцами в качестве лечебного растения. Индейцы подметили антисептические свойства монарды: листьями вылечивали раны и кожные инфекции, настойку использовали с целью полоскания горла и рта, оздоровления зубов и десен, от головных болей и лихорадки, а также в качестве общего стимулирующего и ветрогонного средства [18, 81].

Современные исследования фармакологических свойств травы монарды проводятся довольно активно, выявлены различные виды активности этого растения.

Проведенные исследования эфирных масел Е.Н. Науменко, Е.Т. Желяковой, Л.В. Кричковской и О.О. Новиковым показали, что масло монарды оказывает ингибирующее действие на рост микроорганизмов, задерживает рост синегнойной палочки, проявляет противовоспалительный эффект и влияет на экссудативную фазу воспаления. Результаты проведенных исследований показывают, что эфирное масло монарды действует *in vivo* на *Klebsiella pneumoniae*, которая вызывает у людей тяжелые поражения легких. Эфирное масло монарды бактерицидно действует на капсульных бактерий, предотвращая развитие септицемии, что способствует высокой выживаемости животных. Проведенное исследование показало, что эфирное масло монарды действует не только *in vitro*, но и *in vivo* [30].

В.В. Николаевский с соавторами (1988) определили, то что эфирные масла монарды, лаванды и прочие оказывают влияние на функциональную активность Т-лимфоцитов. Пребывание животных в атмосфере, содержащей эфирное масло монарды, сопровождалось значительной стимуляцией клеточного иммунного ответа на внутривенную иммунизацию, возрастанием кожной реакции на фитогемагглютинин [72].

Доказано, что эфирное масло монарды стимулирует защитные реакции клеток и тканей, активизируют процессы их регенерации, проявляет радиопротекторные свойства. Данную группу веществ рассматривают, как потенциальные профилактические средства, обладающие иммуномодулирующими, антиоксидантными свойствами. При этом, монарду лимонную применяют при лечения заболеваний верхних дыхательных путей (бронхиты хронические, бронхиальная астма), а также при заражении сальмонеллами [31].

Изучение влияния эфирного масла монарды на величину радиационного повреждения кроветворной системы и характер ее

восстановления в пострadiaционный период показало, что в определенном диапазоне доз облучения (от 2 до 4 Гр) ингаляция эфирным маслом монарды способствуют усилению репаративных процессов [19].

Ученые Ялтинского научно-исследовательского института физических методов лечения и медицинской климатологии изучали радиозащитные свойства эфирного масла монарды трубчатой, а также возможности применения его с целью излечения бронхиальной астмы, затяжных бронхитов и трахеитов, как средство, способствующее приживлению чужеродных тканей [61].

Особый интерес представляет использование монарды для лечения заболеваний бронхолегочной системы. Полученные в Адыгейском государственном университете и Томском медицинском институте результаты выявили большие противомикробные свойства монарды и возможность применения ее с целью аэрирования воздуха аудиторий, классов, кинотеатров, лечебных, детских и других общественных помещений, в особенности в промежутки вспышек эпидемий гриппа и других иных простудных заболеваний. Эфирное масло было эффективно против простейших - трихоносомы, амебы [18].

В Новосибирском государственном аграрном университете было проведено изучение влияния водного экстракта на стрессоустойчивость крыс и мышей, в сравнении с раствором эхинацеи. В качестве стрессирующих процедур применяли следующие методы: иммобилизационный стресс и гипоксическое гиперкапния. При этом водный экстракт монарды снижал массу тимуса и селезенки, усиливал устойчивость подопытных животных к дефициту кислорода, увеличивал продолжительность сна, в сравнении с раствором эхинацеи [69].

В работе Маланкиной Е.Л. описаны антигельминтные свойства монарды, которые обусловлены содержанием олеоризина, относящимся к смоляным кислотам, производным резинолов. Действие олеоризина связывают с влиянием на гладкую мускулатуру круглых гельминтов и

паралич мышц, это обусловило введение экстракта монарды в антигельминтный бальзам. Преимущества монарды в том, что она действует как легкое противоглистное средство, и в отличие от других растений (полыни горькой, цитварной полыни) или синтетических препаратов не оказывает побочных действий, отравления при передозировке [60].

Важной характерной особенностью монарды считается стимуляция сердечной деятельности и способность снимать сердечные неврозы, что объясняется содержанием в листьях и цветках флавоноидов, аскорбиновой кислоты и антоцианов [109].

Монарда обладает мощным бактерицидным действием и занимает по этому показателю одно из ведущих мест среди растений. Поэтому её часто используют для ингаляций в борьбе с острыми респираторными заболеваниями и гриппом, головной болью [65, 105].

Национальный центр исследований натуральных продуктов в США проводил исследования, которые показали, что эфирное масло монарды обладает хорошей репеллентной активностью с минимальными эффективными дозами $0,055 \pm 0,036$ и $0,078 \pm 0,027$ мг/см². Эфирное масло не показало цитотоксичность в отношении соматических клеток млекопитающих, но оказало токсическое действие на все клеточные линии личинок москита желтой лихорадки [107].

Так же монарда обладает ветрогонным, общим стимулирующим, противогрибковым действием. Растение замедляет старение организма, помогает в адаптации организма к новым климатическим условиям, защищает от малых радиационных воздействий, снижает повышенный уровень кислорода в клетках организма, нормализуя его количество. Данный эффект объясняется ее способностью окисляться, утилизируя, таким образом, излишнее количество кислорода, снимая опасность его токсического действия при избытке в тканях. Нормализуя уровень кислорода в тканях, она интенсифицирует тканевое дыхание. Повышает энергетический потенциал клеток и их жизнеспособность [6].

Проанализировав литературные данные, следует отметить, что в народной медицине настой травы монарды используют при ожогах, экземах, при выпадении волос, для лечения заболеваний верхних дыхательных путей (насморк, синуситы, отит), для профилактики ОРЗ и гриппа, затяжных заболеваний легких, бронхоэктатической болезни, продолжительной пневмонии, с целью профилактики туберкулеза, при лучевой болезни, заболеваниях мочевыделительной системы (циститы, вагиниты), грибковых болезнях кожи, а также ногтей. Экспериментальное изучение монарды выявило положительные результаты при уменьшении местного иммунитета и неспецифической резистентности организма (Т-системы иммунитета). Настой из травы монарды из-за проявленных антиоксидантных, противовоспалительных, антимикробных качеств используют с целью профилактики старения организма, атеросклероза, в иммунометаболической периоде канцерогенеза, при стрессе, анемии, гипоксии, для оптимизации приспособления организма к новейшим климатическим условиям, небольшим радиационным влияниям [28, 62, 108].

Благодаря высокому содержанию тимола сок из свежих листьев используется наружно для заживления ран. Тимол - сильное обеззараживающее средство, к тому же обладающее обезболивающим действием, поэтому листья монарды можно жевать при зубной боли, воспалении десен, стоматитах и язвочках во рту [62, 69, 81].

Монарда входит в состав биологически активных добавок, применяемых для лечебно-косметических целей, при лечении заболеваний кожи, верхних дыхательных путей, среди которых можно выделить однокомпонентные и многокомпонентные, содержащие в своем составе эфирное масло или экстракт монарды, в сочетании с вспомогательными веществами (таблица 1).

Таблица 1 – Биологически активные добавки, содержащие монарду

Наименование	Состав	Применение
<i>Экстракт масляный монарды</i> (флакон 250 мл, Гален Фармзавод, г.Барнаул)	- монарда дудчатая - масло растительное пищевое	Используется при угревой сыпи, себорее, шелушении кожи, долго не заживающих ран, язв, экзем.
<i>Масло Монарды</i> (средство от грибка, жидкость, флакон 20 мл, США)	-эфирное масло монарды; - масло чистотела; -экстракт чеснока; - экстракт прополиса и др. .	Зуд и жжение между пальцами стопы, пожелтение ногтя, появление пятен на ногтевой пластине, расслаивание и повышенная ломкость ногтей, трещины на коже и шелушение, ороговевшие участки кожи.
<i>Крем - бальзам «Монарда»</i> (20,0 г; Родники Сибири)	- экстракт монарды, -живица кедра; -воск пчелиный; - растительное масло. и др.	При воспалительных заболеваниях кожи, вызванных болезнетворными микробами, длительно незаживающие, нагноившиеся раны, угревая сыпь, фурункулез, грибковое поражение кожи, ихтиоз, экзема и лишай.
<i>Бальзам «Монарда Плюс»</i> (капсулы № 60, ООО «Родник Здоровья»)	- масляный экстракт монарды; -живица кедра; - кукурузное масло; и др.	Для профилактики нарушений пищеварительного процесса, включая язву и дисбактериоз, иммунодефицита, синдрома повышенной утомляемости, стресса, при бронхолегочных заболеваниях (пневмонии, бронхите, астме, туберкулезе).
<i>Леденцы с экстрактом монарды и прополиса</i> (блистер 3,2 г № 10, ООО «Родники здоровья»)	- экстракт монарды; - сахар; - кислота лимонная; -прополис и др.	При заболеваниях верхних дыхательных путей.
<i>Цветочная водичка «Монарда+»</i>	- гидролат монарды; - гидролат шалфея;	Для промывания глаз от конъюнктивита для взрослых

(50 мл, TM Iri)	- гидролат ромашки.	и детей. Снимает воспаление слизистых глаз и слезных каналов, устраняет конъюнктивит.
<i>Крем Монарда</i> (50,0 г, Здоровье семьи)	-экстракт монарды; -масло мануки; -экстракт прополиса, -экстракт чайного дерева и др.	Для профилактики грибковых и клещевых поражений кожи.
<i>Гель-спрей «Тагетон»</i> (150 мл, Rebion)	-эфирное масло монарды, - эфирное масло бархатцев; – вода и др.	Профилактика заболеваний органов дыхания, ОРВИ и туберкулеза.

На основе эфирного масла монарды Пятигорским НИИ разработана мазь, обладающая фунгицидным, бактерицидным, противоаллергическим и иммуномодулирующей активностью [62].

Сотрудниками Белгородского государственного национального исследовательского университета разработаны ректальные суппозитории «Монавитол» для лечения и профилактики проктологических заболеваний, такие как геморрой, проктит и проктосигмоидит, анальная трещина в состав которых кроме эфирного масла монарды входят также β -каротин и другие вспомогательные вещества [34, 75].

С. А.Чубатовой, Г. В. Кузнецовой, А.Ю. Зурабовой, Г.Г. Чумбуридзе разработана и запатентована композиция с фунгицидным, антимикробным и вируленицидным действием на основе фитоэкстрактов. В данном патенте предлагается несколько композиций, в которые включено эфирное масло монарды, и оно может найти применение при изготовлении лечебных, профилактических, косметических и санитарно-гигиенических средств [77].

Согласно литературным данным у монарды есть некоторые противопоказания и предостережения к применению, такие как аллергическая реакция [60]. Не рекомендуется применять данное растение при беременности и в период лактации, а также детям в возрасте до 5 лет.

Таким образом, дальнейшие исследования по изучению видов монарды, с целью разработки на ее основе новых эффективных и безопасных лекарственных средств является перспективным и актуальным направлением медицины и фармации.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1:

1. Обобщая литературные сведения о степени изученности и применении монарды в медицине можно сделать вывод, что, растения рода *Monarda* L. являются перспективными объектами исследования из-за большого видового многообразия, сложного и богатого химического состава, широкого спектра фармакологической активности и первоочередной задачей является разработка нормативной документации на лекарственное растительное сырье монарды.

2. Приведенные данные литературы показывают, что недостаточно подробно изучен химический состав фенольных соединений травы монарды и других групп биологически активных веществ, что представляет несомненный интерес для дальнейших исследований, так как фенольные соединения принимают участие в общем фармакологическом эффекте растения.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

В качестве объектов исследования использовали 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 Уфимского научного центра Российской Академии Наук и на коллекционном участке кафедры фармакогнозии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Заготовку травы монарды проводили в разные фазы вегетации с 2012 по 2017 г.г., сырьевой материал сушили, складывали в мешки и сохраняли при комнатной температуре в сухом, хорошо вентилируемом помещении, без прямого попадания солнечных лучей [56]. Образцы сырья разделяли на серии по годам сбора и из них отбирали пробы для определения подлинности и числовых показателей качества сырья.

Сухой экстракт из травы различных видов монарды получали методом перколяции, в качестве экстрагента использовали 40% этиловый спирт, соотношение сырья-экстрагент 1:1 и степень измельченности сырья 2 мм. Полученный сухой экстракт представлял собой темно-коричневый порошок со специфическим запахом.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Определение подлинности сырья

Для исследования травы различных видов монарды проводили отбор проб и осуществляли макроскопический и микроскопический анализ согласно методикам, приведённым в ГФ XIV том 2, ОФС 1.1.0006.15 и ОФС 1.1.0007.15 [23]. Для микроскопического анализа применяли микроскоп

марки «Мини-Мед 501» и микровизор марки MVZ-103 с встроенной камерой.

2.2.2. Определение доброкачественности сырья

В образцах растительного материала проводили определение:

- влажности по методике ГФ XIV, том 2, ОФС 1.5.3.0007.15 [23];
- золы общей – по ГФ XIII, том 1, ОФС 1.2.2.2.0013.15 [22] и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – по ГФ XIV, том 2, ОФС 1.5.3.0005.15 [23];
- экстрактивных веществ – по ГФ XIV, том 2, ОФС 1.5.3.0006.15[23];
- тяжелых металлов – по ГФ XIV, том 2, ОФС 1.5.3.0009.15 [23];
- степени измельченности и содержание примесей в сырье монарды с помощью методик ГФ XIV ОФС.1.5.3.0004.15 [23];
- радиологической чистоты ЛРС согласно методике ГФ XIV, том 2, ОФС 1.5.3.0001.15 [23];
- коэффициента водопоглощения сырья по методике ГФ XIV издания ОФС.1.5.3.0012 [23].

2.2.3. Качественный анализ

Качественное обнаружение полисахаридов

Обнаружение полисахаридов проводили в водном извлечении из травы монарды (1:10) путем добавления спирта этилового 95%. При наличии полисахаридов наблюдается помутнение или выпадение осадка [55, 97].

Качественное обнаружение эфирных масел

Для обнаружения эфирных масел в сырье монарды проводили гистохимическую реакцию с суданом III. При наличии эфиромасличных включений, содержащих эфирные масла, наблюдается окрашивание в оранжевый цвет [23, 88].

Качественное обнаружение алкалоидов

Обнаружение алкалоидов в сырье проводили в подкисленном извлечении, которое обрабатывали хлороформом, с последующим отгоном растворителя. Полученный остаток сушили и проводили реакции с с танином, пикриновой кислотой и с реактивом Драгендорфа [14, 56, 100].

Качественное обнаружение флавоноидов

Для обнаружения флавоноидов готовили спиртовое извлечение, с которым проводили следующие реакции [24, 55, 86, 100]:

- цианидиновая проба: 2 мл спиртового извлечения, добавляли 5-7 капель насыщенной кислоты хлористоводородной, 10-15 мг металлического цинка, нагревали 2-3 мин на водяной бане – при присутствии флавонов, флавонолов отмечается розовое красное, красно-оранжевое окрашивание;
- реакция со щелочным раствором: 2 мл спиртового извлечения, добавляли раствор аммиака - при наличии антоцианов наблюдается сине-фиолетовое окрашивание;
- реакция с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида: 2 мл спиртового извлечения, 3-4 мл спиртового раствора алюминия хлорида - при наличии флавонов, флавонолов наблюдается желто-зеленое окрашивание.
- реакция с 1% спиртовым раствором железа хлорида: 2 мл спиртового извлечения, 3-4 мл спиртового раствора железа хлорида – в присутствии флавонов наблюдается темно-зеленая окраска, флавонолов – коричневая, флавонолов – красно-бурая.

Качественное обнаружение кумаринов

Для качественного подтверждения кумаринов готовили спиртовое извлечение из травы монарды в соотношении (1:10) и проводили следующие реакции:

1. Лактонная проба с раствором щелочи. В присутствии кумаринов раствор мутнеет и наблюдается желтое окрашивание [55, 78].

2. Реакция азосочетания. При наличии кумаринов раствор окрашивается в вишневый цвет [55, 89].

Качественное обнаружение хромонов

Качественное обнаружение хромонов проводили в хлороформной вытяжке из растительного сырья в присутствии концентрированной серной кислоты. При наличии хромонов в сырье наблюдается лимонно-желтое окрашивание за счет образования оксониевых солей. В присутствии концентрированных щелочей при наличии хромонов наблюдается пурпурно-красное окрашивание [55, 78].

Качественное обнаружение сапонинов

Для качественного обнаружения сапонинов готовили водный раствор (1:10) и проводили следующие качественные реакции [55, 100]:

1. Реакция пенообразования. Образование пены указывает на присутствие в сырье сапонинов.

2. Реакция Лафона: 2 мл водного извлечения, прибавляли 1 мл кислоты серной концентрированной, 1 мл спирта этилового и каплю раствора сернокислого железа 10%-го. В присутствие сапонинов раствор окрашивается сине-зеленый цвет.

3. Реакция осаждения ацетатом свинца. При наличии сапонинов выпадает белый осадок.

Качественное обнаружение дубильных веществ

Наличие дубильных веществ выявляли путем прибавления к водному извлечению травы монарды раствора железоаммонийных квасцов. При присутствие гидролизуемых дубильных веществ наблюдается черно-синее окрашивание либо осадок, а при присутствие конденсированных – черно-зеленое окрашивание либо осадок [24, 55].

Качественное обнаружение антраценпроизводных

На обнаружение антраценопроизводных проводили реакцию сублимации. При наличии антраценпроизводных сублимат окрашивается в ярко-красный цвет при добавлении 10% спиртового раствора натрия гидроксида [24].

Качественное обнаружение аминокислот

Обнаружение аминокислот в растительном сырье проводили с помощью нингидриновой пробы. При добавлении нингидрина к водному извлечению из сырья при наличии аминокислот наблюдается красно-фиолетовое окрашивание [12].

Хроматографический анализ

Хроматографический анализ в тонком слое сорбента

Хроматографическое исследование водных и спиртовых извлечений из сырья монарды проводимы с использованием тонкослойной хроматографии на пластинках марки «Sorbfil ПТСХ -П-А-УФ» в нормальных условиях, применяя стандартные образцы веществ-свидетелей. Активацию пластин проводили путем их прогрева при температуре 105-110°C в течение 1 часа [45]. Анализ проводился в различных системах растворителей. В качестве подвижных фаз использовали следующие системы растворителей:

- фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты, флавоноиды: «н-бутанол - уксусная кислота – вода» (4:1:5), «хлороформ – метанол - вода» (65:35:10), «этилацетат - уксусная кислота - вода» (5:1:1), «этилацетат – муравьиная кислота - вода» (14:3:3), «этилацетат - муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота – вода» (100:11:11:26); для проявления использовали 5% спиртовый раствор хлорида алюминия;

- кумарины: «этилацетат – бензол (1:2)», для проявления использовали свежеприготовленный диазореактив;

•сапонины: «петролейный эфир-хлороформ-уксусная кислота (10:4:0,4)», «бутанол - этиловый спирт - аммиак (7:2:4)», для проявления использовали раствор кислоты серной 20%;

•каротиноиды: «гексан – диэтиловый эфир» (80:20), для проявления использовали 10% раствор кислоты фосфорномолибденовой в этиловом спирте;

•органические кислоты: «этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода» (100:11:11:25) для проявления применяли 0,2% раствор бромкрезолового зеленого спиртовой;

•аскорбиновая кислота: «этилацетат – уксусная кислота (80:20)», для проявления использовали раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия [55].

На предварительно инактивированной пластинке «Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ» обозначали линию старта и наносили микропипеткой 0,05 мл исследуемого извлечения. На расстоянии 1 см от исследуемого извлечения, наносили по 0,05 мл 0,05% раствора стандартных образцов. Пластинку с нанесенными пробами подсушивали при комнатной температуре, далее размещали в хроматографической камере, которую заранее насыщали смесью растворителей. Хроматографию проводили восходящим способом. Пластинку извлекали из хроматографической камеры тогда, когда фронт растворителя проходил 10 см, и подсушивали на воздухе в течение 10 -15 минут. Полученные хроматограммы рассматривали в видимом и УФ-свете при длине волны 254 нм и 365 нм. Далее проявляли соответствующим растворителем и отмечали изменение окраски пятен [23].

С целью идентификации приподных соединений использовали стандартные образцы свидетелей веществ: рутин (CAS № 153-18-4, производитель Acros), кверцетин (CAS № 6151-25-3, производитель Alfa Aesar), гиперозид (CAS № 482-36-0, производитель AppliChem), нарингенин (CAS № 615-27-3, производитель Andy Biotech), лютеолин (CAS №491-70-3, производитель Sigma), лютеолин-7-гликозид (CAS № 5373-11-5, производитель Sigma), галловая кислота (CAS № 149-91-7, производитель

Acros), катехин (CAS №18829-70-4, производитель Sigma), танин (CAS №1401-55-4, производитель Acros), хлорогеновая кислота (CAS №327-97-9, производитель Fluka), кофейная кислота (CAS №331-39-5, производитель Fluka).

Метод газовой хроматографии с масс-детектором

Для исследования компонентного состава эфирных масел, полученных из изучаемых образцов монарды применяли метод газовой хроматографии с масс-детектором. Условия, при которых проводилось исследование:

- газовый хроматограф марки «Agilent», модель 7820N, масс-селективный детектор модели 5975;
- колонка каплеярная марки HP-5MS (размеры 30 м x 0,25 мм, толщина пленки фазы 0,25 мкм);
- температура инжектора 280⁰С, интерфейса детектора 280⁰С;
- начальная температура колонки термостата 50⁰С, конечная - 280⁰С;
- изменение температуры колонки - 10 град/мин.;
- газ-носитель-гелий;
- объем вводимой пробы – 1 мкл, пробу вводили в режиме с делением потока 40:1;
- масс-селективный детектор работал в режиме электронного удара (70 эВ).

Идентификацию компонентов производили по масс-спектрам электронного удара, фиксируя названия соединений; времена удерживания; величины количественного вклада в сумму соединений эфирного масла; индекс сходства (Match quality) библиотечного и полученного спектров. При этом индекс сходства с величиной более 90% свидетельствовал об оптимальном совпадении соединений. Полученные масс-спектры сравнивали с библиотечными масс-спектрами.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Анализ фенольных соединений травы монарды осуществляли с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Условия: хроматограф «Gilson», модель 305; металлическая колонка размером 4,6 x 250 мм; неподвижной фазой является Kromasil C18, размер частиц -5 мкм; подвижная фаза представляла собой смесь растворителей: «метанол—вода—концентрированная фосфорная кислота», отношение 400:600:5. Анализ делали при комнатной температуре, подача элюента составляла 0,8 мл/мин, время анализа - 70 минут. Детектирование осуществляли при длине волны 254 нм с применением УФ детектора [12]. Для анализа использовали спиртовое извлечение из травы монарды (70% спирт этиловый), фильтр с диаметром пор 0,25 мкм, объем пробы — 20 мкл.

Параллельно готовили серию 0,05% растворов сравнения: рутина, кверцетина, лютеолин-7-гликозида, лютеолина, гиперозида, нарингенина, катехина, галловой, хлорогеновой и кофейной кислот с чистотой более 95%. Компьютерная обработка результатов исследования проводилась с помощью программы Мультихром для Windows. Оценку количественного соотношения идентифицированных веществ в исследуемых образцах проводили по площади пиков. Расчет фенольных соединений вели по формуле:

$$X = \frac{m_{\text{ст.}} * S * 25 * 100 * 100}{S_{\text{ст.}} * m * V_1 * (100 - W)}$$

$m_{\text{ст.}}$ - масса стандарта в граммах;

$S_{\text{ст.}}$ - площадь пика стандарта;

m - масса сырья в граммах;

S - площадь пика исследуемого образца;

V_1 - объем пробы введенную в колонку.

Метод спектрофотометрии

Спектрофотометрическое изучение проводили на спектрофотометре марки Shimadzu UV-1800, толщина слоя кюветы составляла 10 мм. Метод использовался для качественной и количественной оценки фенольных соединений, содержащихся в траве монарды. Для количественного определения флавоноидов осуществляли дифференциальную спектрофотометрию с добавлением комплексообразующих добавок [13, 14, 23, 45].

Рентгенофлуоресцентный метод

Для изучения содержания аминокислот, макро- и микроэлементов в траве монарды использовали рентгенофлуоресцентный метод. Условия проведения: спектрометр марки «Pacific Scientific-6520», программное обеспечение спектрометра дает возможность исследовать пробы «бесстандартным» способом с погрешностью 1-10 %, в зависимости от исследуемого объекта. Вспомогательная калибровка устройства по откалиброванным стандартам, приводит к сокращению погрешности меньше $\pm 0,1$ % [23].

2.2.4. Количественный анализ биологически активных веществ

Количественное определение биологически активных веществ, содержащихся в траве различных видов монарды, проводили с применением различных методов и подбором оптимальных условий их проведения.

Полисахариды

Спектрофотометрический метод определения полисахаридов в пересчете на глюкозу проводили при длине волны 460 нм [97]. Содержание суммы моносахаридов после гидролиза полисахаридов в пересчете на глюкозу и абсолютно сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 1 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 20 \cdot 5 \cdot (100 - W) \cdot 100 \cdot 25 \cdot 25}$$

где

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора СО глюкозы;

a_0 – навеска СО глюкозы, г;

a – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Приготовление раствора СО глюкозы. В мерную колбу на 100 мл отвешивали 0,1400 г (аналитическая навеска) глюкозы, растворяли в воде, далее доводили объем раствора водой до метки. 10 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивали. 1 мл раствора содержит 0,00056 г глюкозы.

Каротиноиды

Спектрофотометрическим методом проводили определение каротиноидов в пересчете на β -каротин при длине волны 450 нм [24]. Содержание суммы каротиноидов (X) в пересчете на β -каротин и абсолютно сухое сырье в мг % вычисляли по формуле:

$$X = \frac{K \cdot 100 \cdot V \cdot A \cdot 100}{a \cdot 0,2 \cdot A_0 \cdot (100 - W)} \quad \text{где}$$

K – количество β -каротина в 1 мл стандартного раствора 0,00208 мг бихромата калия;

V – гексановый раствор каротиноидов, мл;

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора СО $K_2Cr_2O_7$;

a – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Приготовление СО бихромата калия $K_2Cr_2O_7$. 0,360 г бихромата калия перекристаллизованного помещают в мерную колбу на 1000 мл и добавляют воды, дистиллированной до метки, перемешивают.

Сапонины

Спектрофотометрический метод определения сапонинов в пересчете на урсоловую кислоту проводили при длине волны 310 нм [14]. Содержание соединений тритерпеновой природы в пересчете на урсоловую кислоту и абсолютно сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V \cdot 100}{331,6 \cdot a \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

A - оптическая плотность испытуемого раствора;

V - объем испытуемого раствора, мл;

a - навеска сырья, г;

331,6 - удельный показатель поглощения урсоловой кислоты;

W - влажность сырья, %.

Приготовление раствора СО кислоты урсоловой. Около 0,04 г (аналитическая навеска) урсоловой кислоты растворяли в 100 мл в концентрированной серной кислоте при постоянном помешивании. Раствор помещали в термостат на 60 минут при температуре 70°C. Охлаждали, и 1 мл раствора переносили в мерную колбу на 10 мл, и доводили до метки концентрированной кислотой серной.

Оксикоричные кислоты

Спектрофотометрический метод определения суммы оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту проводили при длине волны 325 нм [59]. Содержание суммы оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{782 \cdot a \cdot 5 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

a – масса сырья, г;

782 – удельный показатель поглощения кофейной кислоты при 325 нм;

W – влажность сырья, %.

Кумарины

Спектрофотометрический метод определения кумаринов в пересчете на кумарин проводили при длине волны 310 нм [98]. Содержание кумаринов (X) в пересчете на кумарин и абсолютно сухое сырье в процентах рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{782 \cdot a \cdot 5 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

A - оптическая плотность испытуемого раствора;

a – навеска сырья, г;

356 - удельный показатель поглощения кумарина в хлороформе;

W - влажность сырья, %.

Органические кислоты и аскорбиновая кислота

Титриметрический метод определения содержания свободных органических кислот проводили по методике, приведенной в ГФ XI издания с подбором оптимальных условий проведения [21, 23].

Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 10 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натра едкого (0,1 моль/л), г;

V – объём р-ра NaOH (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, мл;

a – масса сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Титриметрический метод определения аскорбиновой кислоты проводили по методикам, приведенным в ГФ XI и ГФ-XIV издания с подбором оптимальных условий их проведения [21, 23]. Содержание

аскорбиновой кислоты в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,000088 \cdot 300 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 1 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

0,000088 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), в г;

V - объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л), пошедшего на титрование, мл;

a - масса сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Примечания. Приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л): 0,22 г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия растворяют в 500 мл свежeproкипяченной и охлажденной воды при энергичном взбалтывании (для растворения навески раствор оставляют на ночь). Раствор фильтруют в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки. Срок годности раствора не более 7 суток при условии хранения в холодном, темном месте

Дубильные вещества

Содержание дубильных веществ проводили с применением двух методов:

1) Титриметрический метод определения дубильных веществ в пересчете на танин [23]. Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

V – объем р-ра КМnO₄ (0,02 моль/л), израсходованного на титрование испытуемого раствора, мл;

V₁ - объем р-ра КМnO₄ (0,02 моль/л), израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл р-ра КМnO₄ (0,02 моль/л) (в пересчете на танин), г ;

a - масса сырья, г;

W – влажность сырья, %;

250 - общий объем извлечения, мл;

25 – объем извлечения, взятого для титрования, мл.

2) Спектрофотометрический метод определения дубильных веществ в пересчете на катехин при длине волны 545 нм [25]. Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на катехин сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 200 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 25 \cdot 200 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 - оптическая плотность стандартного раствора катехина;

a – масса сырья, г;

a_0 – масса навески стандарта, г.;

W – влажность сырья, %.

2.2.5. Исследование биологической активности

Исследование острой токсичности

Определение острой токсичности травы монарды проводили на 24 белых мышах мужского и женского пола весом от 18,0 - 22,0 грамма при однократном пероральном введении в дозе: 5000, 7500, 10000 мг/ кг. В каждой группе по 6 животных. Водные извлечения из травы монарды готовили по методике ГФ XIII издания (соотношение 1:10) [23].

Оценку токсичности водных извлечений из травы монарды проводили по изменению состояния мышей, наблюдая за их внешним видом, активностью, поведенческой реакцией, частотой дыхания в течение 14 дней с учетом требований «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных»

(1985). Показатели острой токсичности рассчитывали по методу Литчфильда и Уилкоксона [8].

Антиоксидантная активность

Оценку антиоксидантной активности водных извлечений из травы монарды осуществляли с использованием метода хемилюминесценции на приборе «Хемилюминомер ХЛМ-003». Водные извлечения из травы монарды готовили по методике ГФ XIII издания (соотношение 1:10) [23].

Полученные извлечения из травы монарды вносили в объемах 0,01 мл, 0,1 мл и 1 мл в системы: «Моделирующие процессы выработки активных форм кислорода» - АФК и «Перекисного окисления липидов» - ПОЛ [94]. В качестве контроля служили модельные системы без добавления исследуемых водных извлечений. Главными характеристиками хемилюминесценции являлись светосумма свечения и амплитуда максимального свечения. [94].

Модельная система – генератор АФК, состояла из фосфатного буфера, в количестве 10 мл, люминола (10 мМ) и цитрата натрия (50 мМ). Величину pH системы доводили до 7,5 путем титрования 0,1 Н раствором едкого калия. Инициатором окисления является 50мМ раствор сульфата железа (II) 1 мл. Окисление солей Fe^{2+} приводит к появлению кислородных радикалов, в результате чего образуется хемилюминесценция, которая усиливается в присутствии люминола. Регистрация свечения продолжалась в течение 5 минут при постоянном перемешивании.

В качестве другой модели для оценки действия водных извлечений на ПОЛ готовили липопротеиновые комплексы из куриного желтка, сходные с липидами крови. Куриный желток смешивали с фосфатным буфером в соотношении 1:5, далее гомогенизировали и разбавляли в 20 раз. Проба липопротеинового комплекса составляла 10 мл. Хемилюминесценцию инициировали путем добавления в систему 1 мл 50 мМ раствора Fe^{2+} , который запускал процесс окисления ненасыщенных кислот, входящих в состав липидов.

Противовоспалительная активность

Оценку противовоспалительной активности проводили на скрининговой модели формалинового отека лапки у мышей [99]. В исследовании проводили на 36 белых беспородных мышей-самцов, массой которых составляла 18,0 – 24,0 грамм, двигательной активности средней. Непосредственно перед экспериментом мышей помещали в карантин на 10-14 дней, далее исследуемый настой из различных видов монарды вводили мышам внутрижелудочно. Острое воспаление провоцировали путем субплантарным введением 0,05 мл 1% раствора формалина под подошвенный апоневроз правой лапки мыши, который в определенный период времени сформировал отек лапки мышей.

Антимикробная активность

Анализ антимикробной активности исследуемых растворов травы монарды проводили диско-диффузным методом. Колонии засеивали в чашках Петри. Суспензию из бактерий (бактериальная суспензия) готовили с применением метода прямого суспензирования в стерильном изотаническом растворе колоний культуры бактерий, в течение 18-24 часов, на плотной неселективной питательной среде. Предварительно простерилизованной бактериологической петлей собирали небольшие колонии, которые далее были суспензированы в растворе изотаническом. Затем полученной бактериальной суспензии засеивали агар-агар сплошным газоном, после чего на поверхность питательной среды наносили методом аппликации пенцетом диски. Диски предварительно были пропитаны исследуемым раствором, а расстояние между дисками и краями чашки Петри не превышало 20 мм, при этом в одну чашку помещалось до 6 дисков. После чашки помещали в термостат, температура внутри составляла 35⁰С, инкубирование проводили в течение 24 часов. По истечении времени чашки вынимали, переворачивали кверху дном и помещали на матовую поверхность темного цвета.

Штангласциркулем проводили измерение диаметра зон задержки роста микроорганизмов с точностью до одного мм[75].

2.2.6. Статистическая обработка результатов исследований

Статистическую обработку результатов исследования проводили стандартными методами вариационной статистики (программы «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0»). Для отрицания «нулевой» гипотезы использовали U-тест Манна-Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $P < 0,05$ [23]. Достоверность различий между выборками определялась по непараметрическому U-критерию Манна - Уитни.

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО – АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЫРЬЯ МОНАРДЫ

3.1. Сравнительное изучение морфологических особенностей различных видов монарды и определение показателей подлинности

Определение показателей качества сырья является необходимым условием при решении вопроса внедрения новых видов лекарственного растительного сырья в медицинскую практику. Макроскопический анализ позволяет установить подлинность сырья по наличию диагностических признаков в соответствии с требованиями ГФ РФ - XIV издания [23]. При проведении анализа осуществляли осмотр составных компонентов аналитической пробы сырья визуально и с помощью лупы (10х), обращая внимание на характер растительного сырья, цвет, запах. При этом выявляли морфологические признаки характерные для различных видов монарды. Сравнительный макроскопический анализ видов монарды представлен в таблице 2. Анализируя полученные результаты можно отметить, что по морфологическим признакам виды монарды имеют много общего, а именно, у всех видов стебель четырехгранный, прямостоячий, облиственный, опушенный; листорасположение супротивное; листья простые, короткочершковые, жилкование перисто-краевое; цветки у всех видов 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 монарды лимонной – ланцетный; край листовой пластинки у всех видов зубчатый, у монарды лимонной - пильчатый. У всех видов монарды соцветия в виде шаровидных головок на концах основных и боковых побегов, состоящие из 30 – 50 цветков, кроме монарды лимонной, у которой соцветие многоярусное из 5-7 мутовок, состоящих из 15 цветков.

Таблица 2 - Сравнительная характеристика видов монарды по морфологическим признакам

Морфологический признак	Вид монарды				
	<i>Monarda fistulosa</i> L.	<i>Monarda didyma</i> L.	<i>Monarda hybrida</i> L.	<i>Monarda citriodora</i> Cerv. Ex Lag.	<i>Monarda Rassela</i> L.
1	2	3	4	5	6
Внешний вид					
Жизненная форма	Многолетнее травянистое растение	Многолетнее травянистое растение	Многолетнее травянистое растение	Однолетнее травянистое растение	Многолетнее травянистое растение
Высота	от 100 до 110 см	от 70 до 120 см	от 80 до 90 см	от 60 до 80 см	от 70 до 90 см
Стебли	Тонкие, четырёхгранные, прямостоячие, облиственные, зелёного цвета с красноватым или коричневым оттенком, полые, опушение по ребрам. Листорасположение супротивное.	Мелковорсистые прямостоячие, четырёхгранные, облиственные, зелёного цвета с красноватым оттенком по ребрам, полые, опушение по ребрам. Листорасположение супротивное.	Прямостоячие, четырёхгранные, облиственные, зелёного цвета с красноватым оттенком по ребрам, полые, слегка опушенные. Листорасположение супротивное.	Прямостоячие, четырёхгранные, малооблиственные, зелёного цвета, полые, опушенные. Листорасположение супротивное.	Прямостоячие, четырёхгранные, облиственные, серовато-зелёного цвета, полые, опушенные. Листорасположение супротивное.

Листья	Простые, короткочерешковые, продолговато-яйцевидной формы, зеленые, края зубчатые, с нижней стороны опушены по центральной жилке, сверху – голые; жилкование перисто – краевое; верхние стеблевые листья длиной от 2 до 5 см, нижние – 6-10 см. 	Простые, короткочерешковые, продолговато-яйцевидной формы, светло-зеленые с красноватыми прожилками, края крупно-зубчатые; с нижней стороны негусто опушенные, сверху – голые; жилкование перисто-краевое; верхние стеблевые листья длиной от 2 до 5 см, нижние – 7-15 см. 	Простые, короткочерешковые, продолговато-яйцевидной формы, зеленые, края зубчатые; с нижней стороны слегка опушенные, сверху – голые; жилкование перисто – краевое; верхние стеблевые листья длиной от 2 до 5 см, нижние – 6-12 см. 	Простые, короткочерешковые, ланцетной формы, серовато-зеленые, края пильчатые, с нижней стороны слегка опушенные, сверху – голые; жилкование перисто – краевое; верхние стеблевые листья длиной от 2 до 4,5 см, нижние – 7-11 см. 	Простые, короткочерешковые, продолговато-яйцевидной формы, серо-зеленые, края зубчатые, с нижней стороны опушенные, сверху – голые; жилкование перисто – краевое; верхние стеблевые листья длиной от 2 до 4 см, нижние – 8-12 см. 
Прилистники	Имеются, длина 0,5-1,5 см, края зубчатые, верхняя сторона голая, нижняя опушена по жилкам	Имеются, длина 0,5-2,0 см, края зубчатые, верхняя сторона голая, нижняя-опушенная	Имеются, длина 1,0-2,0 см, края зубчатые, верхняя сторона голая, нижняя-опушенная	Имеются, длина 0,5-1,5 см, края пильчатые, верхняя сторона голая, нижняя-опушенная	Имеются, длина 1,0-1,5 см, края зубчатые, верхняя сторона голая, нижняя-опушенная
Цветки и соцветия	 Обоеполые, трубчатые, верхняя губа узкая, нижняя шире, андроцей из 4 тычинок, геницей ценнокарпный. Окраска венчика розовая, лиловая, фиолетовая. Цветки собраны в шаровидные головки (50 цветков), d=3-5см, на цветоносе до 9 головок.	Обоеполые, трубчатые, верхняя губа узкая, нижняя чуть шире, андроцей из 4 тычинок, геницей ценнокарпный. Окраска венчика лиловая или фиолетовая. Цветки собраны в шаровидные головки из 30 цветков, d= 3-4 см.	Обоеполые, трубчатые, верхняя губа узкая, нижняя шире, андроцей из 4 тычинок, геницей ценнокарпный. Окраска венчика розовато-красная. Цветки собраны в шаровидные головки (30 цветков), d= 3см, на цветоносе 4-6 головок.	Обоеполые, трубчатые, верхняя губа узкая, нижняя шире, андроцей из 4 тычинок, геницей ценнокарпный. Окраска венчика светло-лиловая. Цветки собраны в шаровидные головки 15 цветков, в несколько ярусов из 5-7 мутовок.	Обоеполые, трубчатые, верхняя губа узкая, нижняя чуть шире, андроцей из 4 тычинок, геницей ценнокарпный. Окраска венчика белая или пурпурная. Цветки собраны в шаровидные головки из 30 цветков, диаметром 3-4 см.

Таким образом, учитывая морфологические особенности различных видов монарды, можно отметить, что для заготовки и получения сырья «Монарды трава» могут использоваться все пять видов монарды: *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda hybrida* L., *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag. и *Monarda Rassela* Nut.. При этом необходимо выделить следующие внешние признаки сборного образца сырья, состоящего из смеси разных видов, которые планируется включить в фармакопейную статью на сырье «Монарды трава»:

Внешние признаки: верхние части стеблей с листьями, цветками, могут встречаться отдельные листья, прилистники, цветки, части стеблей или соцветий. Стебли полые, четырехгранные, опушенные или частично опушенные по ребрам. Листья супротивные, простые, короткочерешковые, продолговато-яйцевидные или ланцетные (у *M. citriodora*), зубчатые или пильчатые (у *M. citriodora*), с верхней стороны голые, с нижней – опушенные, длиной 6 -15 см (нижние листья), 2 - 5 см (верхние стеблевые). Цветки многочисленные (30-50 или 15 (у *M. citriodora*)), собраны в одиночные шаровидные головки на концах основных и боковых побегов или многоярусные 5-7 мутовок (у *M. citriodora*). Цветки обоеполые, чашечка длиной 1,5-2,0 см, трубчатая с пятью зубцами и многочисленными волосками, венчик двугубый, верхняя губа узкая, нижняя – более широкая и свисающая, тычинок 4, завязь верхняя. Плод – ценобий, мелкий сухой, распадающийся на четырехгранные орешки длиной 1-1,5 мм.

Цвет стеблей зеленый с красноватым или коричневым оттенком, листьев – от серовато-зеленого до зеленого, чашелистиков – зеленый, лепестков венчика - фиолетовый, лиловый, розовато-красный, пурпурный или белый. Запах сильный, специфический, ароматный. Вкус водного извлечения горьковато-вяжущий.

3.2.Анатомо-диагностические признаки травы монарды

Изучение микродиагностических признаков различных видов монарды проводили в соответствии с «Техникой микроскопического анализа лекарственного растительного сырья» согласно ГФ XIV издания [23], последовательно изучая отдельные составные части, входящие в состав морфологической группы сырья «Трава» различных видов монарды. В результате исследования нами были выделены анатомические признаки отдельных частей растений, которые проявлялись у всех пяти видов монарды. Обобщенные данные анатомо-диагностического исследования стеблей, листьев, прилистников, чашечки, венчика различных видов монарды представлены ниже и на рисунках 7 - 40.

Микродиагностические признаки, характерные для стебля

Эпидермис стебля представлен крупными прямоугольными, вытянутыми вдоль стебля клетками, расположенными плотно друг к другу, ближе к центру клетки приобретают многоугольную форму. На поверхности эпидермиса диагностированы многочленные простые волоски с гладкой поверхностью и 8-12 клеточные эфиромасличные железки (рисунки 7-10).

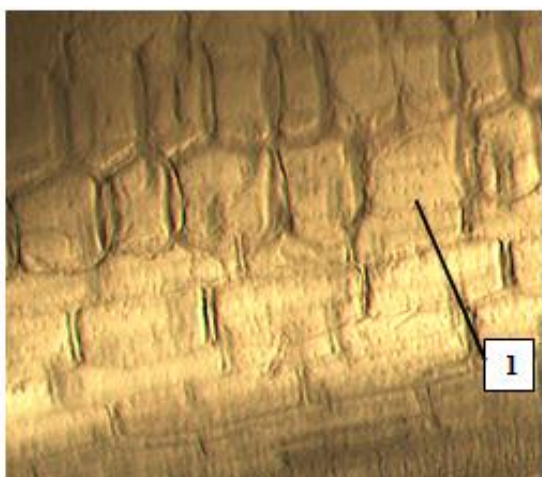


Рисунок 7 - Эпидермис стебля (x200). Обозначения: 1- клетки многоугольные.

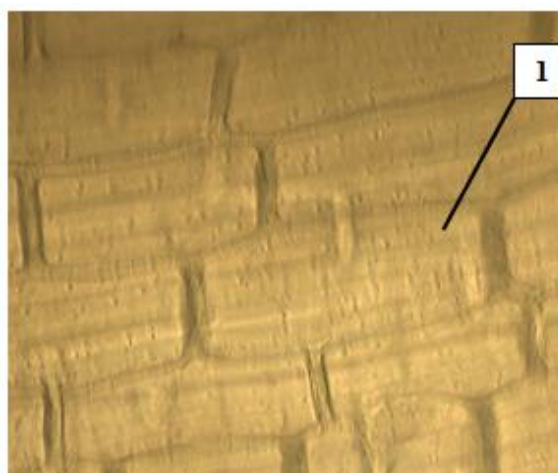


Рисунок 8 - Эпидермис стебля (x200). Обозначения: 1- клетки прямоугольные с утолщенными стенками.



Рисунок 9 - Поверхность стебля (x200). Обозначения: 1-эфиромасличная железа.

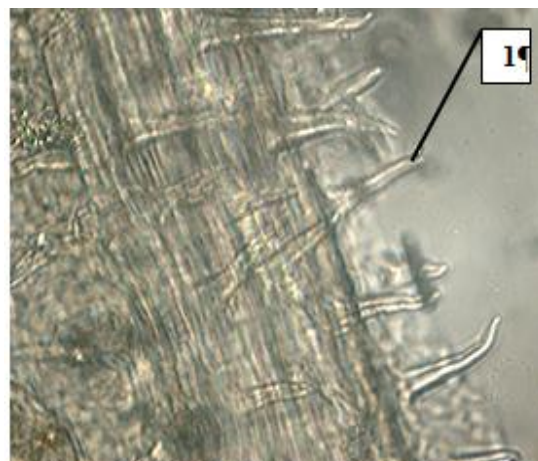


Рисунок 10 - Поверхность стебля (x200). Обозначения: 1- простые волоски.

Микродиагностические признаки, характерные для листьев

Верхний эпидермис листовой пластинки состоит из многоугольных, слегка утолщенных клеток (рисунок 11); нижний эпидермис образован извилистостенными клетками (рисунок 12); устьица крупные, имеются только на нижней стороне листа (гипостоматический тип) и окружены двумя околоустьичными клетками, которые расположены перпендикулярно устьичной щели (диацитный тип) (рисунок 13). Форма устьиц в основном округлая, реже овальная. На нижней стороне листа в большом количестве присутствуют округлые эфиромасличные железы, состоящие из 8-12 выделительных клеток, расположенных радиально, клетки эпидермиса вокруг места прикрепления железы образуют розетку (рисунок 14).

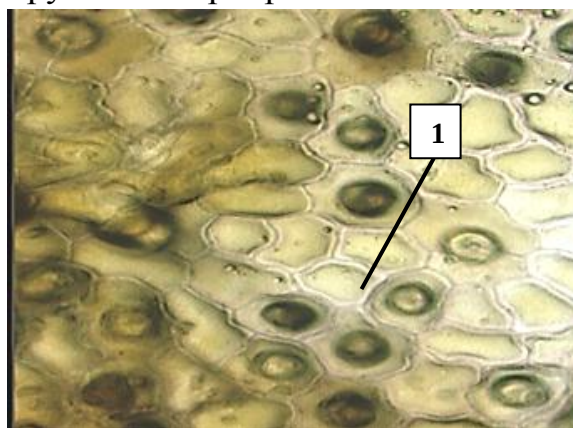


Рисунок 11 - Верхний эпидермис листа (x200). Обозначения: 1-клетки многоугольные, с утолщённой стенкой.

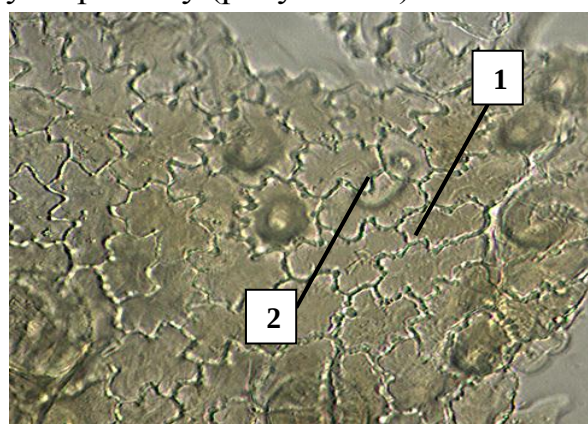


Рисунок 12 - Нижний эпидермис листа (x200). Обозначения: 1-клетки извилистостенные, 2-головчатый волосок.

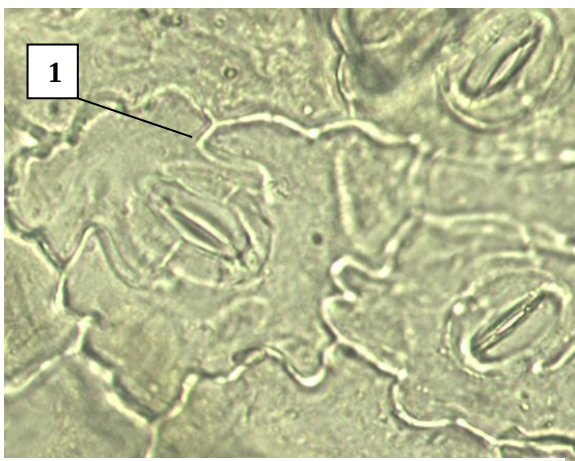


Рисунок 13 - Нижний эпидермис листа (x400). Обозначения: 1- устьичный аппарат диацитного типа.



Рисунок 14 - Нижний эпидермис листа (x400). Обозначения: 1- эфиромасличная железа.

Центральная жилка сильно выделяется, проводящие ткани представлены одним крупным проводящим пучком. Эпидермис над жилкой состоит из нескольких рядов вытянутых в прямоугольную форму клеток, которые плотно смыкаются между собой (рисунки 15, 16, 21). Характерно наличие нескольких типов волосков: остро-конусовидные, наклоненные к поверхности листа; простые волоски, расположенные по краю листовой пластинки; многоклеточные, 3-5 клеточные волоски; головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на короткой одноклеточной ножке, простые волоски с изогнутой верхушкой; вдоль жилки густо располагаются простые одноклеточные волоски с ровной поверхностью (рисунки 17-20).

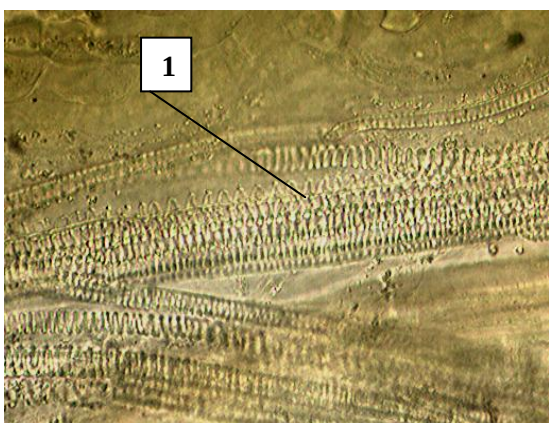


Рисунок 15 - Центральная жилка листа (x400). Обозначения: 1- спиральные сосуды жилки.



Рисунок 16 - Эпидермис центральной жилки листа (x400). Обозначения: 1- прямоугольные клетки, 2- эфиромасличная железа.

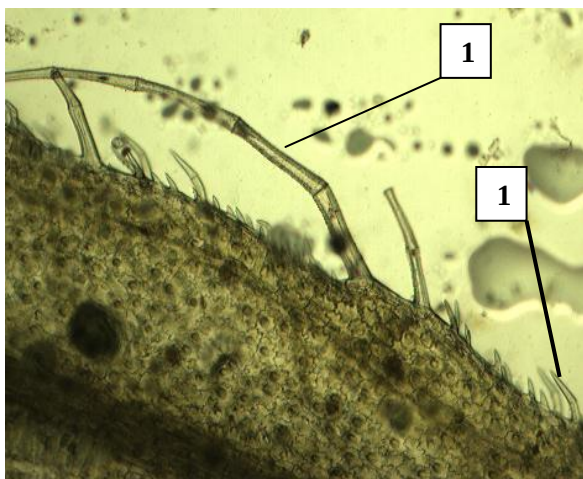


Рисунок 17 - Край листа (x100).
Обозначения: 1- простые волоски,
2-многоклеточный волосок.

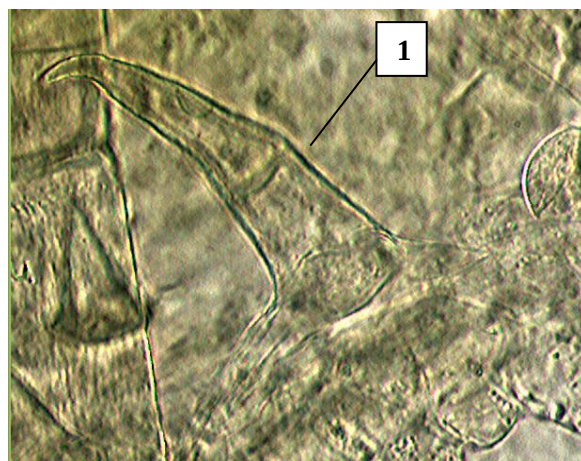


Рисунок 18 - Нижний эпидермис
листа (x400). Обозначения: 1-
простой двухклеточный волосок
сизогнутой верхушкой



Рисунок 19 - Нижний эпидермис листа (x400). Обозначения: 1-
головчатый волосок, 2- устьице, 3-
волоски остро-конусовидные,
наклоненные к поверхности

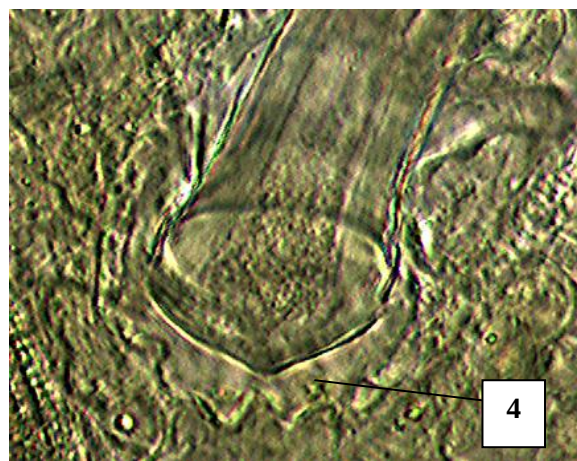
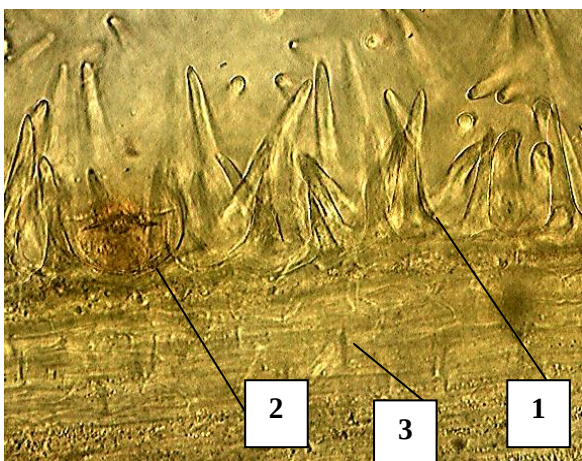
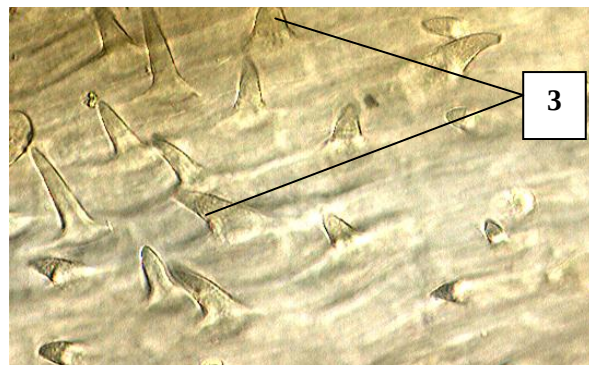
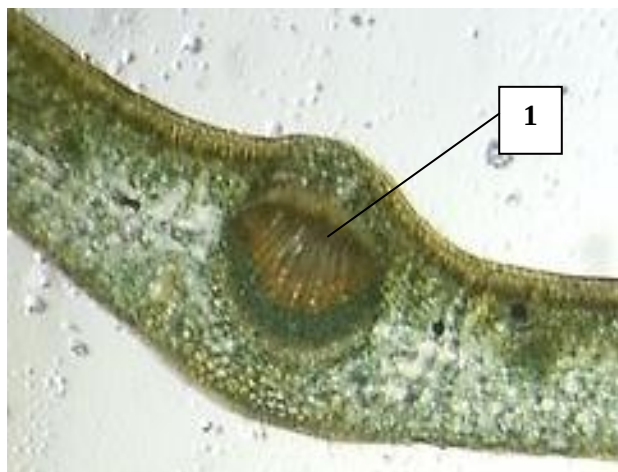


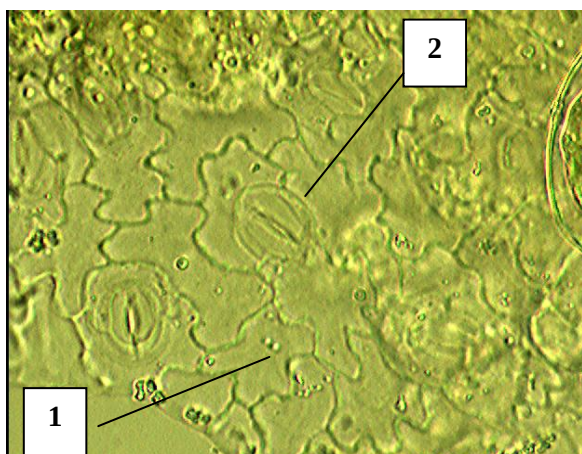
Рисунок 20 - Нижний эпидермис листа (x400). Обозначения: 1- простые
одноклеточные волоски вдоль жилки, 2- эфиромасличная железа, 3-
клетки эпидермиса центральной жилки, 4 – место прикрепление волоска.



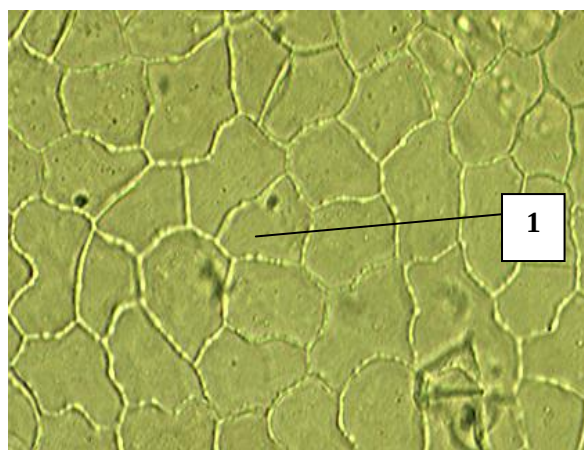
*Рисунок 21 - Поперечный срез листа (x100).
Обозначение: 1 - проводящий пучок
открытый коллатеральный.*

Микродиагностические признаки, характерные для прилистников

При рассмотрении прилистника обнаружено, что верхний эпидермис представлен многоугольными, а нижний извилистыми клетками, устьичный аппарат диацитного типа (окружены двумя перпендикулярно расположенными друг к другу клетками), встречаются головчатые, многоклеточные и простые волоски. Эфиромасличные железы располагаются на нижней стороне прилистника (рисунки 22-24).



*Рисунок 22 - Нижний эпидермис
прилистника (x200). Обозначения:
1- извилистые клетки, 2 -
устьичный аппарат.*



*Рисунок 23 - Верхний эпидермис
прилистника (x200). Обозначения:
1- многоугольные клетки.*

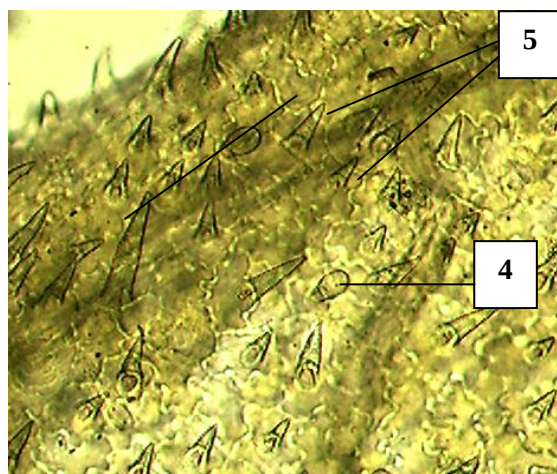
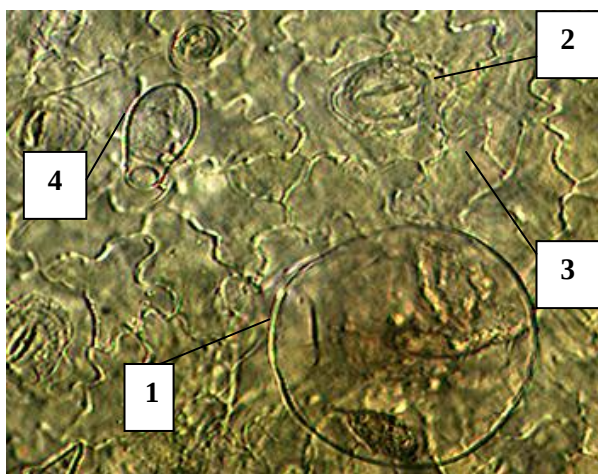


Рисунок 24 - Нижний эпидермис прилистника (x200). Обозначения: 1-эфиромасличная железа, 2- устьичный аппарат, 3- извилистые клетки, 4 –головчатый волосок, 5 – остро-конусовидные волоски.

Микродиагностические признаки, характерные для чашечки

Эпидермис чашечки представлен сильно извилистыми клетками, которые у основания приобретают многоугольную вытянутую форму, устьичный аппарат диацитного типа. Основание не имеет волосков, а по краю зубцов чашечки имеются многочисленные простые многоклеточные волоски. На внешней стороне чашечки располагаются волоски двух типов: одноклеточные и головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на короткой одноклеточной ножке, на внутренней стороне имеются эфиромасличные железы и простые двухклеточные волоски с одноклеточной головкой (рисунки 25-30).

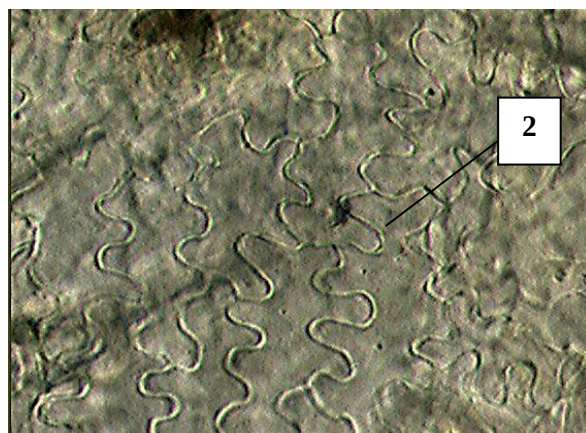
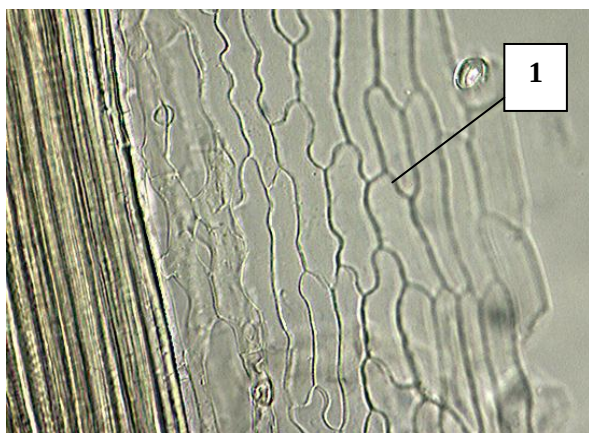


Рисунок 25 - Эпидермис чашечки (x400). Обозначения: 1 - клетки многоугольной вытянутой формы, 2 – сильноизвилистые клетки.

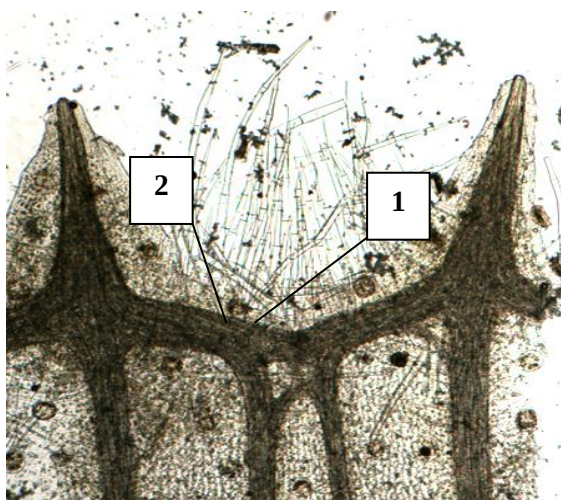


Рисунок 26 - Фрагмент чашечки (x100). Обозначения: 1-простые волосы, 2 – эфиромасличные железы.



Рисунок 27 - Внутренняя сторона чашечки (x200). Обозначения: 1 – эфиромасличная железа.



Рисунок 28 - Внутренняя сторона чашечки (x400). Обозначения: 1 – простые двухклеточные волосы с одноклеточной головкой.

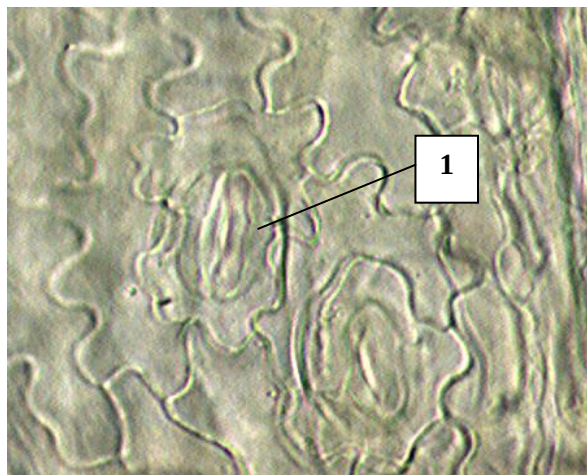


Рисунок 29 - Внешняя сторона чашечки (x400). Обозначения: 1 – устьичный аппарат.

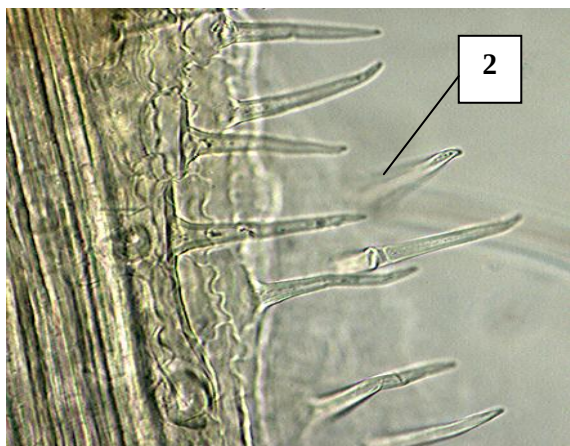
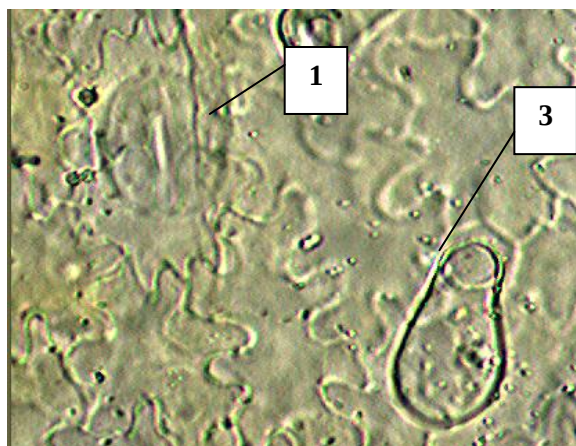


Рисунок 30 - Внешняя сторона чашечки (x200). Обозначения: 1 – устье, 2 – многочисленные простые волосы, 3 - головчатый волосок.



Микродиагностические признаки, характерные для венчика

Эпидермис верхней стороны лепестков образован сильноизвилистыми клетками, у основания и по краю клетки прямоугольной вытянутой формы плотно прилегают друг к другу, эпидермис внутренней стороны представлен слабоизвилистыми клетками; устьичный аппарат диаитного типа встречаются редко, в большом количестве присутствуют эфиромасличные железы, простые многоклеточные волоски с грубобородавчатой поверхностью, головчатые волоски, простой одноклеточный волосок с одноклеточной головкой, по краям лепестка располагаются сосочковидные волоски; а так же встречаются группы простых одноклеточных, двухклеточной волосков, с возможным разветвлением место прикрепление у которых в виде валика (рисунки 31-40).

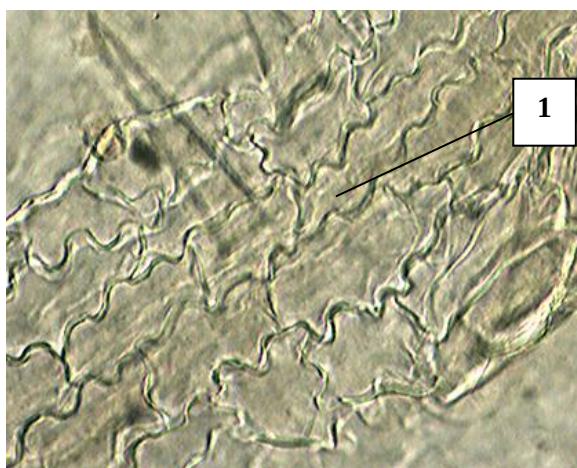


Рисунок 31 - Верхний эпидермис (x400). Обозначения: 1 – извилистые клетки.

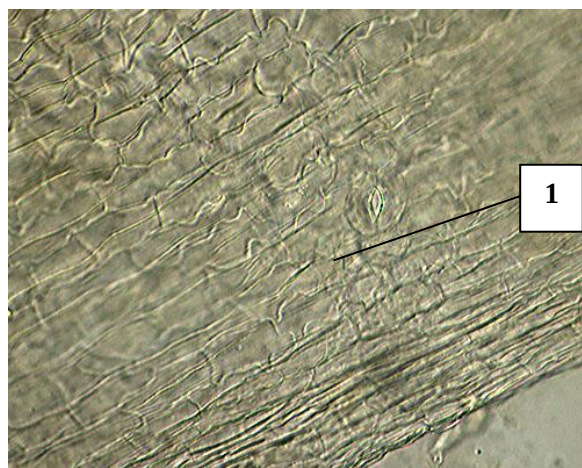


Рисунок 32 - Эпидермис края венчика (x400). Обозначения: 1 – прямоугольные клетки.

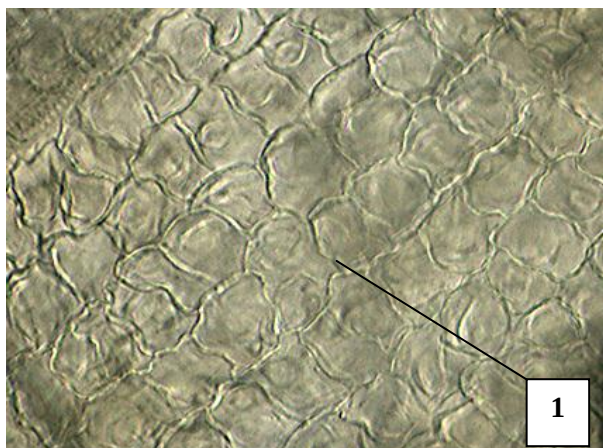


Рисунок 33 - Нижний эпидермис (x400). Обозначения: 1 – слабоизвилистые клетки.

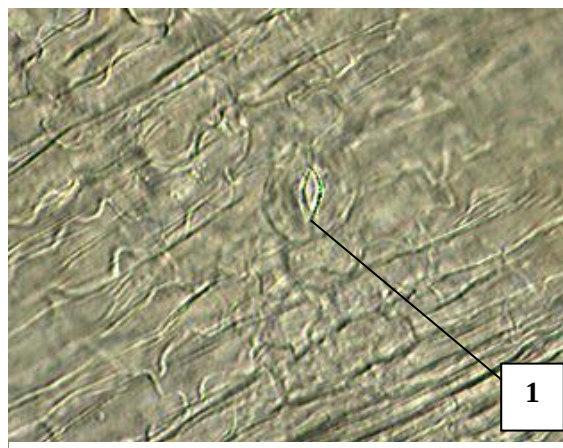


Рисунок 34 - Эпидермис венчика (x400). Обозначения: 1 – устьичный аппарат.

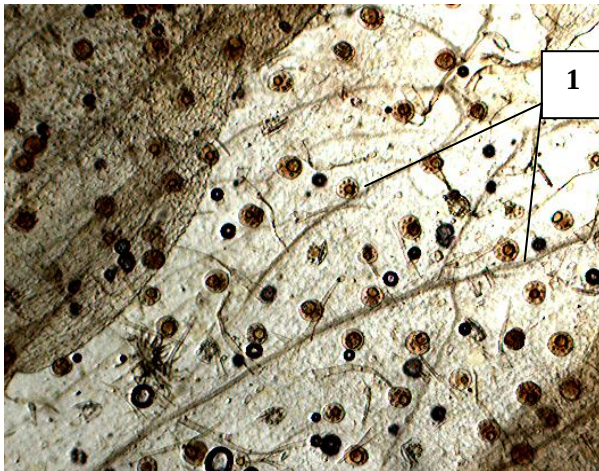


Рисунок 35 – Фрагмент венчика (x100). Обозначения: 1-железки.



Рисунок 36 – Эпидермис венчика. (x400). Обозначения: 1- железка на одноклеточной ножке

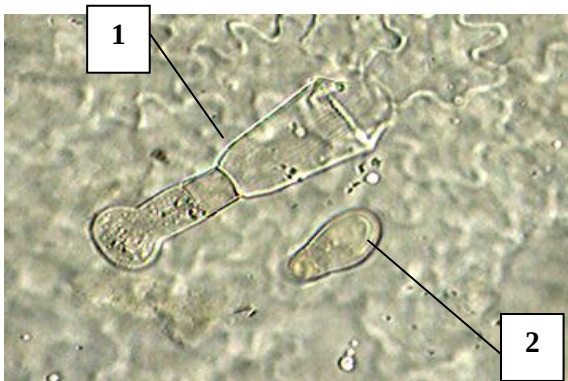


Рисунок 37- Эпидермис венчика (x400). Обозначения: 1 – простой одноклеточный волосок с одноклеточной головкой, 2 – головчатый волосок.

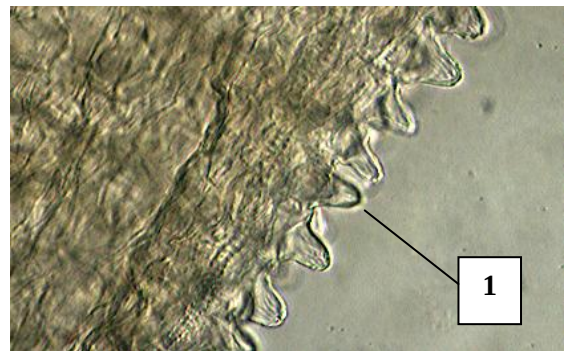


Рисунок 38 - Край венчика (x200). Обозначения: 1 – сосочковидные волоски.

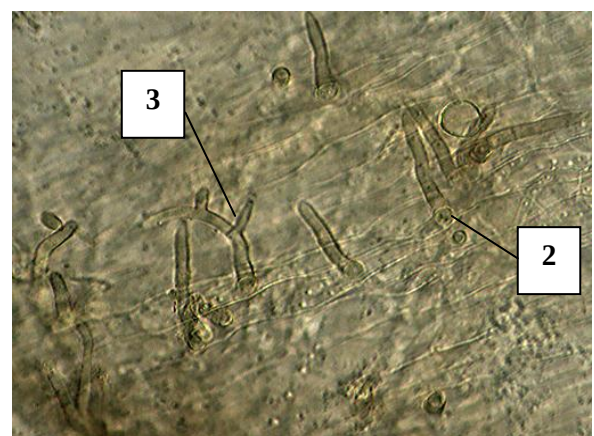
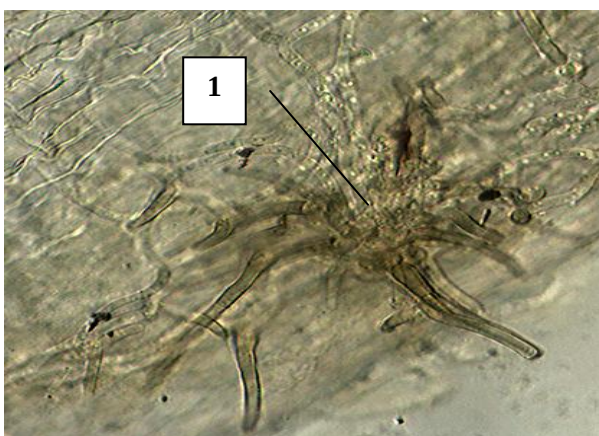


Рисунок 39 - Эпидермис венчика (x400). Обозначения: 1 – группа простых волосков, 2 – прикрепление в виде валика, 3- волосок с разветвлением.

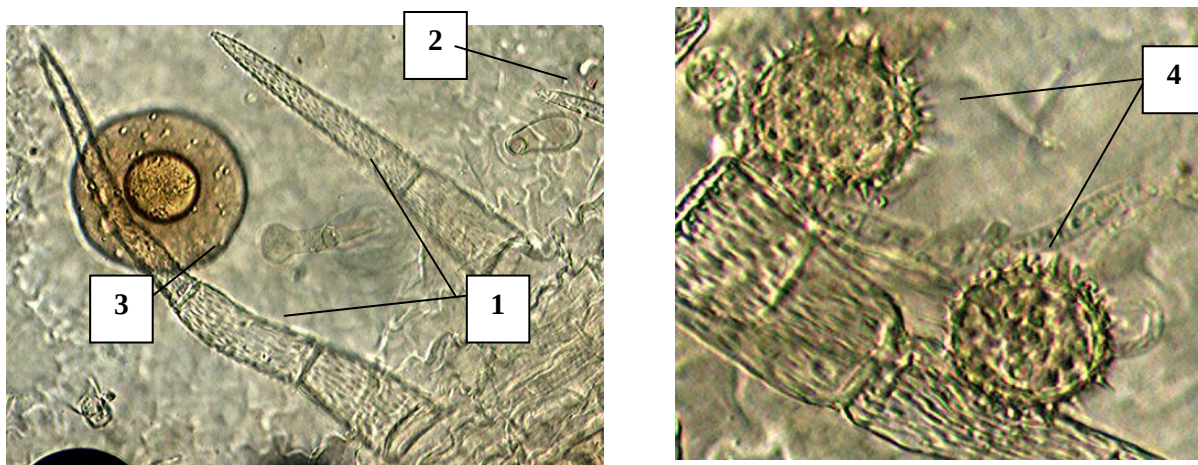


Рисунок 40 - Эпидермис венчика (x200). Обозначения: 1 – простой многоклеточный волосок с грубобородавчатой поверхностью, 2 – головчатый волосок, 3 – железа, 4- пыльцевые зерна.

В результате проведенного анатомо-диагностического исследования травы монарды выявлены диагностически значимые признаки, которые проявлялись во всех частях растений, но в большей степени в листьях, что согласуется с литературными данными по изучению биологических особенностей роста и развития видов рода монарда [41], поэтому при описании раздела «Микроскопические признаки» предлагается включить следующие признаки, характерные для сборного образца травы монарды, состоящего из смеси разных видов, которые планируется включить в фармакопейную статью на сырье «Монарды трава»:

Микроскопические признаки: многоугольные слегка утолщенные клетки эпидермиса верхней стороны листа; извилистостенные клетки эпидермиса нижней стороны листа; устьичный аппарат диацитного типа; округлые эфиромасличные железы, состоящие из 8-12 выделенных клеток, волоски различных типов, встречающихся на нижней стороне листа: простые, многоклеточные, головчатые, остроконусовидные, наклоненные к поверхности листа, простые двухклеточные с изогнутой верхушкой; фрагменты эпидермиса стебля, клетки которого продольно вытянуты с многочисленными простыми волосками и эфиромасличными железами; элементы цветка – чашелистики и лепестки с такими же диагностическими признаками, как у листьев, кроме того, извилистые клетки эпидермиса с

простыми, головчатыми волосками, простыми волосками с одноклеточной головкой, волосками с грубобородавчатой поверхностью, сосочковидными волосками по краю лепестка и пыльцевые зерна.

Таким образом, следует отметить, что растения рода монарда являются перспективными видами для успешной интродукции в Российской Федерации. Анализируя особенности морфологических и анатомо-диагностических признаков исследуемых видов монарды, были выделены признаки, имеющие общий для всех видов монарды характер и особенности, которые могут варьировать в определенном диапазоне. Полученные данные согласуются с данными других исследователей, где отмечается, что растения рода монарда отличается полиморфизмом и характеризуются широким диапазоном сходных морфологических признаков [41, 60], позволяющих объединить некоторые виды монарды, которые могут использоваться в качестве производящих растений для получения сырья – «Монарды трава», поэтому предлагается вести заготовку травы монарды от всех изучаемых видов, что планируется включить в проект фармакопейной статьи.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3:

1. Изучены морфологические особенности травы различных видов монарды и установлены внешние признаки, характерные для сборного образца травы монарды, состоящего из разных производящих растений, включающих особенности строения стеблей, листьев, цветков, соцветий, их окраску, запах и вкус.

2. Изучены микродиагностические признаки сырья монарды и выявлены диагностически значимые признаки для сборного образца травы монарды, к которым относятся строение клеток эпидермиса верхней и нижней стороны листа, устьичный аппарат, эфиромасличные железки, различные типы волосков, особенности строения фрагментов стебля, элементов цветка.

3. Определены показатели подлинности сырья монарды «Внешние признаки» и «Микроскопические признаки», характерные для сборного образца травы монарды, состоящего из разных производящих растений, необходимые для включения их в проект фармакопейной статьи «Монарды трава».

4. Установлено, что все пять видов монарды: *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda hybrida* L., *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag. и *Monarda Rassela* Nut. имеют близкие морфолого-анатомические характеристики, поэтому дальнейшей задачей является провести также сравнительное изучение их качественного и количественного состава для выявления признаков сходства и различия.

ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВИДОВ МОНАРДЫ

Следующим этапом нашей работы было сравнительное изучение химического состава пяти 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.), интродуцируемых в Республике Башкортостан и определение показателей качества лекарственного растительного сырья, необходимых для разработки нормативной документации - фармакопейной статьи на траву монарды.

4.1. Определение числовых показателей

Определение числовых показателей качества травы различных видов монарды проводили в аналитических пробах, взятых в пяти сериях в период с 2012 по 2017 г. Аналитические пробы сырья получали из средней пробы методом квартования. Были установлены такие показатели качества как: влажность, зола общая и зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты, содержание примесей органических и минеральных, в соответствие методикам ГФ-ХIII и XIV издания [22, 23]. Полученные результаты изучения показателей отражены в таблице 4.

Определение степени измельченности сырья проводили с помощью ситового анализа для цельного, измельченного сырья и порошка. При этом, для цельного сырья определялись частицы, проходящие сквозь сито с отверстием 0,5 мм; для измельченного сырья – частицы, не проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм и измельченные частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм; для порошка - измельченные частицы, не проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм и частицы, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 0,18 мм.

При оценке качества сырья немаловажное значение имеет определение такого показателя, как содержание примесей. Органические примеси были представлены частицами сырья, изменившими окраску, некоторыми частями растений, не относящимися к определенной морфологической группе, а минеральные – были очень незначительными в виде пыли, песка. Кроме того, для травы монарды определяли процентное содержание частей стеблей в растении. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты определения показателей качества видов монарды

Наименование показателя	Интервал изменения числовых показателей	Норма содержания
ИСПЫТАНИЯ		
<i>Влажность</i>		
- монарда дудчатая (трубчатая)	от 5,37 до 8,23 %	не более 10%
- монарда двойчатая	от 5,44 до 8,33%	не более 10%
- монарда гибридная	от 5,35 до 9,12%	не более 10%
- монарда лимонная	от 5,84 до 8,55%	не более 10%
- монарда Рассела	от 5,19 до 8,82%	не более 10%
<i>Показатели для сборного образца сырья «Монарды трава»</i>	от 5,15 до 9,38%	не более 10%
<i>Зола общая</i>		
- монарда дудчатая (трубчатая)	от 7,85% до 9,43%	не более 10%
- монарда двойчатая	от 7,15% до 9,38%	не более 10%
- монарда гибридная	от 7,36% до 9,22%	не более 10%
- монарда лимонная	от 7,60% до 9,54%	не более 10%
- монарда Рассела	от 7,45% до 9,64%	не более 10%
<i>Показатели для сборного образца сырья «Монарды трава»</i>	от 7,08% до 9,88%	не более 10%
<i>Зола, н/р в 10% растворе хлористоводородной кислоты</i>		
- монарда дудчатая (трубчатая)	от 3,95% до 4,25 %	не более 5%
- монарда двойчатая	от 3,60% до 3,97 %	не более 5%
- монарда гибридная	от 3,78% до 4,02 %	не более 5%
- монарда лимонная	от 3,91% до 4,13 %	не более 5%
- монарда Рассела	от 3,95% до 4,05 %	не более 5%
<i>Показатели для сборного образца сырья «Монарды трава»</i>	от 3,67% до 4,44 %	не более 5%
<i>Степень измельченности</i>		
- <u>монарда дудчатая (трубчатая):</u> <i>цельное сырье:</i>		
- частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм	От 2,88% до 4,75%	не более 5%

<i>измельченное сырье:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с $d=7$ мм - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,5$ мм <i>порошок:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с $d=2$ мм - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,18$ мм - <u>монарда двойчатая:</u> <i>цельное сырье:</i> - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,5$ мм <i>измельченное сырье:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с $d=7$ мм - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,5$ мм <i>порошок:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с $d=2$ мм - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,18$ мм - <u>монарда гибридная:</u> <i>цельное сырье:</i> - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,5$ мм <i>измельченное сырье:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с $d=7$ мм - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,5$ мм <i>порошок:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с $d=2$ мм - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,18$ мм - <u>монарда лимонная:</u> <i>цельное сырье:</i> - частиц, проходящих сквозь сито с $d=0,5$ мм <i>измельченное сырье:</i> - частиц, не проходящих сквозь	от 2,42% до 4,52% от 2,35% до 4,12% от 2,23% до 4,78% от 2,41% до 4,51% от 2,72% до 4,48% от 2,42% до 4,51% от 3,02% до 4,22% от 2,23% до 3,78% от 3,21% до 4,05% от 3,60 % до 4,87% от 2,87% до 4,11% от 2,35% до 4,27% от 2,23% до 4,78% от 2,92% до 3,96% от 3,14% до 4,55% от 2,25% до 4,81%	не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5%
--	--	--

сито с d=7 мм - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм <i>порошок:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с d=2 мм - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,18 мм - <u>Монарда Рассела:</u> <i>цельное сырье:</i> - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм <i>измельченное сырье:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с d=7 мм - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм <i>порошок:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с d=2 мм - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,18 мм <i>Показатели для сборного образца сырья «Монарды трава»</i> <i>цельное сырье:</i> - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм <i>измельченное сырье:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с d=7 мм - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,5 мм <i>порошок:</i> - частиц, не проходящих сквозь сито с d=2 мм - частиц, проходящих сквозь сито с d=0,18 мм	от 2,25% до 4,72% от 2,23% до 4,71% от 3,01% до 4,14% от 2,05% до 3,89% от 2,74% до 4,67% от 2,37% до 4,12% от 2,27% до 4,68% от 2,07% до 4,12% от 2,27% до 4,82% от 2,51% до 4,88% от 2,22% до 4,90% от 2,01% до 4,86% от 2,13% до 4,82%	не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5% не более 5%
<i>Содержание примесей</i>		
<i>кусочки стеблей</i> - монарда дудчатая (трубчатая) - монарда двойчатая - монарда гибридная - монарда лимонная	от 22,12% до 38,54% от 25,58% до 39,27% от 22,87% до 37,82% от 24,27% до 37,30%	не более 40% не более 40% не более 40% не более 40%

- монарда Рассела <i>Показатели для сборного образца сырья «Монарды трава»</i>	от 23,58% до 38,54%	не более 40%
	от 21,98% до 39,79%	не более 40%
<i>органические</i>		
- монарда дудчатая (трубчатая)	от 0,31% до 0,89%	не более 1%
- монарда двойчатая	от 0,22% до 0,84%	не более 1%
- монарда гибридная	от 0,33% до 0,96%	не более 1%
- монарда лимонная	от 0,25% до 0,86%	не более 1%
- монарда Рассела	от 0,22% до 0,82%	не более 1%
<i>Показатели для сборного образца сырья «Монарды трава»</i>	от 0,20% до 0,97%	не более 1%
<i>минеральные</i>		
монарда дудчатая (трубчатая)	от 0,19% до 0,88%	не более 1%
- монарда двойчатая	от 0,24% до 0,93%	не более 1%
- монарда гибридная	от 0,23% до 0,92%	не более 1%
- монарда лимонная	от 0,28% до 0,96%	не более 1%
- монарда Рассела	от 0,19% до 0,89%	не более 1%
<i>Показатели для сборного образца сырья «Монарды трава»</i>	от 0,18% до 0,97%	не более 1%

4.2. Определение коэффициента водопоглощения травы монарды

Для эффективности экстрагирования и дальнейшего использования сырья монарды в виде настоя необходимо было определить коэффициент водопоглощения для травы монарды. Данный коэффициент показывает, какое количество воды в миллилитрах удерживается 1 г растительного сырья и применяется для расчетов при получении водных извлечений из растительного сырья [23]. Определение проводили в трех повторностях (таблица 4).

Таблица 4 - Результаты определения коэффициента водопоглощения:

№ п/п	Виды монарды				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
1	2,45	2,40	2,39	2,58	2,44
2	2,43	2,39	2,40	2,56	2,47

З	2,44	2,41	2,42	2,57	2,45
X _{ср}	2,44	2,40	2,40	2,57	2,45

Коэффициент водопоглощения в четырех видах монарды варьируется от 2,40 до 2,45 мл/г, у монарды лимонной коэффициент составляет – 2,57 мл/г. Данный коэффициент нами учитывался при приготовлении настоев.

4.3. Исследование химического состава травы монарды

4.3.1. Качественные реакции

В результате проведения качественных и гистохимических реакций в траве монарды были обнаружены следующие группы БАВ: полисахариды, эфирные масла, флавоноиды, кумарины, дубильные вещества, сапонины, аминокислоты. Результаты исследования представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Качественный анализ травы монарды

Группа БАВ	Качественная реакция	Ожидаемый аналитический эффект	Результат реакции
Полисахариды	Реакция осаждения этиловым спиртом 95%	Помутнение, хлопьевидные сгустки при стоянии образуются осадок	Наблюдали помутнение раствора и образование хлопьевидных сгустков
Эфирные масла	Реакция с раствором судана III	Желто-оранжевое окрашивание	Наблюдали оранжевое окрашивание включений
Алкалоиды	Реакция с раствором танина	Желтовато-белый осадок	Не наблюдали выпадение желто-белого осадка
	Реакция с раствором пикриновой кислоты	Желтый осадок	Не наблюдали выпадение желтого осадка
	Реакция с	Ярко-	Не наблюдали

	реактивом Драгендорфа	оранжевый осадок	выпадение белого осадка
Флавоноиды	Цианидиновая проба	Розовое, красное или красно-оранжевое окрашивание	Наблюдали красное окрашивание раствора (флавоны и флавонолы)
	Реакция с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида	Желто-зеленое окрашивание	Наблюдали желто-зеленое окрашивание раствора
	Реакция со спиртовым раствором калия гидроксида и аммиака	Сине-фиолетовое окрашивание	Наблюдали сине-фиолетовое окрашивание раствора (антоцианы)
	Реакция с 1% спиртовым раствором железа хлорида	Красно бурое окрашивание	Наблюдали красно-бурое окрашивание раствора (флавоны и флавонолы)
Кумарины	Лактонная проба	Желтое окрашивание , помутнение раствора	Наблюдали желтое окрашивание, раствор помутнел
	Реакция азосочетания	Вишневое или кроваво-красное окрашивание	Наблюдали желтое окрашивание раствора, переходящее в красно-вишневое при добавлении диазореактива
Хромоны	Реакция с концентрированной кислотой серной	Лимонно-желтое окрашивание	Не наблюдали окрашивание раствора

	Реакция с концентрированными щелочами	Пурпурно-красное окрашивание	Не наблюдали окрашивание раствора
Дубильные вещества	Реакция с раствором железоммонийных квасцов	-Черно-синее окрашивание или осадок -Черно-зеленое окрашивание или осадок	Наблюдали черно-зеленое окрашивание раствора (конденсированные дубильные вещества)
Сапонины	Реакция пенообразования	Образование пены	Наблюдали образование пены при встряхивании растворов
	Реакция Лафона	Сине-зеленое окрашивание	Наблюдали сине-зеленое окрашивание раствора
	Реакция осаждения раствором ацетата свинца	Осадок белого цвета	Наблюдали выпадение белого осадка
Антраценпроизводные	Реакция сублимации и 10% спиртового раствора натрия гидроксида	Ярко-красное окрашивание	Не наблюдали ярко-красное окрашивание сублимата при добавлении раствора натрия гидроксида
Аминокислоты	Реакция с 2 мл 0,1% раствора нингидрина, нагревание на водяной бане 2-3 мин, охлаждение	Красно-фиолетовый цвет	Наблюдали красно-фиолетовое окрашивание раствора

4.3.2. Хроматографический и спектральный анализ биологически активных веществ травы монарды

Использование в фармакогностическом анализе хроматографических и спектральных методов исследования расширяет возможности изучения новых видов растительного сырья, поскольку не все группы действующих веществ можно обнаружить с помощью качественных реакций.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках «Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ». Данный метод исследования широко используется для обнаружения различных групп веществ.

Фенольные соединения

Для исследования фенольных соединений готовили спиртовое извлечение из сырья монарды (экстрагент - 70% спирт этиловый, соотношение 1:20). Следует отметить, что наилучшее разделение фенольных соединений наблюдалось в системе растворителей «этилацетат – муравьиная кислота – вода» (14:3:3) и «этилацетат - уксусная кислота – вода» (5:1:1). Обнаружение зон адсорбции проводили в видимом и в УФ-свете, до и далее после обрабатывания пластинки хромогенным реактивом. В качестве хромогенного реактива применяли 5%-й спиртовый раствор алюминия хлорида. Хроматографическое изучение проводили в сравнении со стандартными образцами (СО) веществ-свидетелей флавоноидов, фенолкарбоновых и оксикоричных кислот [45, 49].

В результате хроматографического анализа наблюдали следующее: зоны адсорбции соединений данной группы в УФ-свете при длине волны 254 нм имели оранжевую, коричневую и серую окраску, а при длине волны 365 нм имели собственную флюоресценцию - от желтой, желто-зеленой до голубой, которая усиливалась после проявления хромогенным реактивом. Результаты хроматографического разделения фенольных соединений образцов монарды представлены на рисунках 41, 42.

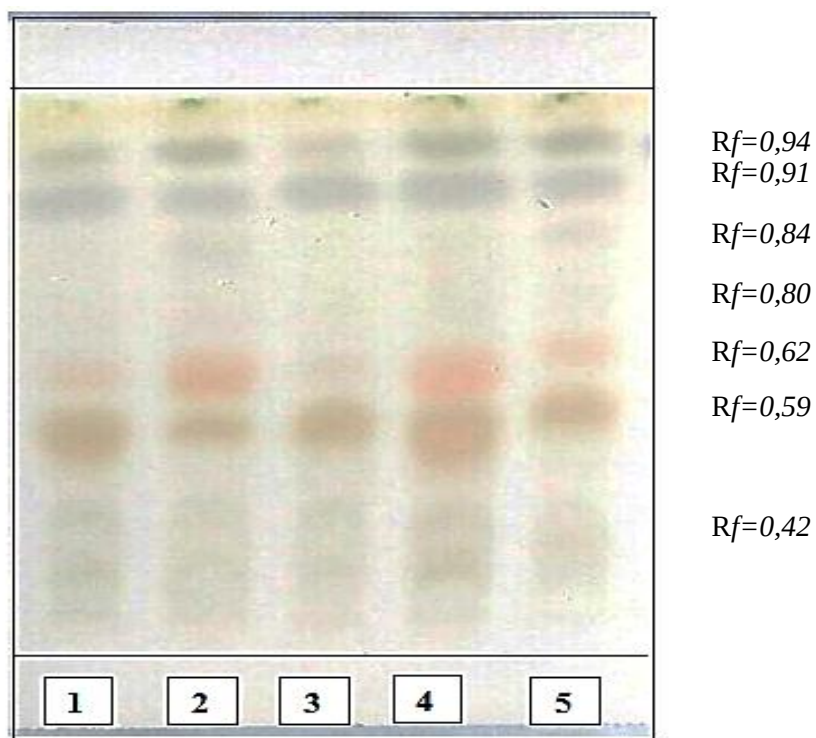


Рисунок 41 - ТСХ, система «этилацетат – муравьиная кислота - вода (14:3:3)» в УФ-свете при $\lambda=254$ нм: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*.

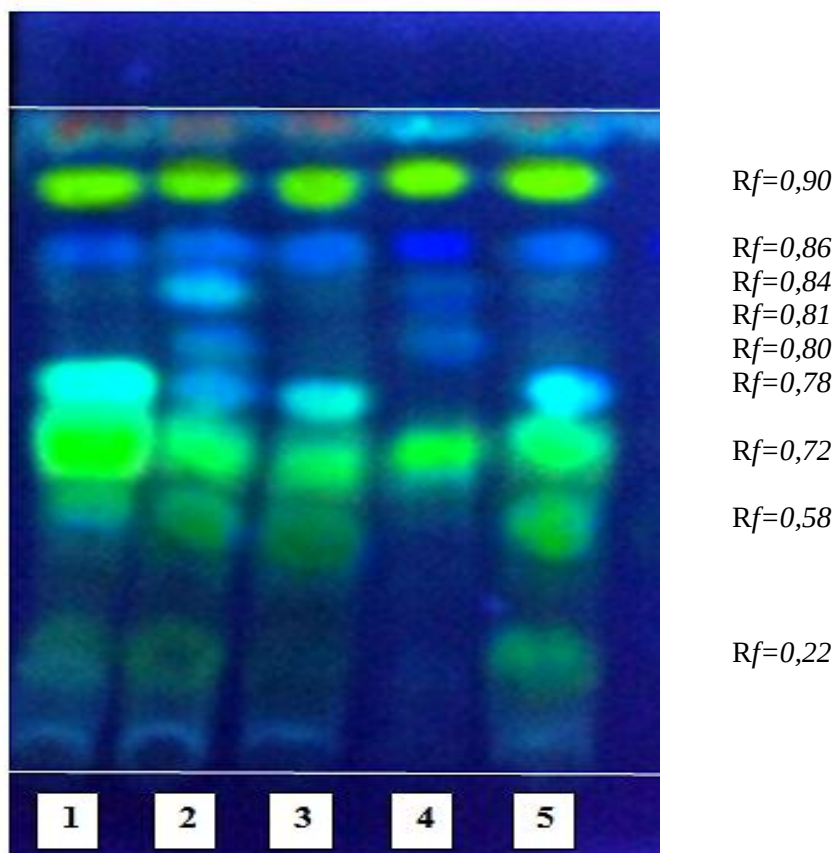


Рисунок 42 – ТСХ, система «этилацетат - уксусная кислота - вода (5:1:1)» в УФ-свете при $\lambda=365$ нм: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*.

При исследовании извлечений из пяти видов монарды на хроматограмме в УФ-свете при длине волны 254 нм обнаружено 7 зон адсорбции, в УФ-свете при длине волны 365 нм - 9 зон с различной окраской (таблица 6).

Таблица 6 - Хроматографическая характеристика веществ

№	R _f	Окраска пятна	Вещество
<i>Система «этилацетат – муравьиная кислота – вода (14:3:3)»</i>			
1.	0,94	темно-серая	катехин
2.	0,91	темно-серая	галловая кислота
3.	0,84	серая	кофейная кислота
4.	0,80	серая	хлорогеновая кислота
5.	0,62	светло-оранжевая	гиперозид
6.	0,58	коричневая	нарингенин
7.	0,42	светло-коричневая	рутин
<i>Система «этилацетат - уксусная кислота - вода (5:1:1)»</i>			
1.	0,90	ярко-желтая	лютеолин
2.	0,86	сине-голубая	кофейная кислота
3.	0,84	бледно-голубая	неидентифицировано
4.	0,81	бледно-голубая	хлорогеновая кислота
5.	0,80	желто-зеленая	неидентифицировано
6.	0,78	бледно-желтая	нарингенин
7.	0,72	ярко-желтая	лютеолин-7-гликозид
8.	0,58	желтая	рутин
9.	0,22	бледно-желтая	неидентифицированно

Вещества, соответствующие по значениям *R_f* аутентичным образцам свидетелей элюировали с хроматографических пластин. Далее проводили их кристаллизацию, перекристаллизацию этиловым спиртом и выделенные вещества идентифицировали с использованием метода УФ-спектроскопии.

Спектральные характеристики выделенных с хроматограмм веществ сопоставляли с максимумами поглощения стандартных образцов свидетелей (рисунок 43-51) и по совпадению спектральных характеристик судили об их идентичности.

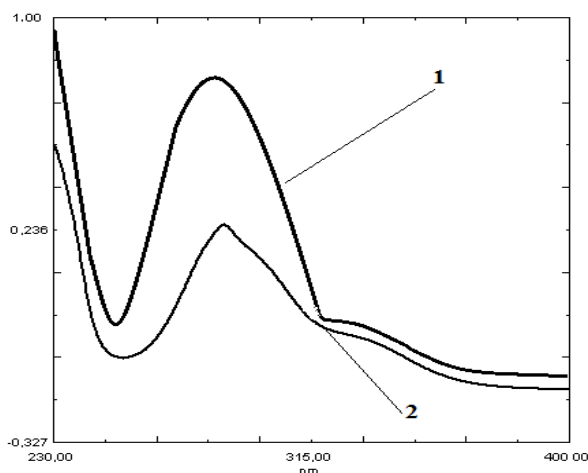


Рисунок 43 - УФ-спектры стандартного образца катехина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 272 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 381 \pm 2$ нм).

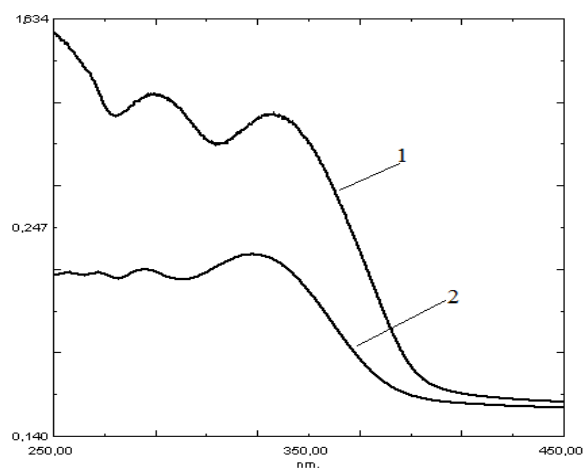


Рисунок 44 - УФ-спектры стандартного образца галловой кислоты (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 276 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 222 \pm 2$ нм).

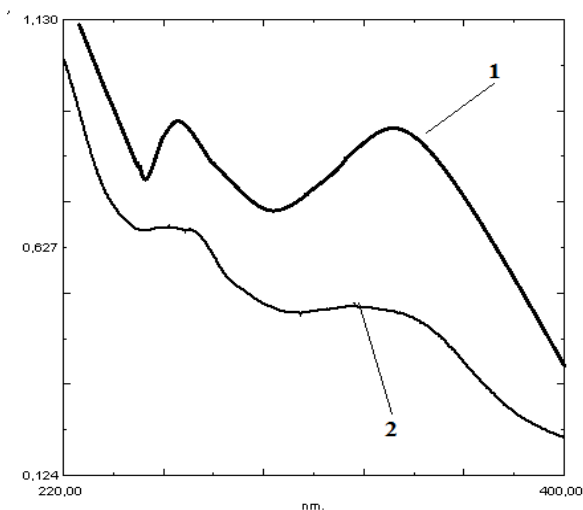


Рисунок 45- УФ-спектры стандартного образца кофейной кислоты (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 320 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 290 \pm 2$ нм).

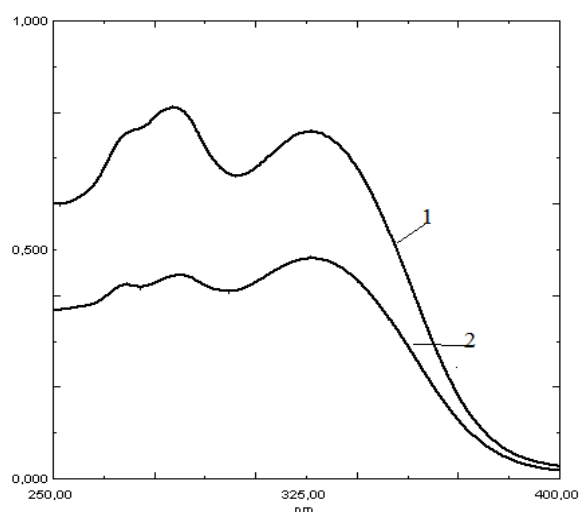


Рисунок 46 - УФ-спектры стандартного образца хлорогеновой кислоты (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 324 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 235 \pm 2$ нм).

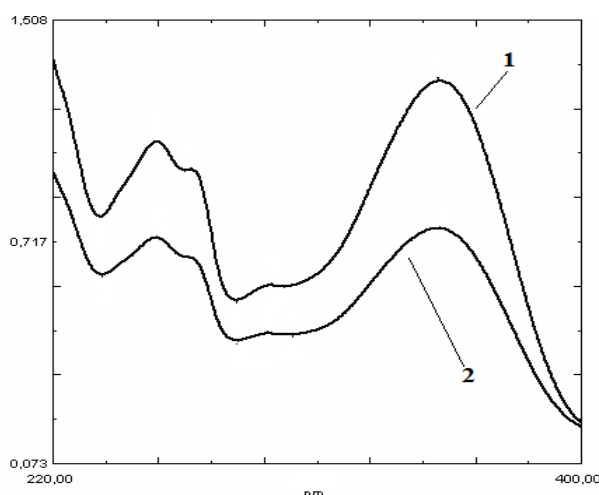


Рисунок 47 - УФ-спектры стандартного образца лутеолина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 350 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 255 \pm 2$ нм).

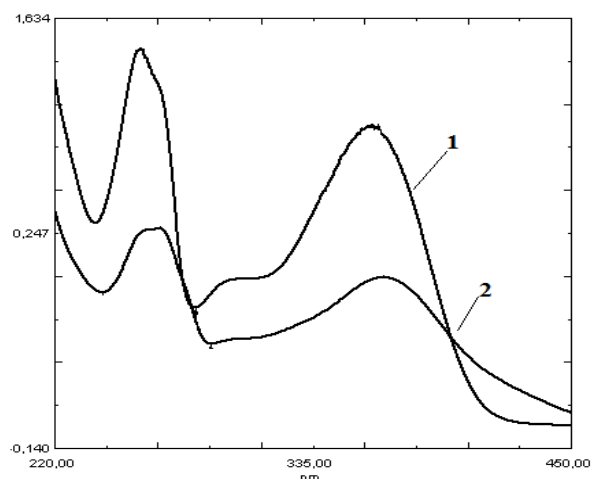


Рисунок 48 - УФ-спектры стандартного образца гиперозида (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 361 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 257 \pm 2$ нм).

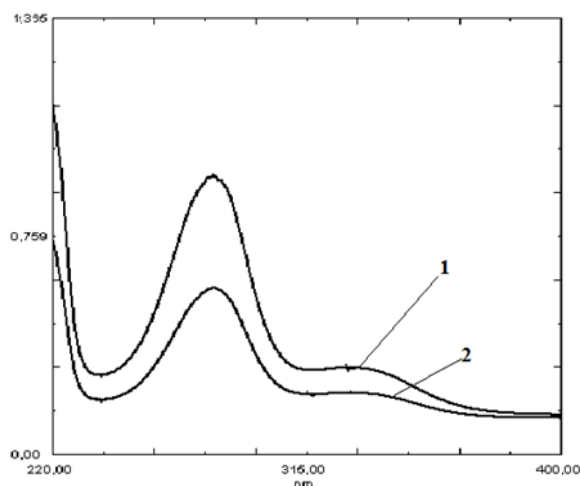


Рисунок 49 - УФ-спектры стандартного образца нарингенина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 283 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 226 \pm 2$ нм).

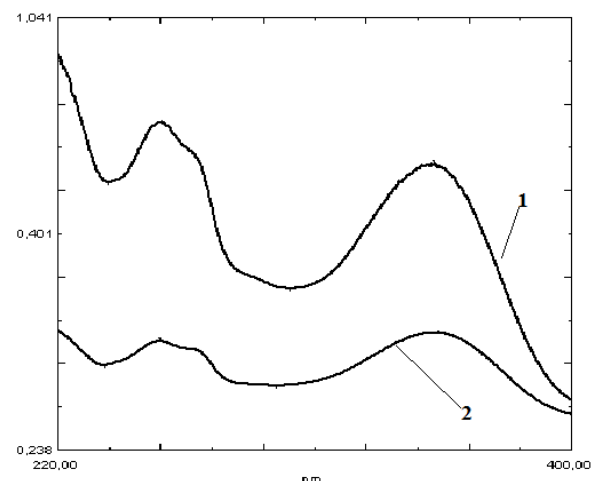


Рисунок 50 - УФ-спектры стандартного образца лутеолин-7-гликозида (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 348 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 265 \pm 2$ нм).

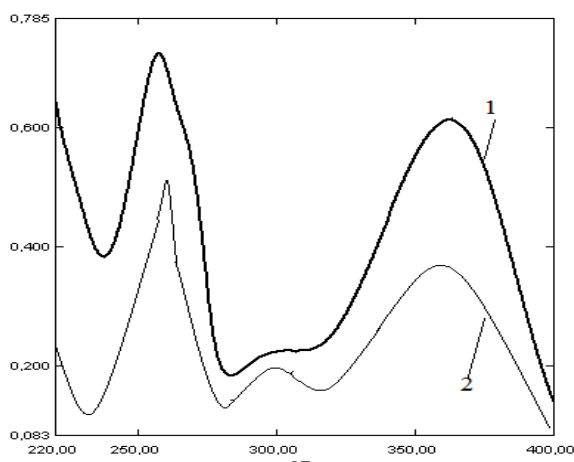


Рисунок 51 - УФ-спектры стандартного образца рутина (1) и выделенного из травы монарды вещества (2) ($\lambda_1 = 360 \pm 2$ нм; $\lambda_2 = 258 \pm 2$ нм).

Анализируя полученные данные хроматографического исследования и полученных УФ-спектров выявлено присутствие в сырье монарды следующих соединений: флавоноиды (рутин, нарингенин, лютеолин, лютеолин-7-гликозид, гиперозид, катехин), фенолкарбоновая кислота - галловая и оксикоричные кислоты - кофейная и хлорогеновая.

С целью наиболее подробной информации о составе фенольных соединений проводили исследования с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе с УФ-детектором (гл.2.2.2). Подготовка проб заключалась в приготовление спиртовых извлечений из сырья, а так же в приготовлении растворов СО (стандартных образцов) веществ-свидетелей. Извлечение из сырья монарды готовили с использованием 70% этилового спирта: в колку объемом 250 мл отвешивали 10,0 г измельченного исследуемого сырья, проходящего сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, добавляли 100 мл 70%-го спирта этилового, присоединяли к обратному холодильнику и проводили экстрагирование на кипящей водяной бане. Время экстракции составляло 1 час. Далее полученную смесь охлаждали до комнатной температуры и проводили фильтрацию через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью на 100 мл, после фильтрации объем доводили до метки 70% спиртом этиловым (*испытываемый раствор*)

Из стандартных образцов веществ-свидетелей приготавливали 0,05% спиртовые растворы рутина, кверцетина, лютеолин-7-гликозида, лютеолина, гиперозида, нарингенина, катехина, галловой, хлорогеновой и кофейной кислот с чистотой более 95%.

Для хроматографирования использовали по 20 мкл исследуемого раствора и растворов сравнения. Идентификацию проводили путем сопоставления времен удерживания компонентов смеси и растворов сравнения, стандартных образцов флавоноидов, фенолкарбоновых и оксикоричных кислот. Результаты исследований представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Идентифицированные методом ВЭЖХ соединения монарды

Наименование идентифицированных соединений	Виды монарды и концентрация вещества, %				
	<i>Monarda fistulosa</i>	<i>Monarda didyma</i>	<i>Monarda hybrida</i>	<i>Monarda citriodora</i>	<i>Monarda Rassela</i>
Лютеолин	0,698	0,704	0,506	0,430	0,375
Катехин	0,345	0,256	0,312	0,102	0,138
Рутин	0,286	0,387	0,088	0,113	0,392
Нарингенин	0,547	0,481	0,528	0,289	0,216
Лютеолин-7-гликозид	1,137	0,989	0,715	1,430	0,982
Гиперозид	0,345	0,284	0,322	0,137	0,165
Кофеная кислота	0,495	0,479	0,486	0,498	0,492
Хлорогеновая кислота	0,256	0,224	0,287	0,089	0,123
Галловая кислота	0,670	0,459	0,726	0,243	0,148

Кумарины

Кумарины обнаруживали в хлороформных извлечениях из сырья различных видов монарды. Разделение кумаринов проводили методом ТСХ с использованием системы растворителей «этилацетат – бензол» (1:2). Для проявления использовали 10% спиртовой раствор гидроксида калия [78], далее хроматографические пластинки подсушивали и нагревали при $t = 110-120^{\circ}\text{C}$ примерно 2-3 минут, после чего пластинку обрабатывали свежеприготовленным диазореактивом. Просмотр хроматограмм осуществляли в УФ-свете до и после обработки хромогенным реактивом. В извлечении из травы монарды дудчатой (трубчатой), гибридной, лимонной, Рассела отмечалось появление 3 зон адсорбции, а в извлечении из травы монарды двойчатой – 4 зон адсорбции. В качестве растворов свидетелей применяли: эскулетин ($R_f \sim 0,12$), дигидрокумарин ($R_f \sim 0,47$), скополетин ($R_f \sim 0,55$), кумарин ($R_f \sim 0,80$). Кумарины флюоресцировали в УФ-свете до обработки хромогенными реактивами ярко-голубым цветом, а после

обработки пятна приобретали флюоресценцию оранжевую, кирпично-красную или сине-фиолетовую. Во всех пяти видах монарды наблюдалось совпадение пятна со значением $R_f = 0,80$ (кирпично-красной окраски) с таковым у вещества-свидетеля - кумарина (рисунок 52).

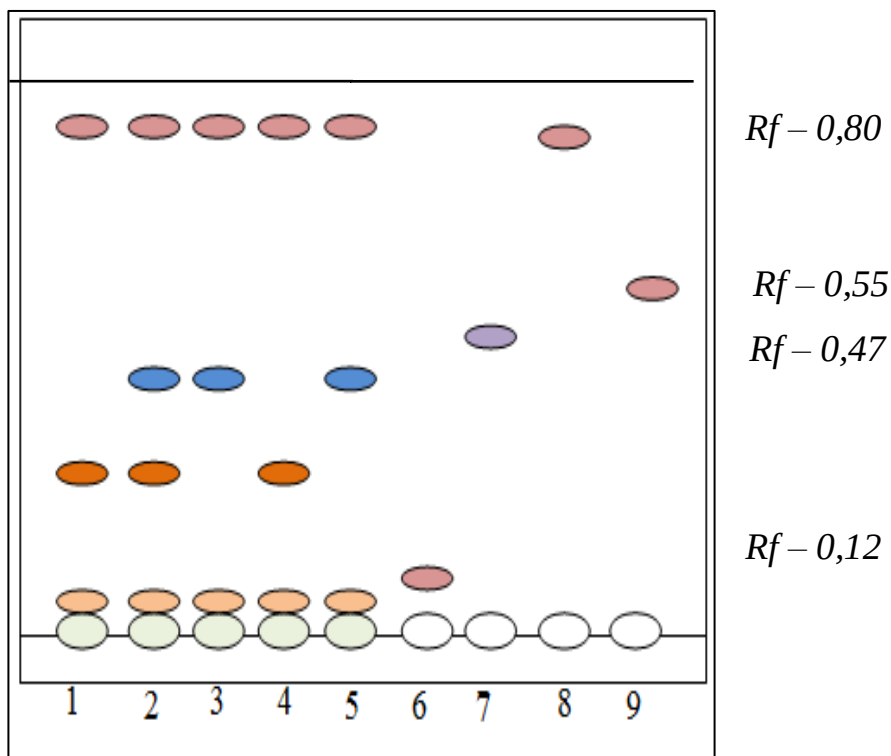


Рисунок 52 - Схема хроматограммы кумаринов монарды:
 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6- эскулетин, 7-дикумарин, 8- кумарин, 9- скополетин.

Таким образом, проведено изучение фенольных соединений различных видов монарды с использованием методов хроматографического анализа, УФ-спектроскопии, а также метода ВЭЖХ и подтверждено наличие в траве монарды веществ фенольной природы: флавоноидов (рутин, лютеолин-7-глюкозид, нарингенин, гиперозид, лютеолин, катехин), фенолкарбоновой кислоты (галловой) и оксикоричных кислот (хлорогеновой, кофейной), а также кумаринов. При этом хлорогеновая кислота обнаружена впервые. Следует отметить, что в разных видах монарды идентичный качественный состав фенольных соединений.

Сапонины

Разделение сапонинов в тонком слое сорбента проводили используя хлороформные извлечения, полученные из сырья монарды, при этом наилучшее разделение сапонинов наблюдали в системе: «петролейный эфир - хлороформ - кислота уксусная (10:4:0,4)». Для сравнения использовали растворы веществ-свидетелей олеоноловую и урсоловую кислоты [55, 56]. Для проявления хроматограмм использовали 20 % раствор кислоты серной ($T = 108-110^{\circ}\text{C}$). После высушивания на хроматограмме наблюдали появление пятен, окрашенных в бледно-вишневый цвет, переходящий в голубой, что совпадало с веществами-свидетелями и подтверждало наличие соединений тритерпеновой природы, $R_f \sim 0,24$ – урсоловая кислота (рисунок 53).

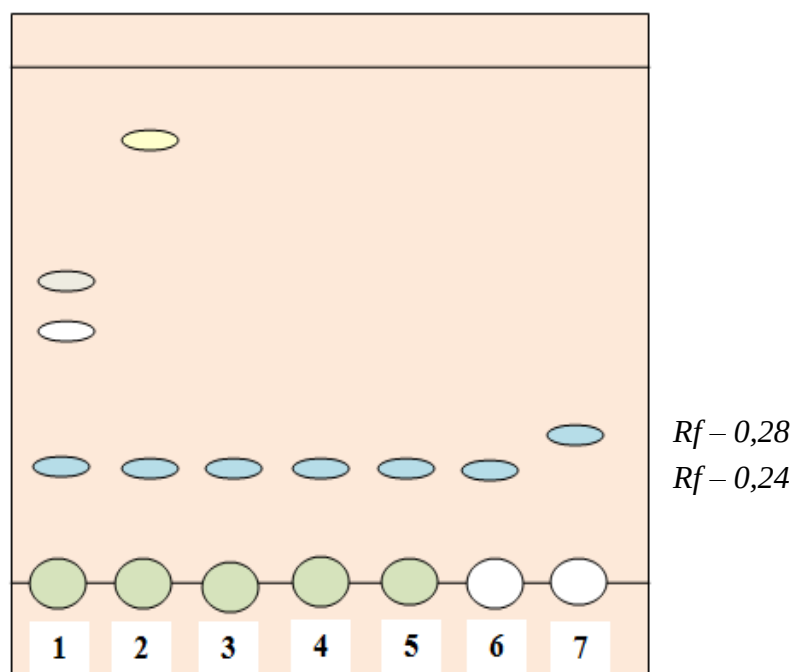


Рисунок 53 - Схема хроматограммы в системе «петролейный эфир - хлороформ - кислота уксусная (10:4:0,4)»: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6-урсоловая кислота, 7- олеоноловая кислота.

Каротиноиды

Каротиноиды в траве монарды обнаруживали в гексановом извлечении методом ТСХ. В качестве подвижной фазы использовали систему «гексан – диэтиловый эфир» (80:20), после высушивания хроматограмму обрабатывали 10 % раствором фосфорномолибденовой кислоты в этиловом спирте ($T=60-80^{\circ}\text{C}$), при этом на хроматограмме наблюдали три зоны адсорбции: $R_f \sim 0,28$; $R_f \sim 0,60$; $R_f \sim 0,82$, две из которых были идентифицированы в виде пятен синего цвета на желто-зеленом фоне, предположительно отнесенные к каротиноидам (рисунок 54).

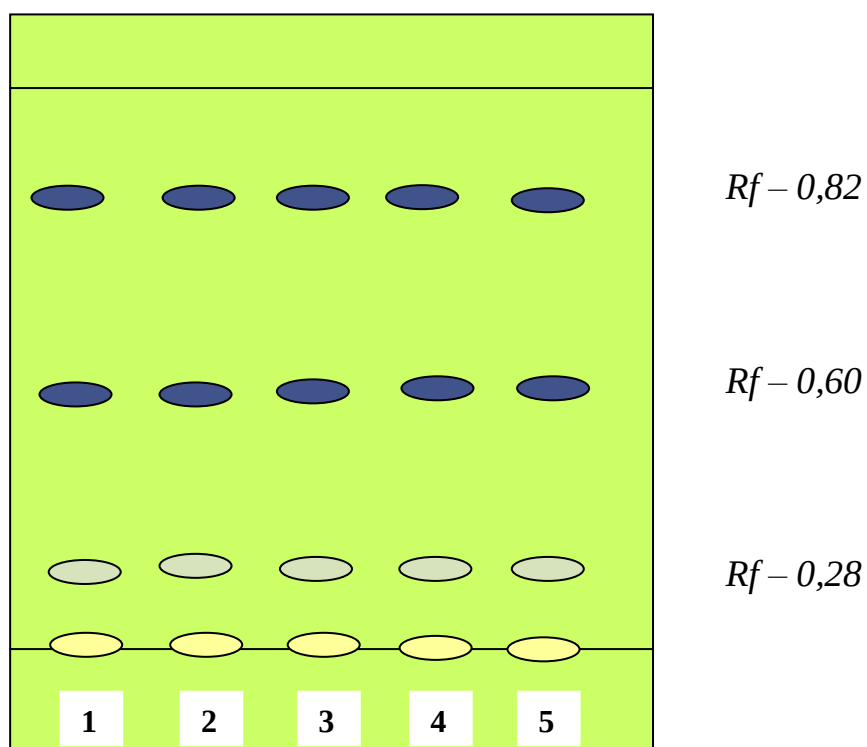


Рисунок 54 - Схема хроматограммы в системе «гексан – диэтиловый эфир (80:20)»: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*.

Аскорбиновая кислота

Для исследования присутствия аскорбиновой кислоты в сырье монарды готовили водные извлечения. В качестве подвижной фазы применяли систему растворителей «этилацетат - уксусная кислота» (80:20). После хроматографирования, пластинку подсушивали, проявляли водным

раствором 2,6-дихлорфенолиндифенолята натрия и проводили детектирование в УФ-свете [55, 89]. При этом отмечали появление белых пятен на розовом фоне со значением $R_f \sim 0,81$, что соответствовало зоне аскорбиновой кислоты (рисунок 55).

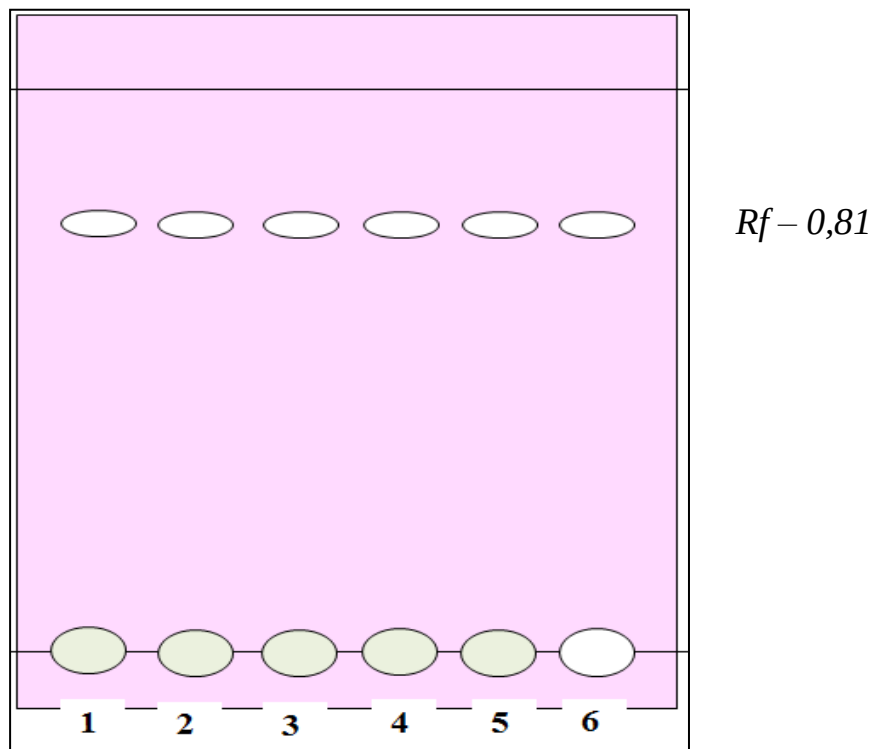


Рисунок 55 - Схема хроматограммы в системе «этилацетат - уксусная кислота (80:20)»: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6- аскорбиновая кислота.

Органические кислоты

Для исследования органических кислот анализировали водные извлечения из травы монарды и хроматографирование проводили в системе растворителей «этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода» (100:11:11:25). В качестве проявителя использовали 0,2% спиртовый раствор бромкрезолового зеленого. Отмечали появление 3 зон адсорбции в виде желтых пятен на синем фоне, которые по значениям R_f совпадали с веществами-свидетелями $R_f \sim 0,39$ (лимонная кислота), $R_f \sim 0,62$ (аскорбиновая кислота), $R_f \sim 0,80$ (яблочная кислота) (рисунок 56).

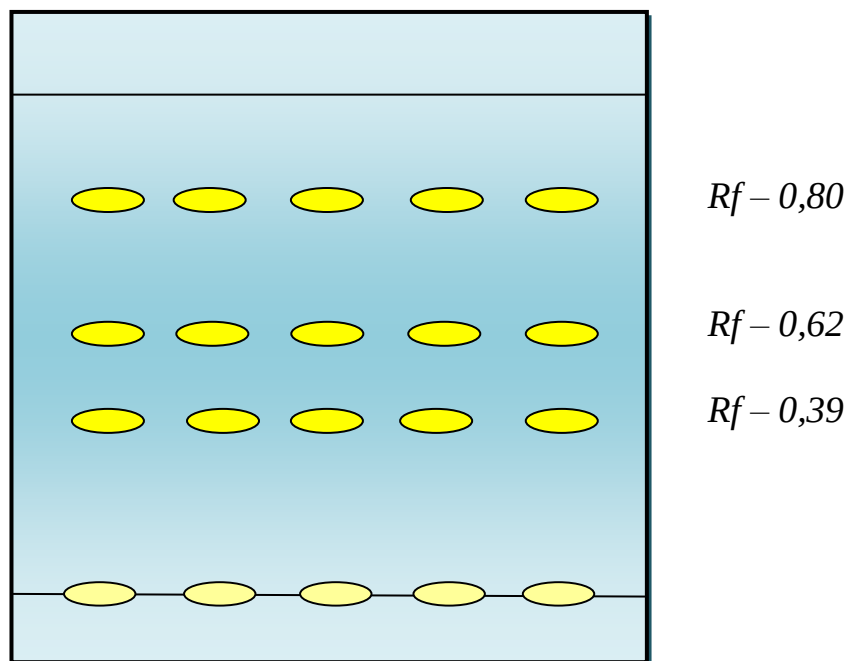


Рисунок 56 - Схема хроматограммы в системе «этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода» (100:11:11:2): 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*.

4.3.3. Количественное определение содержания основных групп биологически активных веществ в траве монарды

Для определения количественного содержания биологически активных веществ, обнаруженных в результате качественного анализа в траве различных видов монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, использовали различные методики известные и модифицированных [13, 55, 56, 89].

Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты и органических кислот

Аскорбиновая кислота активно участвует в окислительно-восстановительных процессах, происходящих в организме человека, обладает выраженным антиоксидантным, десенсибилизирующим действием, улучшает обменные процессы, эластичность кровеносных сосудов в комплексе с

флавоноидами, повышает сопротивляемость организма различным заболеваниям [56].

Количественное определение содержания аскорбиновой кислоты проводили методом окислительно-восстановительного титрования с подбором оптимальных условий. В качестве титранта использовали 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия. В точке эквивалентности наблюдали изменение окраски раствора в розовый цвет за счет восстановления 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в кислой среде [23]. Условия методики определения: навеска сырья - 5,0 г, соотношение сырье-экстрагент - 1:10, температурный режим - нагревание на водяной бане при температуре 40 -50 °С и время экстракции - 20 минут при постоянном помешивании. В результате исследования установлено, что в большем количестве аскорбиновая кислота содержится в траве монарды дудчатой (трубчатой) ($0,125 \pm 0,004\%$), в меньшем - в монарде гибридной ($0,084 \pm 0,003\%$). Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты определения аскорбиновой кислоты в исследуемых образцах монарды, %

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	S_x	P, %	t(P, f)	E_α	$\varepsilon, \%$
<i>M. fistulosa</i>	4	0,125	0,0000025	0,00158	95	2,78	0,00439	3,49
<i>M. didyma</i>	4	0,098	0,0000019	0,00138	95	2,78	0,00383	3,91
<i>M. hybrida</i>	4	0,084	0,0000014	0,00118	95	2,78	0,00328	3,92
<i>M. citriodora</i>	4	0,092	0,0000013	0,00114	95	2,78	0,00320	3,47
<i>M. Rassela</i>	4	0,111	0,0000022	0,00148	95	2,78	0,00413	3,72

Органические кислоты обладают рядом полезных для человека свойств: оказывают благоприятное влияние на работу желудочно-кишечного тракта, ускоряют процессы метаболизма, поддерживают кислотно-щелочной

баланс, тормозят развитие патогенных бактерий, усиливают моторную функцию кишечника [15, 56]. Определение количественного содержания свободных органических кислот проводили титриметрическим методом прямой алкаиметрии с подбором оптимальных условий. Подобранные условия методики определения: навеска - 5,0 гр, соотношение сырье-экстрагент - 1:10, время экстракции 1 час [21]. Результаты исследования, представленные в таблице 9 показывают, что наибольшее содержание органических кислот отмечается в траве монарды двойчатой ($3,616 \pm 0,109\%$), а наименьшее – в монарде гибридной ($2,165 \pm 0,058\%$).

Таблица 9 - Результаты определения свободных органических кислот в исследуемых образцах монарды, %

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	Sx	P, %	t(P, f)	E_a	$\varepsilon, \%$
<i>M. fistulosa</i>	4	2,812	0,00084	0,02898	95	2,78	0,0806	2,88
<i>M. didyma</i>	4	3,616	0,00156	0,03951	95	2,78	0,1098	3,04
<i>M. hybrida</i>	4	2,165	0,00043	0,02073	95	2,78	0,0576	2,65
<i>M. citriodora</i>	4	2,233	0,00048	0,02191	95	2,78	0,0609	2,73
<i>M. Rassela</i>	4	3,121	0,00101	0,03178	95	2,78	0,0883	2,83

Определение количественного содержания каротиноидов

Несмотря на то, что каротиноиды относятся к жирорастворимым витаминам, являются пигментами растений желтого, оранжевого и красного цвета, они способны переходить в водные настои, которые готовят из растительного сырья, так как образуют водорастворимые комплексы с другими биологически активными веществами растений. Кроме того, каротиноиды способны оказывать регенерирующее, ранозаживляющее, противовоспалительное, антиоксидантное действие, поэтому представляло интерес определить их количественное содержание в сырье монарды [82]. Количественное определение проводили спектрофотометрическим методом

[24]. Для выбора оптимальной длины волны изучали спектральные характеристики гексановых растворов из сырья монарды в интервале длин волны 250 - 600 нм (рисунок 57). Установлено, что на всех графиках четко выражены максимумы поглощения 423 ± 2 нм, 450 ± 2 нм и 475 ± 2 нм, которые характерны для β -каротина, поэтому количественное определение каротиноидов проводили при длине волны 450 нм в пересчете на β -каротин (мг %). Результаты исследования представлены в таблице 10.

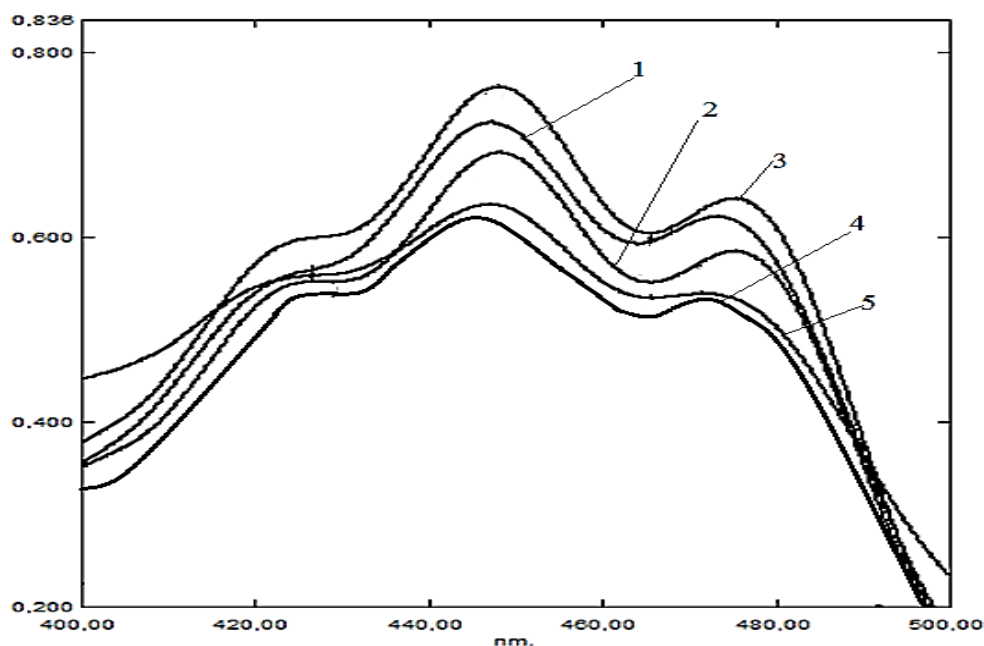


Рисунок 57- УФ-спектр гексановых извлечений из травы *M. fistulosa* (1), *M. didyma* (2), *M. hybrida* (3), *M. citriodora* (4), *M. Rassela* (5) ($\lambda_{max} = 423\pm 2$ нм, 450 ± 2 нм и 475 ± 2 нм).

Таблица 10 - Результаты определения каротиноидов в исследуемых образцах монарды, мг%

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	Sx	P, %	t(P, f)	E_α	$\varepsilon, \%$
<i>M. fistulosa</i>	4	36,903	0,29549	0,54359	95	2,78	1,511	4,09
<i>M. didyma</i>	4	36,804	0,20017	0,44740	95	2,78	1,244	3,38
<i>M. hybrida</i>	4	37,517	0,21679	0,46561	95	2,78	1,294	3,45
<i>M. citriodora</i>	4	36,062	0,16694	0,40858	95	2,78	1,136	3,15
<i>M. Rassela</i>	4	36,240	0,17620	0,41976	95	2,78	1,167	3,22

Таким образом, можно отметить, что максимальное содержание каротиноидов наблюдалось в монарде гибридной ($37,517 \pm 1,294$ мг%), наименьшее в монарде лимонной ($36,062 \pm 1,136$ мг%).

Определение количественного содержания сапонинов

Согласно литературным данным, для сапонинов характерна мочегонная, отхаркивающая, адаптогенная активности, поэтому они представляют большой интерес для изучения. В результате проведенного качественного анализа было подтверждено присутствие сапонинов в сырье монарды и установлено, что все виды монарды обладают малой сапониноностью. Для количественного определения сапонинов в сырье монарды использовали спектрофотометрический метод, основанный на взаимодействии с концентрированной серной кислотой и последующим измерением оптической плотности [92]. Для выявления аналитической длины волны, при которой необходимо проводить количественное определение, проводили спектральный анализ извлечений из травы монарды в интервале длин волн от 250 до 500 нм (рисунок 58).

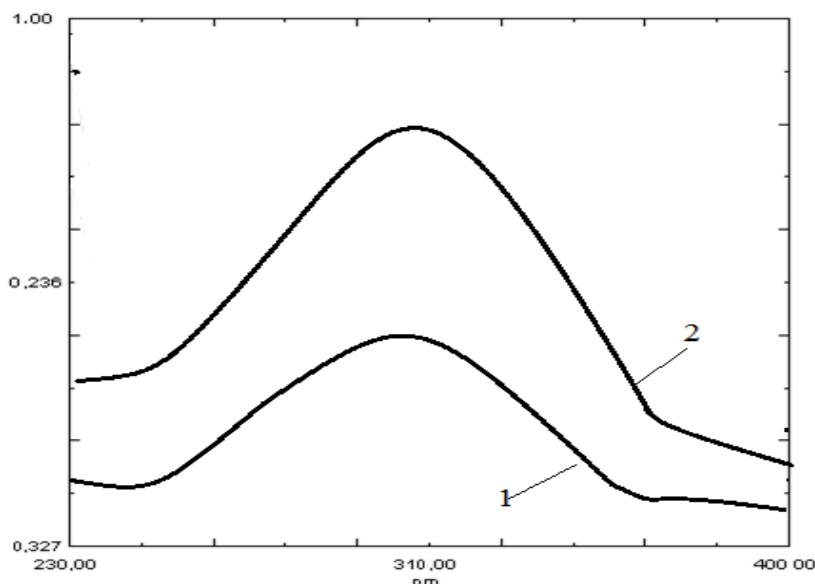


Рисунок 58 - УФ-спектр хлороформного извлечения из травы монарды (1) и стандартного раствора урсоловой кислоты (2) ($\lambda_{max} = 310$ нм).

Установлено, что максимум поглощения наблюдался при длине волны 310 нм, который совпадает с максимумом поглощения стандартного вещества - кислоты урсоловой. Результаты количественного определения сапонинов в пересчете на кислоту урсоловую в сырье монарды представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Результаты определения сапонинов в исследуемых образцах монарды, %

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	S_x	P, %	t(P, f)	E_a	$\varepsilon, \%$
<i>M. fistulosa</i>	4	0,022	0,000000089	0,000298	95	2,78	0,0008	3,76
<i>M. didyma</i>	4	0,010	0,000000001	0,000036	95	2,78	0,0001	4,39
<i>M. hybrida</i>	4	0,017	0,000000041	0,000202	95	2,78	0,0006	3,31
<i>M. citriodora</i>	4	0,012	0,000000023	0,000152	95	2,78	0,0004	3,51
<i>M. Rassela</i>	4	0,018	0,000000064	0,000253	95	2,78	0,0007	3,91

Анализируя полученные результаты можно отметить, что наибольшее содержание сапонинов в пересчете на урсоловую кислоту наблюдается в монарде дудчатой (трубчатой) ($0,022 \pm 0,0008\%$), наименьшее в монарде двойчатой ($0,0010 \pm 0,0001\%$).

Определение количественного содержания кумаринов

Содержание кумаринов в растительном сырье обуславливают разнообразные возможности его использования в качестве противовоспалительных, антикоагулянтных, противоопухолевых средств. Для исследования кумаринов в сырье монарды получали хлороформные вытяжки из сырья, предварительно обезжиренного гексаном, далее измеряли оптическую плотность раствора в интервале длин волн от 200 нм до 500 нм (рисунок 59). При этом отмечали наличие двух полос поглощения: I - при 210 – 270 нм и II – при 290 – 360 нм, с выраженным максимумом при длине

волны 310 нм, что соответствует кумарину. Содержание суммы кумаринов в траве монарды определяли в пересчете на кумарин [98]. Результаты исследования количественного содержания кумаринов представлены в таблице 12.

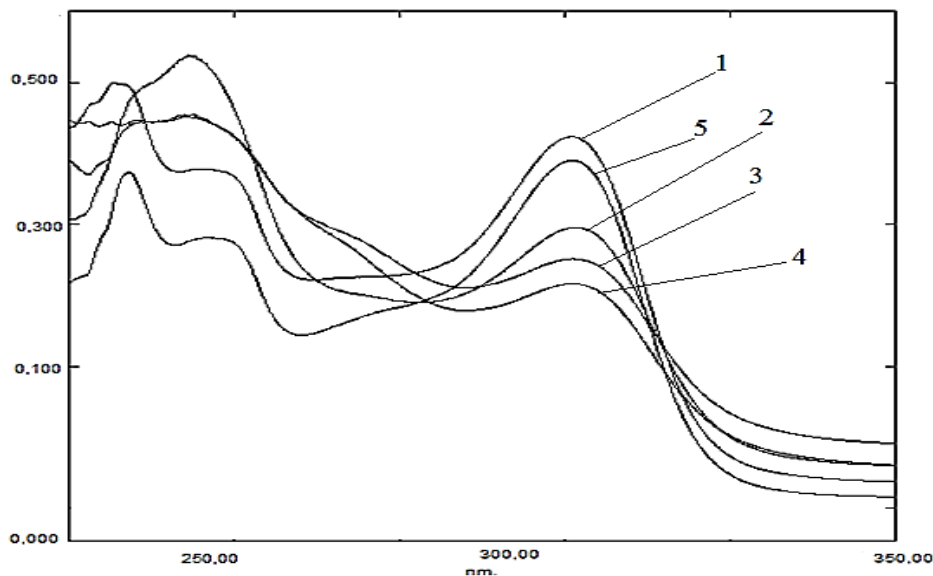


Рисунок 59 - УФ-спектр хлороформных извлечений из травы *M. fistulosa* (1), *M. didyma* (2), *M. hybrida* (3), *M. citriodora* (4), *M. Rassela* (5) ($\lambda_{max} = 310$ нм).

Таблица 12 - Результаты определения кумаринов в исследуемых образцах монарды, %

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	Sx	P, %	t(P, f)	E_a	ε , %
<i>M. fistulosa</i>	4	0,355	0,0000090	0,00315	95	2,78	0,0083	2,34
<i>M. didyma</i>	4	0,251	0,0000033	0,00183	95	2,78	0,0051	2,03
<i>M. hybrida</i>	4	0,224	0,0000071	0,00267	95	2,78	0,0074	3,31
<i>M. citriodora</i>	4	0,118	0,0000027	0,00164	95	2,78	0,0046	3,87
<i>M. Rassela</i>	4	0,327	0,0000083	0,00289	95	2,78	0,0080	2,45

В результате было установлено, что более высокое содержание кумаринов отмечалось в монарде дудчатой (трубчатой) ($0,355 \pm 0,0083\%$) и меньшие значения в монарде лимонной ($0,118 \pm 0,0046\%$).

Определение количественного содержания полисахаридов

Полисахариды имеют важное значение, так как в растениях они выполняют роль запасных питательных веществ, энергетическую, резервную функции, а в медицине, растения их содержащие, оказывают противовоспалительное, ранозаживляющее, обволакивающее действие, повышают резистентность слизистых оболочек, обладают иммунологической активностью. Для определения содержания суммы полисахаридов использовали спектрофотометрический метод, основанный на образовании комплекса продуктов гидролиза полисахаридов с пикриновой кислотой в щелочной среде. Предварительный спектральный анализ позволил установить характерный максимум поглощения комплекса глюкозы с пикриновой кислотой при длине волны 460 нм, при которой проводили дальнейшее измерение оптической плотности полученных растворов из исследуемых образцов травы монарды (рисунок 60).

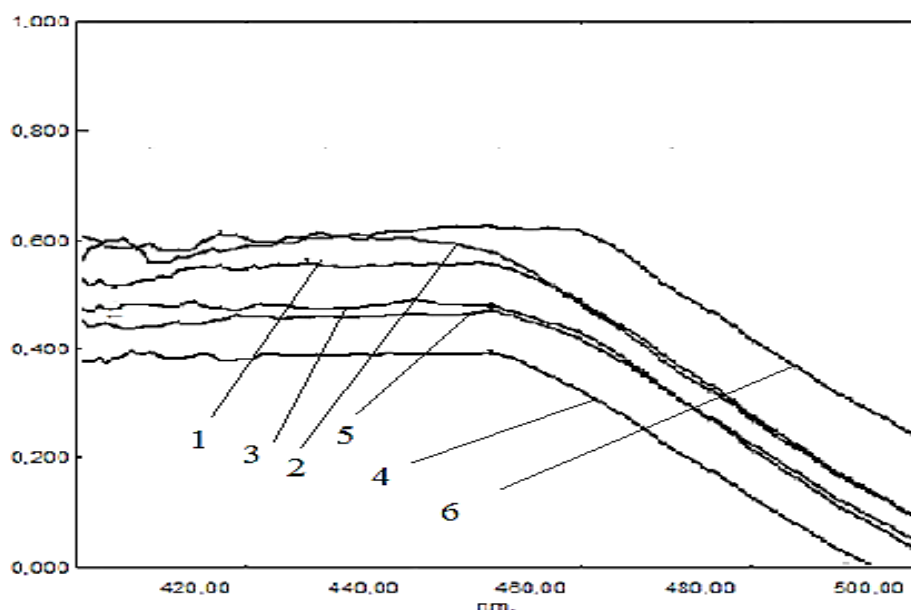


Рисунок 60 - УФ- спектр извлечений из травы M. fistulosa (1), M. didyma (2), M. hybrida (3), M. citriodora (4), M. Rassela (5) и стандартного раствора глюкозы (6), λ_{max} = 460 нм.

Результаты количественного определения полисахаридов представлены в таблице 13. Установлено, что наибольшее содержание суммы

полисахаридов в пересчете на глюкозу отмечалось в монарде двойчатой ($0,932 \pm 0,023\%$), а наименьшее – в монарде лимонной ($0,511 \pm 0,015\%$).

Таблица 13 - Результаты определения полисахаридов в исследуемых образцах монарды, %

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	Sx	P, %	t(P, f)	E_a	$\varepsilon, \%$
<i>M. fistulosa</i>	4	0,861	0,000095	0,00974	95	2,78	0,0270	3,15
<i>M. didyma</i>	4	0,932	0,000068	0,00825	95	2,78	0,0229	2,46
<i>M. hybrida</i>	4	0,662	0,000047	0,00686	95	2,78	0,0190	2,87
<i>M. citriodora</i>	4	0,511	0,000031	0,00557	95	2,78	0,0154	3,03
<i>M. Rassela</i>	4	0,694	0,000065	0,00806	95	2,78	0,0224	3,23

Определение количественного содержания суммы оксикоричных кислот

Сырье, содержащие оксикоричные кислоты применяют при расстройствах нервной и сердечно-сосудистой системы, при нарушении мозгового кровообращения. Результаты проведенного ранее (гл. 4.3.2) хроматографического анализа спиртовых извлечений монарды показали, что более выражена во всех исследуемых видах монарды была интенсивность свечения пятен в зоне абсорбции кофейной кислоты, а зоны абсорбции хлорогеновой кислоты отличались менее интенсивным свечением, хотя наблюдались также во всех видах монарды. Кроме того, следует отметить, что при изучении спектральных характеристик анализируемых растворов из сырья монарды, в сравнении со стандартными веществами – кислотой кофейной и хлорогеновой, наблюдались максимумы поглощения при длине волны 327 нм (рисунок 61) и при длине 325 нм (рисунок 62), что свидетельствует об их присутствии в сырье монарды.

Учитывая вышеизложенное, определение содержания суммы оксикоричных кислот проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на кофейную кислоту и в качестве аналитической длины волны

установлена длина волны 325 нм [59]. Результаты количественного определения суммы оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту представлены в таблице 14.

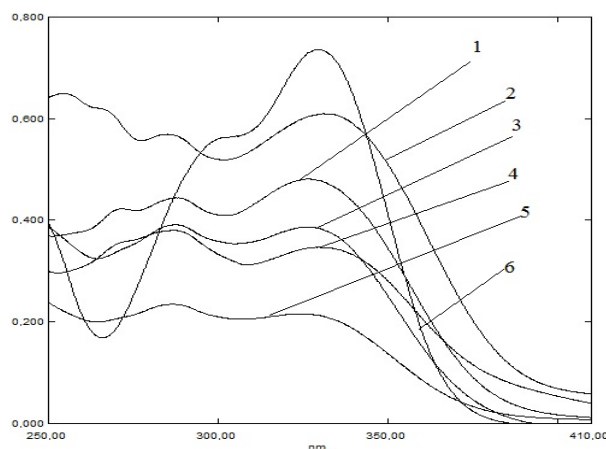


Рисунок 61 - УФ-спектр хлороформных извлечений из травы *M. fistulosa* (1), *M. didyma* (2), *M. hybrida* (3), *M. citriodora* (4), *M. Rassela* (5) и стандартного раствора хлорогеновой кислоты (6), $\lambda_{max} = 327$ нм.

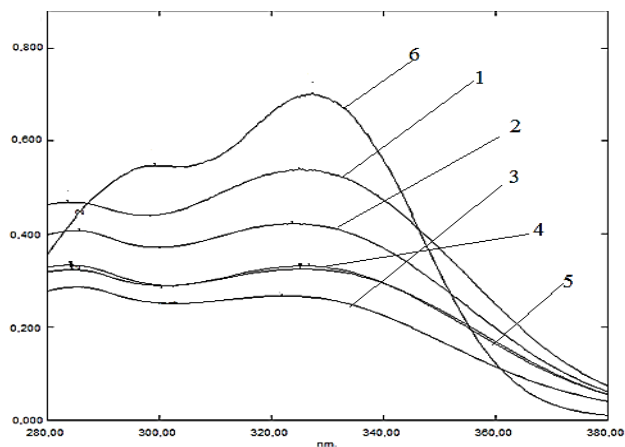


Рисунок 62 - УФ-спектр спиртовых извлечений из травы *M. fistulosa* (1), *M. didyma* (2), *M. hybrida* (3), *M. citriodora* (4), *M. Rassela* (5) и стандартного раствора кофейной кислоты (6), $\lambda_{max} = 325$ нм.

Таблица 14 - Результаты определения суммы оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту в исследуемых образцах монарды, %

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	Sx	P, %	t(P, f)	E_α	$\varepsilon, \%$
<i>M. fistulosa</i>	4	4,790	0,00137	0,03704	95	2,78	0,103	2,15
<i>M. didyma</i>	4	4,621	0,00196	0,04427	95	2,78	0,123	2,66
<i>M. hybrida</i>	4	3,740	0,00182	0,04266	95	2,78	0,119	3,17
<i>M. citriodora</i>	4	4,062	0,00007	0,00837	95	2,78	0,023	2,20
<i>M. Rassela</i>	4	3,881	0,00186	0,04313	95	2,78	0,112	3,09

На основании проведенного анализа установлено, что наибольшее содержание суммы оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту наблюдали в монарде трубчатой ($4,790 \pm 0,103\%$), а наименьшее в монарде гибридной ($3,740 \pm 0,119\%$).

Определение количественного содержания дубильных веществ

Дубильные вещества широко распространены в растительном мире и лекарственные растения их содержащие применяется как наружно, так и внутрь в качестве вяжущих, противовоспалительных, бактерицидных и кровоостанавливающих средств [86].

На основе проведенного качественного анализа было установлено, что в траве монарды преобладают конденсированные дубильные вещества (производные катехинов). Определение данной группы веществ проводили двумя методами: методом окислительно-восстановительного титрования в пересчете на танин и спектрофотометрическим методом по реакции взаимодействия суммы катехинов с железо-тарtratным реактивом с образованием окрашенного комплекса в присутствии фосфатного буфера (pH=8,2) [23, 25]. Для выбора аналитической длины волны при спектрофотометрическом определении дубильных веществ проводили спектральный анализ извлечений из травы различных видов монарды и наблюдался максимум поглощения при длине волны 545 нм, характерный для комплекса катехинов с железо-тарtratным реактивом, совпадающий с максимумом поглощения стандартного вещества – раствора катехина (рисунок 63) [25].

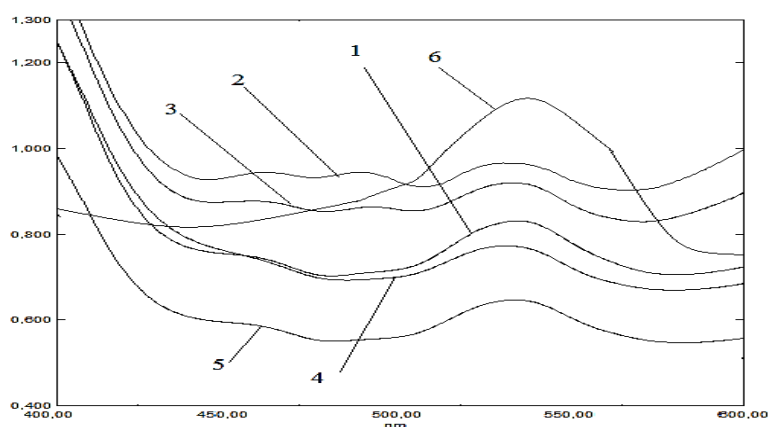


Рисунок 63 - УФ-спектр водных извлечений из травы M. fistulosa (1), M. didyma (2), M. hybrida (3), M. citriodora (4), M. Rassela (5) и стандартного раствора катехина (6).

Результаты количественного определения дубильных веществ по двум методикам представлены в таблице 15. Анализируя полученные результаты исследования можно отметить, что наибольшее содержание дубильных веществ отмечалось в сырье монарды двойчатой ($9,44 \pm 0,46\%$ и $5,55 \pm 0,21\%$), наименьшее – в монарде лимонной ($5,42 \pm 0,36\%$ и $3,13 \pm 0,19\%$).

Таблица 15 - Результаты определения дубильных веществ в исследуемых образцах монарды, %

Наименование сырья	Содержание дубильных веществ, в пересчете на танин, %	Содержание дубильных веществ, в пресчете на катехин, %
<i>M. fistulosa</i>	$7,83 \pm 0,26$	$4,63 \pm 0,23$
<i>M. didyma</i>	$9,44 \pm 0,46$	$5,55 \pm 0,21$
<i>M. hybrida</i>	$9,05 \pm 0,32$	$4,82 \pm 0,28$
<i>M. citriodora</i>	$5,42 \pm 0,36$	$3,13 \pm 0,19$
<i>M. Rassela</i>	$8,23 \pm 0,19$	$4,20 \pm 0,26$

При сравнении двух методик и расчетам критерия Фишера выявлено, что спектрофотометрический метод, по сравнению с титриметрическим методом статистически значим и более достоверен, поэтому данный метод может быть выбран в качестве основного для определения дубильных веществ в траве монарды (таблица 16).

Таблица 16 - Расчет критерия Фишера для выбора метода количественного определения дубильных веществ из травы монарды

Исследуемый объект	F	F(P,f)	f	S _p	T	T(P,f)
<i>M. fistulosa</i>	1,28	4,39	4	1,245	2,57	2,31
<i>M. didyma</i>	3,81			1,095	3,55	
<i>M. hybrida</i>	1,31			1,734	2,44	
<i>M. citriodora</i>	3,58			1,341	3,07	
<i>M. Rassela</i>	0,53			0,665	2,68	

Изучение аминокислотного состава

Аминокислоты – это класс особых органических соединений, которые участвуют практически во всех биохимических процессах, проходящих в организме: в синтезе витаминов, пигментов, гормонов и пуриновых компонентов. Определение содержания аминокислот в траве монарды проводили рентгенофлуоресцентным методом (таблица 17).

Таблица 17 – Результаты определения свободных аминокислот в исследуемых образцах

Амино- кислоты	Содержание свободных аминокислот				
	<i>Monarda fistulosa</i>	<i>Monarda didyma</i>	<i>Monarda hybrida</i>	<i>Monarda citriodora</i>	<i>Monarda Rassela</i>
Лизин	0,14	0,06	0,74	0,17	0,40
Метионин	0,25	0,20	0,13	0,16	0,06
Цистеин	0,50	0,73	0,93	0,63	0,82
Гистидин	0,05	0,21	0,28	0,10	0,12
Аргинин	0,86	0,82	0,47	0,67	0,62
Треонин	0,48	0,42	0,15	0,35	0,26
Серин	0,70	0,60	0,37	0,56	0,48
Пролин	2,02	2,17	1,85	1,93	1,87
Глицин	1,07	1,02	0,81	1,01	0,83
Валин	0,63	0,72	0,36	0,59	0,44
Изолейцин	0,42	0,29	0,57	0,47	0,45
Лейцин	0,03	0,43	0,59	0,25	0,30
Тирозин	0,19	0,21	0,09	0,17	0,10
Фенил	0,51	0,54	0,23	0,38	0,36
Суммарное содержание	7,95	8,42	7,57	7,44	7,11

В результате проведенного анализа установлено, что в сырье присутствуют 14 аминокислот, из которых восемь незаменимые аминокислоты и шесть заменимых. Наибольшее суммарное содержание аминокислот отмечалось в траве монарды двойчатой 8,42%, а наименьшее – в монарде Рассела – 7,11%

Изучение макро- и микроэлементного состава

Растения богаты разнообразными макро- и микроэлементами, причем концентрация их в растениях близка по содержанию в почве и может меняться в зависимости от различных факторов. Макро- и микроэлементы играют определенную роль в обмене веществ, влияют на многие физиологические процессы и могут оказывать лечебный эффект. Изучение элементного состава проводилось в траве различных видов монарды рентгенофлуоресцентным методом (таблица 18).

Таблица 18 – Результаты определения элементного состава различных видов сырья монарды

Наименование элементов	Количественное содержание элементов				
	<i>Monarda fistulosa</i>	<i>Monarda didyma</i>	<i>Monarda hybrida</i>	<i>Monarda citriodora</i>	<i>Monarda Rassela</i>
<i>Макроэлементы, %</i>					
Калий	1,02	0,86	1,02	1,22	0,90
Натрий	0,27	0,27	0,23	0,25	0,17
Кальций	1,47	1,44	1,26	1,22	0,95
Фосфор	0,22	0,22	0,22	0,20	0,19
<i>Микроэлементы, мг%</i>					
Цинк	73,34	66,14	65,75	72,90	58,89
Железо	97,47	81,05	90,86	94,19	324,00
Медь	7,60	7,95	6,33	5,94	4,01
Марганец	343,22	333,24	339,55	326,79	383,14
Йод	0,20	0,20	0,17	0,19	0,11

Проведя анализ полученных данных по изучению макро- и микроскопического состава, можно отметить следующее: среди макроэлементов в большем количестве калий накапливается в траве монарды лимонной 1,22%, натрий в монарде дудчатой (трубчатой) и монарде двойчатой 0,27%, кальций – в монарде дудчатой (трубчатой) – 1,47%, фосфор в монарде дудчатой (трубчатой), двойчатой, гибридной – 0,22%. Среди микроэлементов: цинк в большем количестве накапливается в монарде дудчатой (трубчатой) – 73,34 мг%, железо – в монарде дудчатой (трубчатой) – 97,47 мг%, медь – в монарде двойчатой 7,95 мг%, марганец в большем количестве накапливается в монарде Рассела – 383,14 мг%, по содержанию йода на первом месте стоит монадра дудчатая (трубчатая) и двойчатая – 0,20 мг%.

4.4. Разработка методики количественного определения эфирного масла

Согласно литературным данным, монарда является эфиромасличным растением и обладает широким спектром фармакологической активности [5, 73, 84, 108]. Поэтому нашей задачей было провести сравнительную оценку различных видов монарды по содержанию в них эфирного масла с использованием разных методов количественного определения, подобрать условия, позволяющие более полно извлечь эфирные масла из сырья и выбрать наиболее объективный метод [44].

Количественное определение эфирного масла в сырье монарды проводили используя три методики, описанные в ГФ-XIV издания, с целью выбрать наилучший метод определения содержания эфирного масла в траве монарды, с максимальным его выходом: метод 1 - перегонка с водяным паром с использованием приемника Гинзберга, метод 2 – перегонка с водяным паром с использованием приемника Клевенджера и метод 3 - перегонка с водяным паром с использованием приемника Клевенджера и декалина [23].

Обобщая полученные результаты следует отметить, что при использовании метода 2 наблюдались определенные трудности при воспроизведении методики, а именно, при спуске дистиллята эфирное масло не спускалось в градуированную часть трубки-приемника, где должно производиться дальнейшее измерение объема выделившегося эфирного масла, а полученное эфирное масло монарды стекало и частично оставалось на стенках трубки-приемника, так как имело густую консистенцию, что привело к невозможности измерения его объема. Поэтому данный метод для дальнейших исследований не использовали и сравнение проводили только по двум методикам (метод 1 и метод 3). Для выбора оптимального метода была проведена сравнительная оценка результатов определения и расчет критерия Фишера (таблица 19). В результате было установлено, что более статистически значимым является метод 1, который и был выбран в качестве приоритетного.

Таблица 19 - Расчет критерия Фишера для выбора метода получения эфирного масла из травы монарды

Исследуемый объект	F	F (P,f)	f	S _p	T	T(P,f)
<i>M. fistulosa</i>	2,55	4,39	4	0,0253	2,29	2,31
<i>M.didyma</i>	3,24			0,0246	1,17	
<i>M.hybrida</i>	3,37			0,0086	3,48	
<i>M.citriodora</i>	1,54			0,0350	2,94	
<i>M.Rassela</i>	2,30			0,0046	9,78	

Для определения содержания эфирного масла в сырье монарды были подобраны оптимальные условия, обеспечивающие максимальный выход эфирного масла из сырья монарды, а именно: навеска сырья, степень измельченности и время перегонки [44, 48].

На первом этапе определяли навеску сырья травы монарды для оптимального выхода эфирного масла. Пробы брали по 5,0 г, 10,0 г, 15,0 г и 20,0 г. Результаты исследования представлены на рисунке 64.

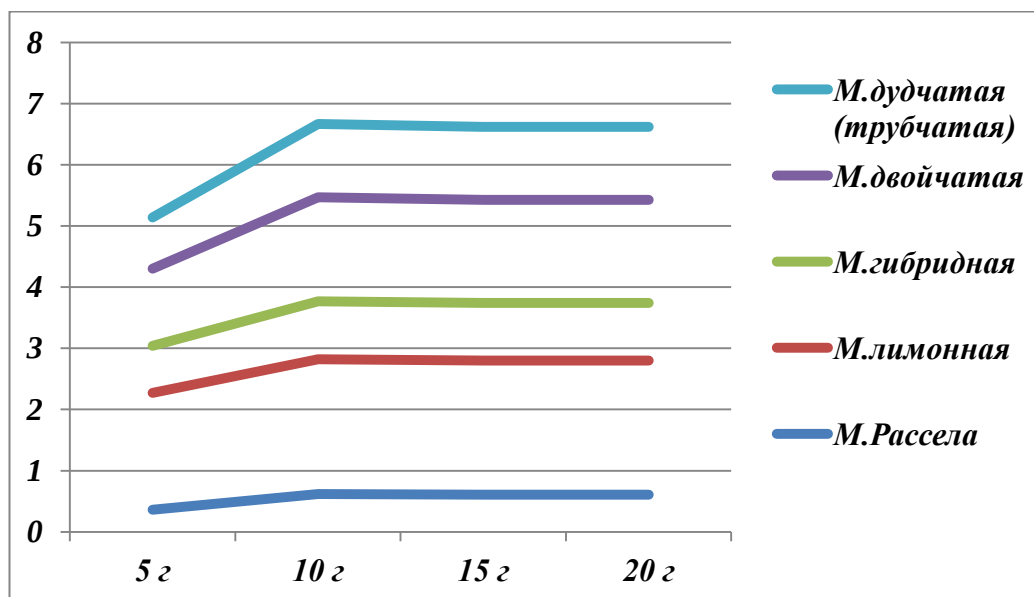


Рисунок 64 - Выбор навески сырья травы монарды для количественного определения эфирного масла

Результаты исследования по выбору времени перегонки и степени измельченности сырья представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Результаты определения условий выхода эфирного масла из травы монарды

Степень измельчения, г	Выход эфирного масла, %			
	Время перегонки			
	30 минут	60 минут	90 минут	120 минут
<i>Monarda fistulosa</i>				
1 мм	0,31±0,06	0,52±0,02	0,31±0,04	0,11±0,01
2 мм	0,50±0,02	1,26±0,04	0,83±0,04	0,52±0,03
3 мм	0,10±0,01	0,83±0,04	0,62±0,03	0,31±0,02
<i>Monarda didyma</i>				
1 мм	0,83±0,05	1,10±0,07	0,90±0,03	0,20±0,01

2 мм	1,04±0,06	1,70±0,08	1,04±0,05	0,50±0,03
3 мм	0,50±0,02	0,70±0,04	0,50±0,04	0,21±0,02
<i>Monarda hybrida</i>				
1 мм	0,10±0,01	0,10±0,01	0,10±0,01	-
2 мм	0,30±0,02	1,00±0,03	0,48±0,02	0,20±0,01
3 мм	0,10±0,01	0,31±0,02	0,31±0,02	0,10±0,01
<i>Monarda citriodora</i>				
1 мм	1,10±0,05	1,40±0,05	0,95±0,04	0,40±0,03
2 мм	1,60±0,06	2,30±0,08	1,90±0,07	1,06±0,04
3 мм	0,95±0,05	1,30±0,05	1,10±0,04	0,65±0,03
<i>Monarda Rassela</i>				
1 мм	0,15±0,01	0,20±0,01	0,20±0,01	0,10±0,01
2 мм	0,34±0,02	0,61±0,03	0,42±0,03	0,37±0,02
3 мм	0,27±0,02	0,42±0,03	0,31±0,04	0,15±0,02

Обобщая результаты исследования, следует отметить, что подобраны оптимальные условия для количественного определения эфирного масла в различных видах монарды: навеска – 10,0 г; измельченность сырья – 2 мм; время перегонки - 1 час. При данных условиях экстракции выделяется максимальный объем эфирного масла с характерными для него органолептическими свойствами и предлагается следующая методика: точная навеска сырья 10,0 г, проходящего сквозь сито 2 мм, помещают в круглодонную колбу вместимостью 1000 мл, заливают 300 мл воды очищенной. Колбу закрывают пробкой, присоединяют к обратному холодильнику с приемником Гинзберга, ставят на плитку и доводят до кипения на водяной бане (время перегонки - 1 час с начала момента закипания смеси). Содержание эфирного масла в абсолютно сухом сырье в массо-объемных процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot (100 - W)}, \text{ где:}$$

a - навеска лекарственного растительного сырья, г;

V – объем эфирного масла, мл

W – потеря в массе при высушивании, %

Метрологическая характеристика методики количественного определения эфирного масла приведена в таблице 21. Таким образом, установлено, что наибольший выход эфирного масла наблюдается в монарде лимонной ($2,28 \pm 0,068\%$), а наименьший - в монарде Рассела ($0,63 \pm 0,018\%$).

Таблица 21 - Метрологические характеристики определения эфирных масел в различных видах монарды

№	Исследуемый объект	n	f	$\bar{x}$	S^2	S_x	P, %	T (P, f)	E_a	$E_{cp}, \%$
1	<i>M. fistulosa</i>	5	4	1,23	0,00014	0,011	95	2,78	0,027	2,26
2	<i>M. didyma</i>	5	4	1,72	0,00012	0,010	95	2,78	0,028	2,64
3	<i>M. hybrida</i>	5	4	0,95	0,00008	0,009	95	2,78	0,025	2,72
4	<i>M. citriodora</i>	5	4	2,28	0,00061	0,025	95	2,78	0,068	3,02
5	<i>M. Rassela</i>	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. Для полученных эфирных масел из травы различных видов монарды также был определен показатель преломления (таблица 22).

Таблица 22 – Физико-химические показатели исследуемых образцов
эфирных масел монарды

Органолептические показатели	Количественное содержание элементов				
	<i>Monarda fistulosa</i>	<i>Monarda didyma</i>	<i>Monarda hybrida</i>	<i>Monarda citriodora</i>	<i>Monarda Rassela</i>
Цвет	оранжевый	красновато-желтый	светло-коричневый	красновато-коричневый	оранжевый
Запах	пряный, лимонно-карвакрольный не резкий	пряный, мятно-тимольный резкий	пряный, мятно-тимольный резкий	пряный, лимонно-карвакрольный не резкий	пряный, мятно-тимольный резкий
Показатель преломления	1,5030	1,4987	1,5033	1,4983	1,4990

Проводя анализ на различных сериях образцов различных видов монарды было выявлено, что количественное содержание эфирного масла в траве монарды дудчатой (трубчатой) варьирует от 1,03 до 1,25 %, монарды двойчатой – от 1,48 до 1,73%, монарды гибридной от 0,88 до 1,02%, монарды лимонной от 2,10 до 2,31%, монарды Рассела от 0,50 до 0,71% (таблица 23). На основании полученных результатов, предлагается установить норму содержания эфирного масла не менее 0,50 %.

Таблица 23 - Результаты определения содержания эфирного масла в траве различных видах монарды

№ серии	Дата контроля	Содержание эфирного масла, %
<i>Monarda fistulosa</i>		
001	23.10.14	1,17 ± 0,03
002	20.10.15	1,25 ± 0,04
003	19.10.16	1,19 ± 0,03
004	20.06.17	1,03 ± 0,03

005	28.10.17	$1,23 \pm 0,04$
<i>Monarda didyma</i>		
011	24.10.14	$1,60 \pm 0,05$
012	21.10.15	$1,73 \pm 0,06$
013	20.10.16	$1,63 \pm 0,04$
014	21.06.17	$1,48 \pm 0,04$
015	28.10.17	$1,70 \pm 0,06$
<i>Monarda hybrida</i>		
021	25.10.14	$0,93 \pm 0,03$
022	22.10.15	$1,02 \pm 0,03$
023	21.10.16	$1,00 \pm 0,02$
024	22.06.17	$0,88 \pm 0,03$
025	28.10.17	$0,95 \pm 0,02$
<i>Monarda citriodora</i>		
031	26.10.14	$2,13 \pm 0,08$
032	22.10.15	$2,31 \pm 0,11$
033	22.10.16	$2,15 \pm 0,07$
034	27.06.17	$2,10 \pm 0,08$
035	29.10.17	$2,12 \pm 0,06$
<i>Monarda Rassela</i>		
041	26.10.14	$0,67 \pm 0,02$
042	22.10.15	$0,71 \pm 0,02$
043	22.10.16	$0,59 \pm 0,03$
044	27.06.17	$0,50 \pm 0,0$
045	29.10.17	$0,64 \pm 0,02$

Кроме того, для нас представляло интерес провести сравнительную оценку содержания эфирного масла как в видах монарды, выращенных в условиях Республики Башкортостан, где проводилась интродукция растений,

так и в монарде, выращенной в климатических условиях Краснодарского края, более благоприятного для эфиромасличных растений. В качестве объекта исследования служило сырье монарды лимонной, заготовленной в Краснодарском крае, выход эфирного масла которой составил $2,11 \pm 0,13\%$. При этом следует отметить, что интродуцированные виды монарды по количественному содержанию эфирного масла не уступали монарде из Краснодарского края и даже в образце монарды лимонной выход был больше и составил $2,28 \pm 0,07\%$. Данный факт можно объяснить тем, что родиной монарды является Северная Америка, где климат ближе к нашему умеренному континентальному.

Компонентный состав эфирных масел, полученных от различных видов монарды изучали методом газовой хроматографии с масс-детектором [40]. Результаты исследования представлены на рисунках 65 - 70.

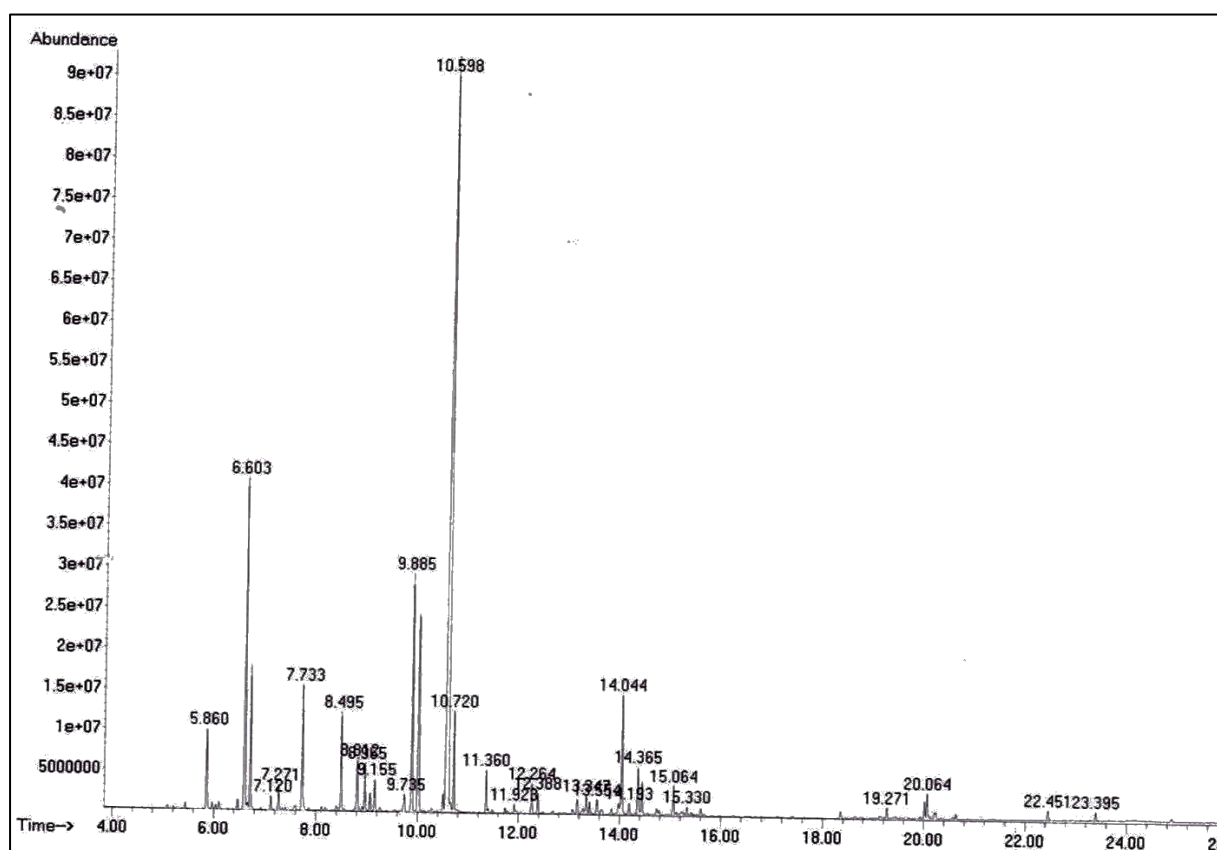


Рисунок 65- Хроматограмма эфирного масла монарды дудчатой (трубчатой)

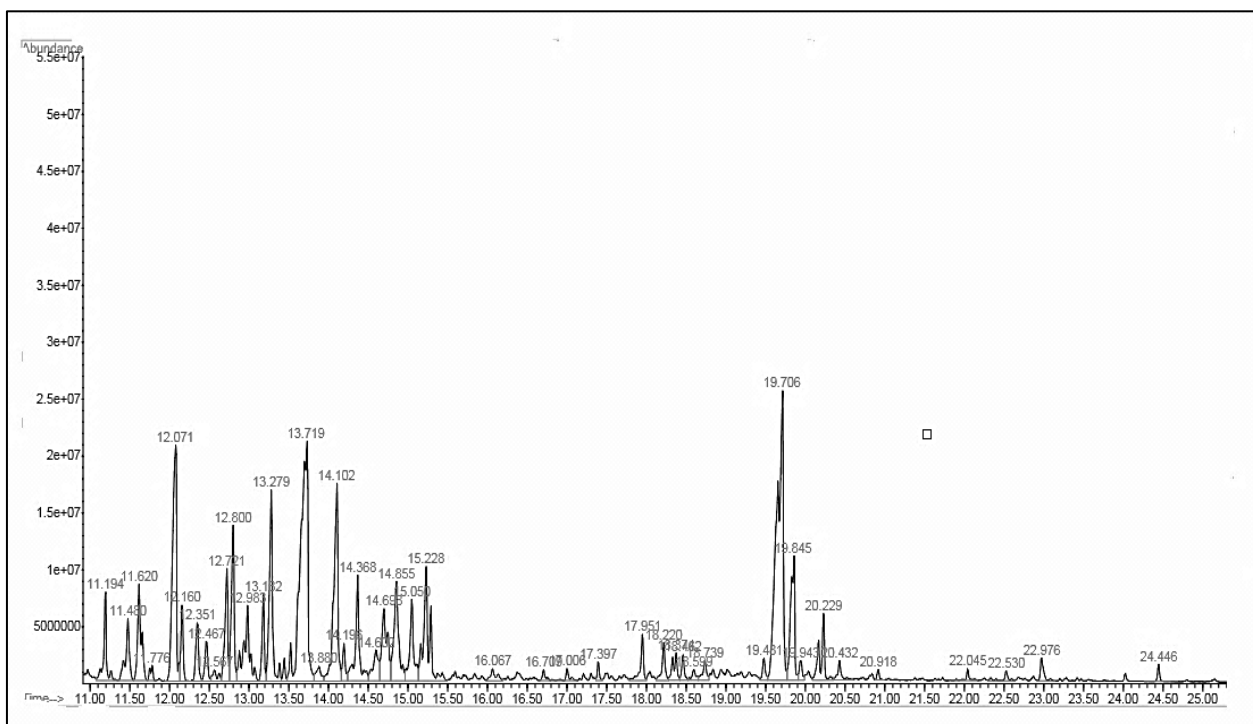


Рисунок 66 - Хроматограмма эфирного масла монарды двойчатой

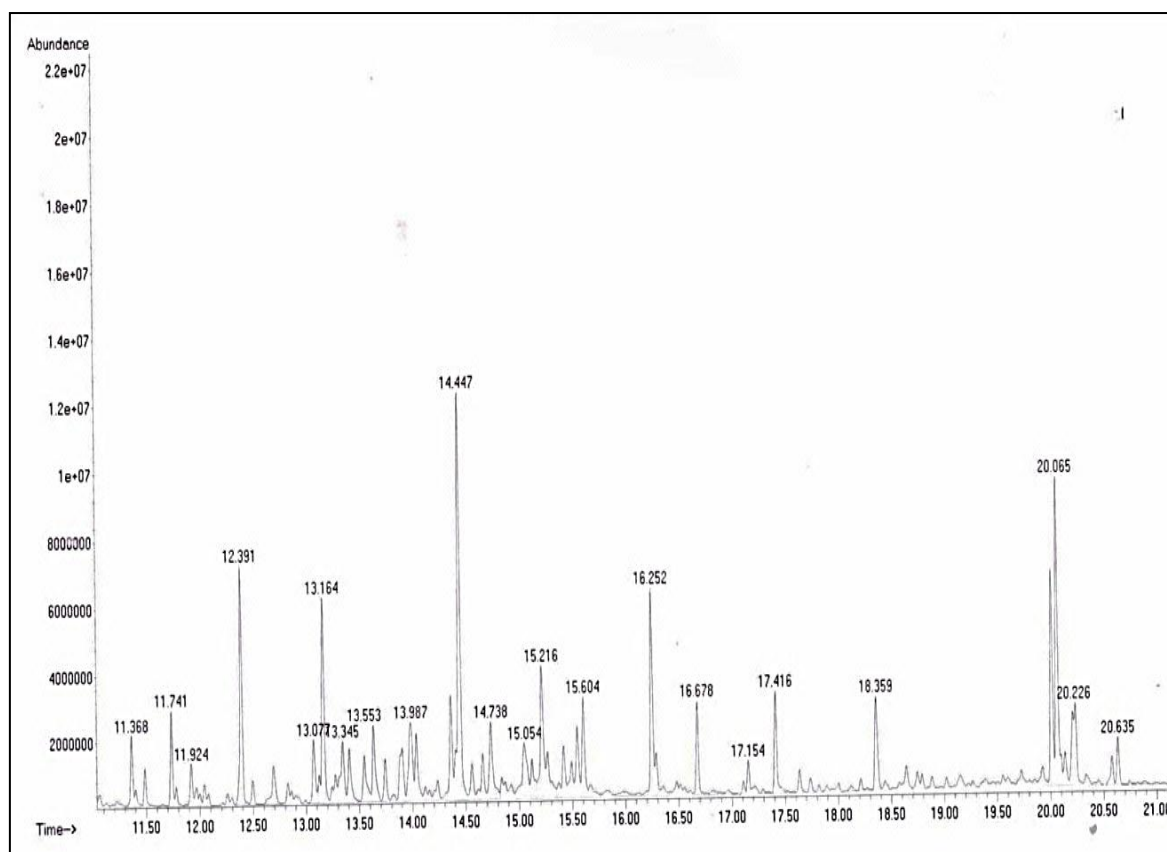


Рисунок 67- Хроматограмма эфирного масла монарды гибридной

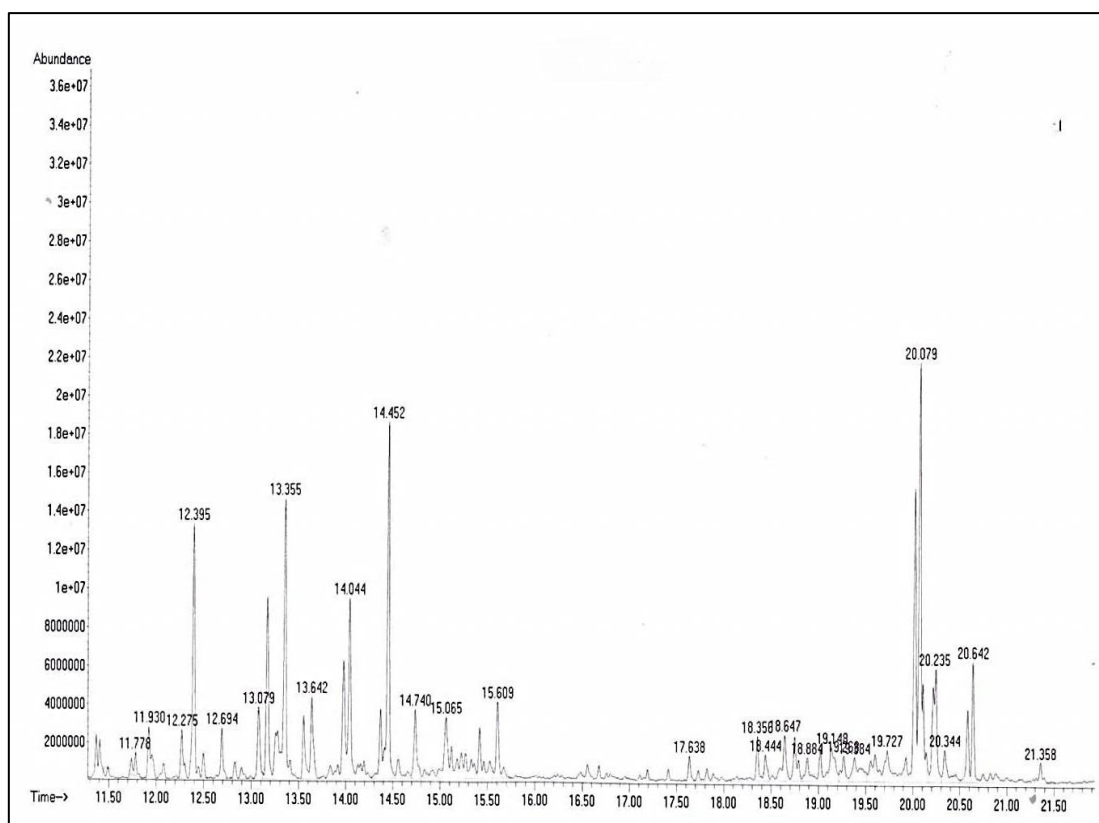


Рисунок 68- Хроматограмма эфирного масла монарды лимонной

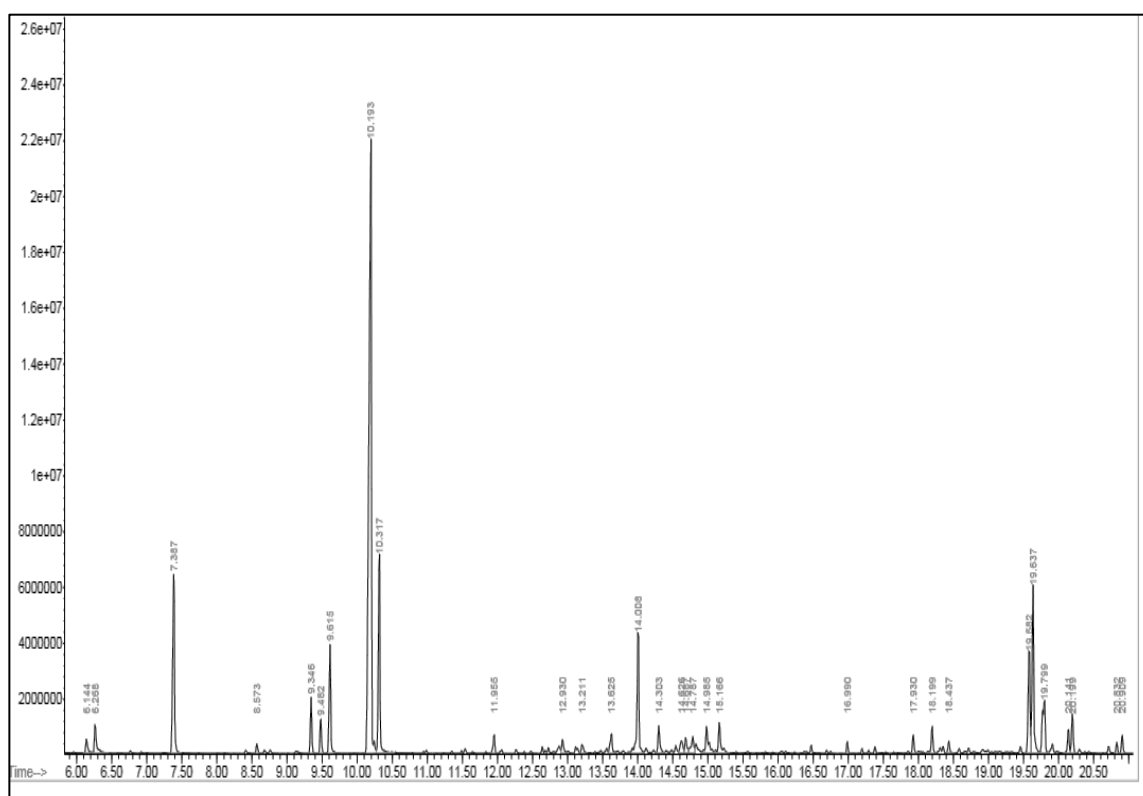


Рисунок 69- Хроматограмма эфирного масла монарды Рассела

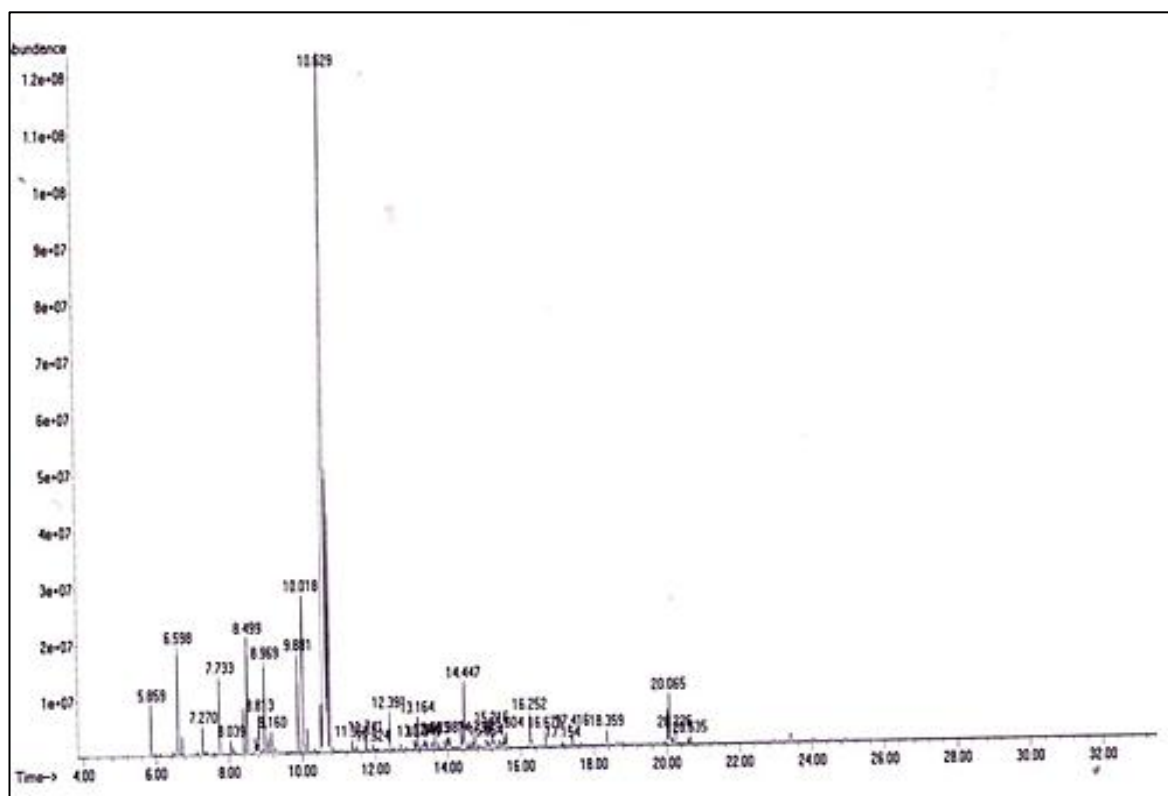


Рисунок 70- Хроматограмма эфирного масла монарды лимонной, из Краснодарского края

В исследуемых образцах эфирных масел идентифицированы следующие компоненты:

- 28 соединений в эфирном масле монарды дудчатой (трубчатой), их них в максимальном количестве накапливаются цимол, линалоол, камфора, метиловый эфир карвакрола, тимол, карвакрол (рисунок 65);

- 42 вещества в эфирном масле монарды двойчатой, из них преобладают 1-октен-3-ол, цимол, линалоол, 4-терпениол, метиловый эфир карвакрола, п-винилгвалкол, карвакрол, цис-метил-изоэвгенол, фарнезол, оксид кариофеллина (рисунок 66);

- 32 вещества в эфирном масле монарды гибридной, из них в максимальном количестве накапливаются цимол, линалоол, камфора, 3-циклогексен-1-ол, метиловый эфир карвакрола, цимен-2,5-дион, тимол, оксид кариофиллена (рисунок 67);

- 23 вещества в эфирном масле монарды лимонной, из них преобладают 1-октен-3-ол, цимол, линалоол, 4-терпениол, метиловый эфир карвакрола, тимол, карвакрол, камфора (рисунок 68);

- 24 вещества в эфирном масле монарды Рассела, из них в максимальном количестве накапливаются цимол, линалоол, метиловый эфир карвакрола, тимол, карвакрол (рисунок 69);

- 23 вещества в эфирном масле травы монарды лимонной, собранной в Краснодарском крае, из них в максимальном количестве накапливается цимол, линалоол, 4-терпинеол, метиловый эфир карвакрола, тимол, карвакрол, камфора, изохамогенол (рисунок 70).

Таким образом, в эфирных маслах, полученных от различных видов монарды, идентифицировано разное количество компонентов монотерпеновой, сесквитерпеновой и ароматической природы. Сравнительное соотношение компонентов, преобладающих в смеси эфирных масел представлено в таблице 24.

Таблица 24 – Результаты сравнительной характеристики компонентного состава эфирного масла, %

Компоненты эфирного масла, %	Виды монарды					
	<i>Monarda fistulosa</i>	<i>Monarda didyma</i>	<i>Monarda hybrida</i>	<i>Monarda Rassela</i>	<i>Monarda citriodora</i>	<i>Monarda citriodora</i> (Краснодар ский край)
Винилгваякол	-	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± 0,11	0,33± 0,11	0,17± 0,05	-	0,12± 0,03	0,17± 0,03
Оксид кариофиллена	-	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

Таким образом, изучен компонентный состав эфирных масел видов монарды и выявлено, что каждый вид содержит свыше 20 компонентов, среди которых наиболее важными являются тимол, карвакрол, 1,8-цинеол, гераниол, терпинен, лимонен, линалоол, мирцен и впервые выявлено наличие винилгваякола в эфирном масле травы монарды двойчатой. Преобладающим в количественном отношении компонентом эфирного масла всех видов монарды является тимол, содержание которого в смеси составляет от 16,50% (у монарды двойчатой) до 54,42% (у монарды гибридной). Также высокое процентное содержание в смеси наблюдается для винилгваякола (36,43% у монарды двойчатой), карвакрола и метилового эфира карвакрола (19,76% и 17,25%), линалоола (17,31%), цимола (15,71%). Компонентный состав эфирного масла, полученного из травы монарды лимонной, заготовленной в Краснодарском крае, не значительно отличается от состава образца монарды лимонной, заготовленной в Башкортостане. При этом содержание тимолола в образце сравнения выше, чем в монарде лимонной, но меньше, чем монарде

гибридной и дудчатой (трубчатой), и уступает по количественному содержанию линалоола монарде лимонной, заготовленной в Башкортостане.

4.5. Разработка методики количественного определения флавоноидов

Изучение количественного содержания флавоноидов представляет интерес, так как по результатам качественного анализа было установлено, что в видах монарды представлен разнообразный состав фенольных соединений и, в частности флавоноидов, что важно, так как данная группа биологически активных веществ является ценной, поскольку флавоноиды отвечают за разнообразные фармакологические эффекты лекарственных растений. Однако, следует отметить, что качественный и количественный состав флавоноидов монарды изучен недостаточно. Поэтому следующим этапом нашей работы было проведение исследований по разработке методики количественного определения флавоноидов в траве монарды. Определение проводилось методом дифференциальной спектрофотометрии, поскольку флавоноиды способны образовывать устойчивый комплекс при добавлении комплексообразующей добавки алюминия хлорида и наблюдается батохромный сдвиг [45], что дает возможность отделить данную группу от сопутствующих веществ. При выборе стандартного вещества–флавоноида, на который вести пересчет были изучены характеристики УФ-спектров спиртовых извлечений из всех видов монарды при добавлении спиртового раствора алюминия хлорида, в сравнении со стандартными веществами – флавоноидов в аналогичных условиях. В результате было установлено, что комплексы с $AlCl_3$ извлечений из травы монарды имеют более близкие значения максимумов поглощения с флавоноидом лютеолином (λ_{max} комплекса $AlCl_3/HCl$ 398 нм) (рисунок 71).

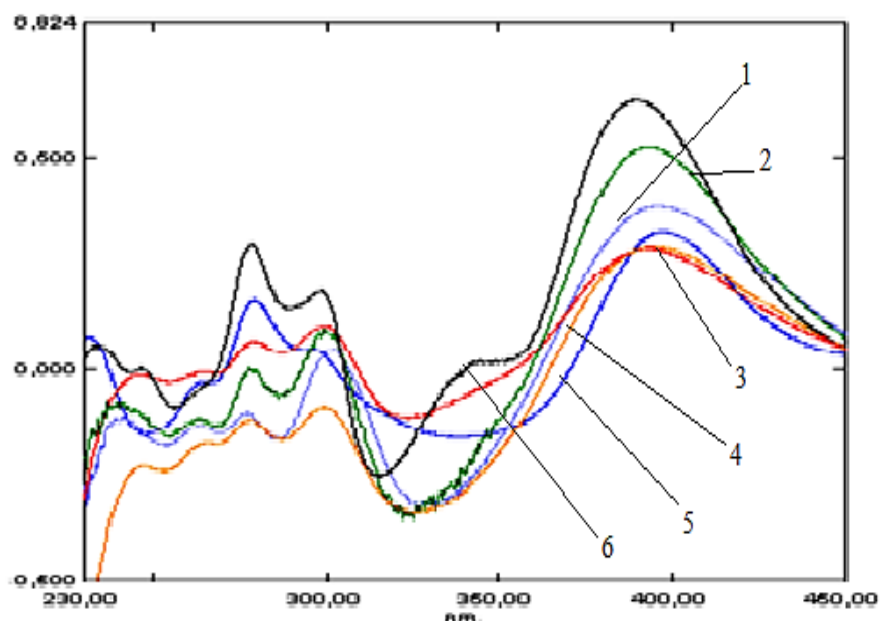


Рисунок 71 - УФ - спектры извлечений из травы монарды и стандартного образца при добавлении комплексообразующей добавки: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6- лютеолин ($\lambda_{\max} = 398$ нм).

Далее были проведены хроматографические исследования извлечений из травы монарды в сравнении со стандартным образцом лютеолина с использованием метода хроматоденситометрии, который позволяет провести качественную и количественную оценку исследуемых веществ путем введения изображений исследуемых хроматограмм в компьютер и сохранением их в оптимальном разрешении. Автоматический поиск и обработка пятен на хроматограммах, перевод их в форму хроматографических пиков, расчет значений R_f , площади и высоты пиков дает возможность получить объективные результаты об исследуемой группе веществ (рисунки 72-73).

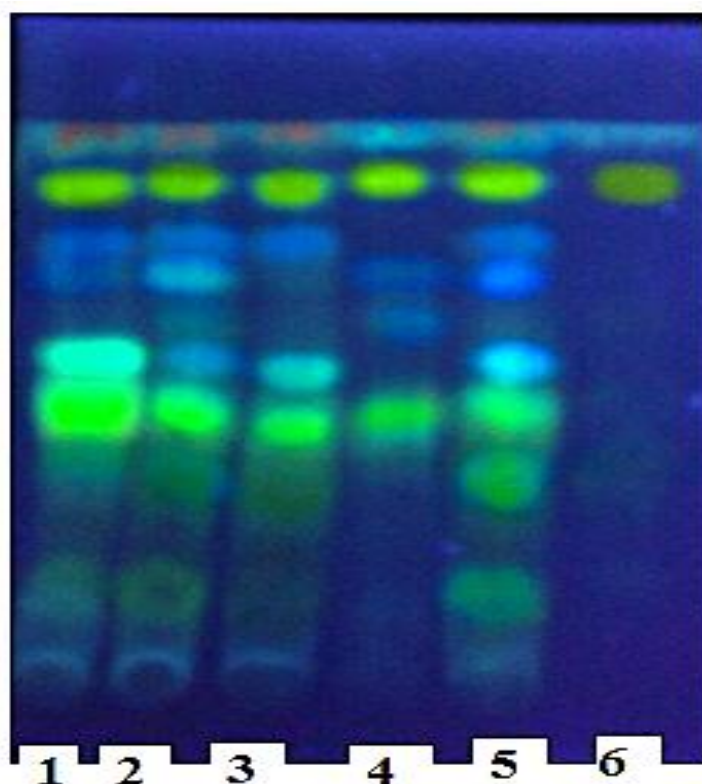


Рисунок 72. ТСХ, система «этилацетат - уксусная кислота - вода (5:1:1)» после обработки реактивом: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6- лютеолин

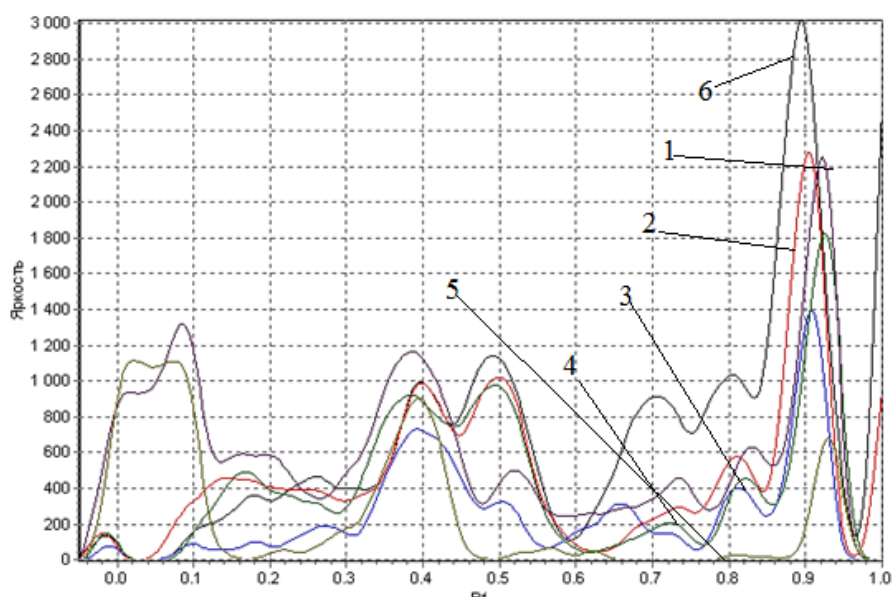


Рисунок 73- Денситограммы извлечений из различных видов монарды: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6- лютеолин.

Из результатов, представленных на денситограмме видно, что во всех пяти образцах монарды преобладает флавоноид лютеолин со значением $R_f \sim 0,89-0,90$ (рисунок 73), что подтверждается и интенсивностью пятен на

хроматограмме (рисунок 72) в сравнении со свидетелем. При этом можно отметить, что наибольшее содержание лютеолина наблюдается в монарде дудчатой (трубчатой) и двойчатой, наименьшее в монарде Рассела.

Далее проводился выбор оптимальных параметров экстракции флавоноидов из сырья монарды: тип экстрагента, соотношение сырья и экстрагента, время экстракции и кратность.

Для изучения влияния экстрагента на выход флавоноидов использовали спирт этиловый различной концентрации (рисунки 74-78, таблица 25), при этом было установлено, что оптимальным экстрагентом для всех видов монарды является спирт этиловый в концентрации 40%.

Таблица 25 - Результаты определения выбора экстрагента

Концентрация спирта этилового	Количественное содержание, %				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
40%	1,75±0,07	1,98±0,09	1,95±0,04	1,68±0,04	1,66±0,06
50%	1,62 ±0,06	1,93±0,08	1,88±0,02	1,58±0,05	1,62±0,03
70%	1,41±0,05	1,82±0,07	1,73±0,08	1,54±0,05	1,60±0,04
80%	1,31±0,05	1,85±0,07	1,64±0,06	1,49±0,06	1,51±0,04
90%	0,97±0,08	1,45±0,08	1,44±0,08	1,32±0,03	1,49±0,04

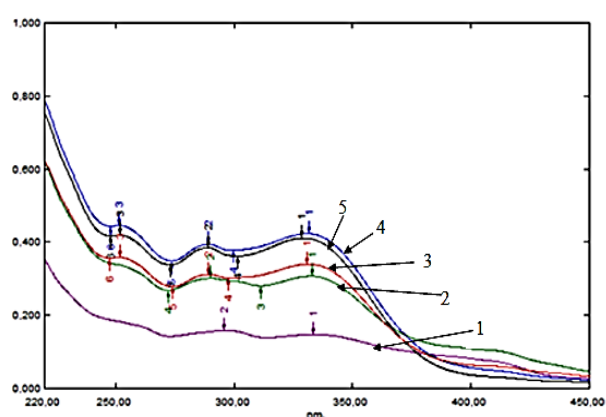


Рисунок 74 - УФ-спектр извлечения из травы монарды дудчатой (трубчатой) спиртом этиловым концентрации: 1 – 90%, 2 – 80%, 3 – 70%, 4 – 50%, 5 – 40%.

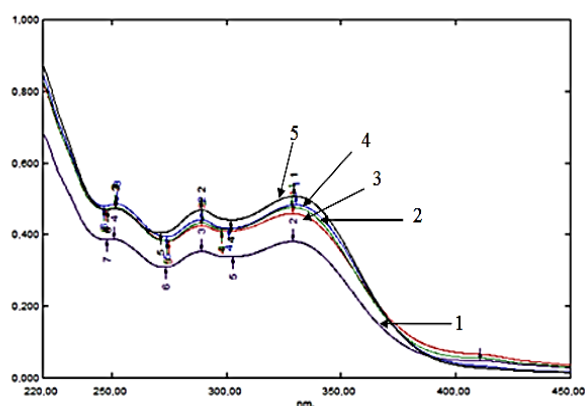


Рисунок 75 - УФ-спектр извлечения из травы монарды двойчатой спиртом этиловым концентрации: 1 – 90%, 2 – 80%, 3 – 70%, 4 – 50%, 5 – 40%.

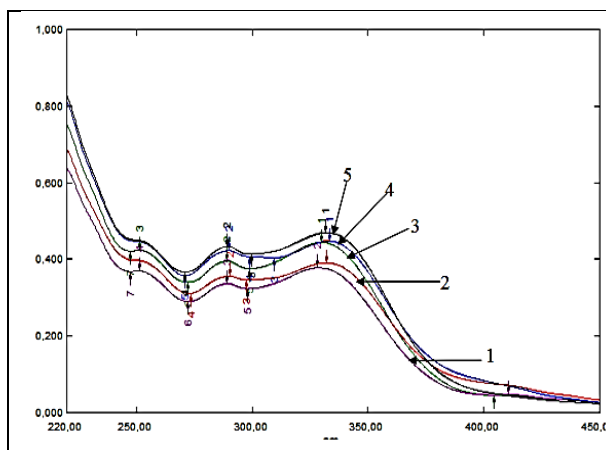


Рисунок 76 - УФ-спектр извлечения из травы монарды гибридной спиртом этиловым концентрации: 1 – 90%, 2 – 80%, 3 – 70%, 4 – 50%, 5- 40%

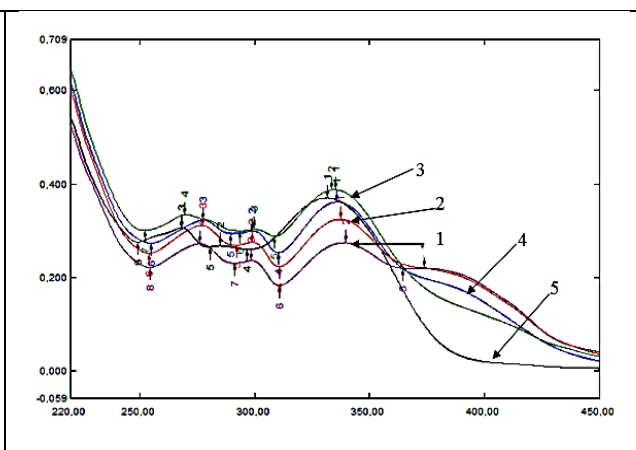


Рисунок 77 - УФ-спектр извлечения из травы монарды лимонной спиртом этиловым концентрации: 1 – 90%, 2 – 80%, 3 – 70%, 4 – 50%, 5- 40%.

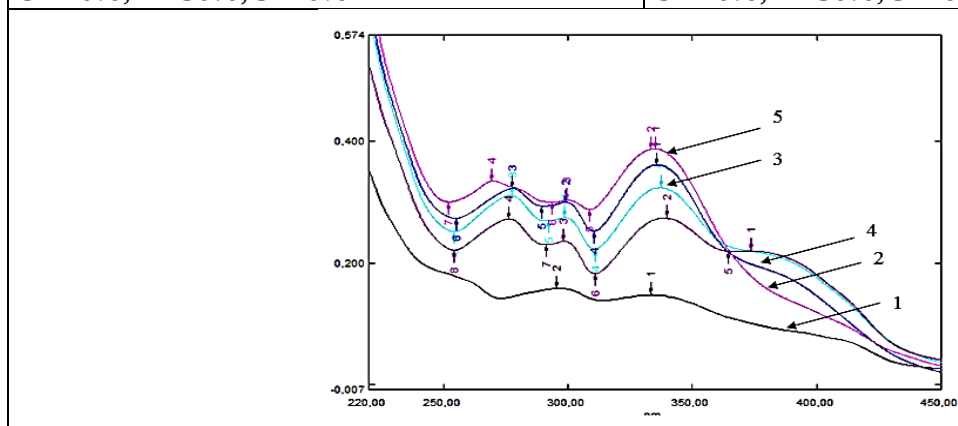


Рисунок 78 - УФ-спектр извлечения из травы монарды Рассела спиртом этиловым концентрации: 1 – 90%, 2 – 80%, 3 – 70%, 4 – 50%, 5- 40%.

При изучении такого показателя как соотношение сырья и экстрагента, было установлено, что оптимальным параметром является соотношение 1:30, при котором наблюдается наибольший выход флавоноидов (таблица 26).

Таблица 26 – Результаты определения соотношения сырье: экстрагент

Соотношение сырье:экстрагент	Количественное содержание, %				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
1:30	1,94±0,06	1,95±0,07	1,88±0,08	1,62±0,08	1,65±0,07
1:50	1,62±0,05	1,46±0,07	1,62±0,07	1,52±0,04	1,67±0,08
1:100	1,38±0,04	1,37±0,05	1,36±0,02	1,27±0,04	1,24±0,07
1:150	1,23±0,07	1,19±0,05	1,28±0,04	1,13±0,07	1,14±0,04

Для установления оптимальной степени измельченности сырья использовали сита с диаметром отверстий 1 мм; 2 мм; 3 мм (таблица 27), при этом максимальное извлечение флавоноидов из травы монарды достигается при использовании сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм.

Таблица 27 – Результат определения степени измельченности

Измельченность сырья	Количественное содержание, %				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
1 мм	1,83±0,06	1,80±0,07	1,72±0,08	1,57±0,08	1,45±0,07
2 мм	1,76±0,05	1,64±0,07	1,62±0,07	1,49±0,04	1,37±0,08
3 мм	1,44±0,04	1,60±0,05	1,54±0,02	1,27±0,04	1,34±0,07

Зависимость выхода флавоноидов от времени и кратности экстракции показана в таблице 28 и на рисунке 79. Из таблицы видно, что для максимального извлечения флавоноидов из травы различных видов монарды экстракцию необходимо проводить 30 минут и двукратно.

Таблица 28 – Результаты определения времени экстракции флавоноидов

Время экстракции флавоноидов	Количественное содержание, %				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
15 минут	1,68±0,10	1,63±0,07	1,78±0,04	1,43±0,08	1,75±0,09
30 минут	1,74±0,09	1,97±0,06	1,96±0,06	1,62±0,08	1,80±0,09
45 минут	1,70±0,09	1,86±0,05	1,82±0,04	1,54±0,07	1,79±0,08
60 минут	1,65±0,08	1,85±0,07	1,80±0,06	1,47±0,06	1,69±0,04

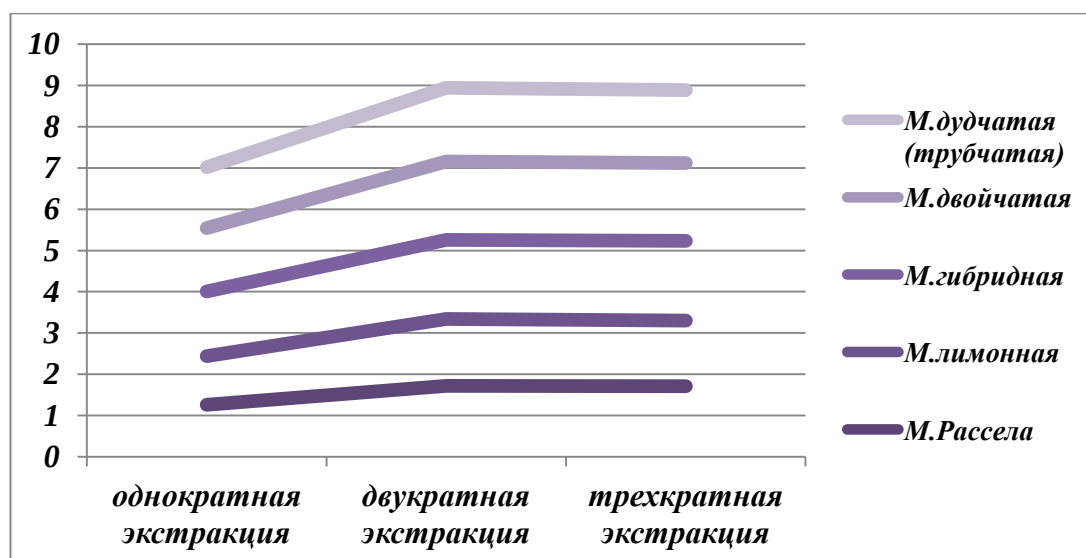


Рисунок 79- Кратность экстракции флавоноидов из травы монарды

Для проведения реакции комплексообразования необходимо добавлять определенное количество и концентрацию комплексообразователя, чтобы также достичь максимального выхода флавоноидов. Результаты исследования приведены в таблице 29.

Таблица 29 – Результаты подбора концентрации и количества комплексообразователя

Концентрация алюминия хлорида	Количественное содержание, %				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
Концентрация алюминия хлорида					
1% p-p AlCl ₃	1,57±0,058	1,63±0,032	1,52±0,031	1,62±0,056	0,96±0,032
2% p-p AlCl ₃	1,52±0,061	0,97±0,026	1,48±0,028	1,43±0,051	0,93±0,031
3% p-p AlCl ₃	1,36±0,046	0,90±0,022	1,42±0,034	1,55±0,047	0,90±0,023
5%p-p AlCl ₃	1,31±0,045	0,75±0,035	1,29±0,024	1,42±0,050	0,75±0,032
10%p-p AlCl ₃	1,31±0,052	0,65±0,037	1,26±0,023	1,44±0,048	0,65±0,029
Количество алюминия хлорида, добавленного в раствор					
1 мл	1,59±0,068	1,68±0,042	1,48 ±0,03	1,54±0,047	1,10 ±0,03
2 мл	1,42±0,061	1,23±0,026	1,24±0,018	1,37±0,069	0,87±0,042

3мл	1,27±0,058	1,16±0,047	1,17±0,019	1,29±0,023	0,81±0,037
5 мл	1,16±0,036	1,13±0,042	1,14±0,035	1,18±0,050	0,75±0,029

При изучении времени протекания реакции комплексообразования было установлено, что реакция развивается в течение 45 минут и комплекс остается стабильным в течение 1 часа (таблица 30).

Таблица 30 – Результаты определения времени комплексообразования

Время, мин	Количественное содержание, %				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
30 мин	1,28±0,056	1,22±0,037	1,27±0,021	1,49±0,052	0,77±0,045
45 мин	1,53±0,052	1,60±0,031	1,49±0,028	1,59±0,056	0,93±0,031
60 мин	1,52±0,048	1,58±0,031	1,49±0,028	1,58±0,056	0,93±0,031

Таким образом, разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в сырье монарды.

Методика количественного определения флавоноидов

Около 0,5 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц 1 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл и добавляют 30 мл 40 % спирта этилового. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане 30 мин. Извлечение фильтруют, избегая попадания частиц сырья на фильтр, в колбу вместимостью 50 мл. Затем экстракцию повторяют ещё раз, заливая сырье 20 мл экстрагента, кипятят 30 минут и фильтруют в ту же мерную колбу, доводя объем извлечения до метки этим же растворителем (раствор А).

1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 1% раствора хлорида алюминия в 95%-м этиловом спирте и 1 каплю хлористоводородной кислоты, доводят объем раствора 95%-м

этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Через 45 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 398 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 1 мл исследуемого раствора, 1 каплю хлористоводородной кислоты и 95%-й этиловый спирт до общего объема 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность государственного стандартного образца (ГСО) лютеолина: 1 мл 0.05% спиртового раствора ГСО лютеолина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 1% раствора хлорида алюминия в 95%-м этиловом спирте, доводят объем раствора 95%-м этиловым спиртом до метки и перемешивают. Измерения проводят аналогично испытываемому раствору.

Приготовление СО лютеолин: 0,05 г стандартного образца лютеолина (точная навеска) предварительно высушенного при температуре 130-135⁰С в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта при нагревании на водяной бане при периодическом перемешивании. Охлаждают, количественно переносят в другую мерную колбу на 100 мл, доводят объем раствора до метки тем же спиртом и перемешивают.

Приготовление раствора алюминия хлорида: 1% раствор - 1,4 г алюминия хлорида 6-водного растворяют (ГОСТ 3759-75); растворяют в 40 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора 95% спиртом до метки. Срок годности раствора при хранении в колбе с притертой пробкой 6 мес.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в % (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot V_6 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot V_3 \cdot V_4 \cdot V_5 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

A_1 – оптическая плотность испытываемого раствора;

A_0 – оптическая плотность ГСО лютеолина;

a_1 – навеска сырья, г;

V_1 – объем полученного экстракта сбора (50 мл);

V_2 – объем разведения аликвоты экстракта (25 мл);

V_3 – объем аликвоты экстракта (1 мл);

a_0 – навеска ГСО лютеолина, г;

V_4 – объем раствора стандарта (100 мл);

V_5 – объем разведения аликвоты раствора стандарта (25 мл);

V_6 – объем аликвоты раствора стандарта (1 мл);

W – потеря в массе при высушивании сырья.

Для методики количественного определения флавоноидов в траве монарды определены метрологические характеристики, представленные в таблице 31, и установлено, что ошибка опыта не превышает предельно допустимого значения.

Таблица 31 - Метрологическая характеристика методики количественного определения флавоноидов

Исследуемый объект	f	$\bar{x}$	S^2	S_x	P, %	t(P, f)	E_α	$\varepsilon, \%$
<i>M. fistulosa</i>	5	1,573	0,000038	0,0062	95	2,57	0,016	1,03
<i>M. didyma</i>	5	1,631	0,000065	0,0080	95	2,57	0,021	2,26
<i>M. hybrida</i>	5	1,524	0,000132	0,0114	95	2,57	0,029	1,93
<i>M. citriodora</i>	5	1,619	0,000089	0,0094	95	2,57	0,024	1,50
<i>M. Rassela</i>	5	0,905	0,000119	0,0109	95	2,57	0,028	3,09

Опытами с добавками стандартного образца лютеолина к навеске сырья травы монарды подтверждено отсутствие систематической ошибки методики (таблица 32).

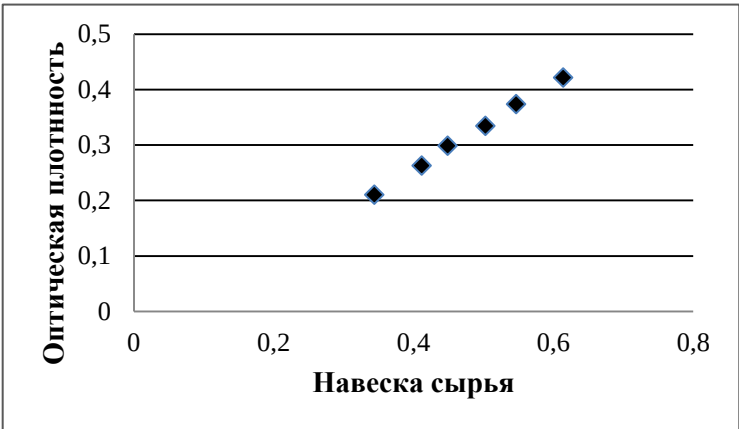
Таблица 32 - Определение содержания флавоноидов с добавками
стандартного вещества

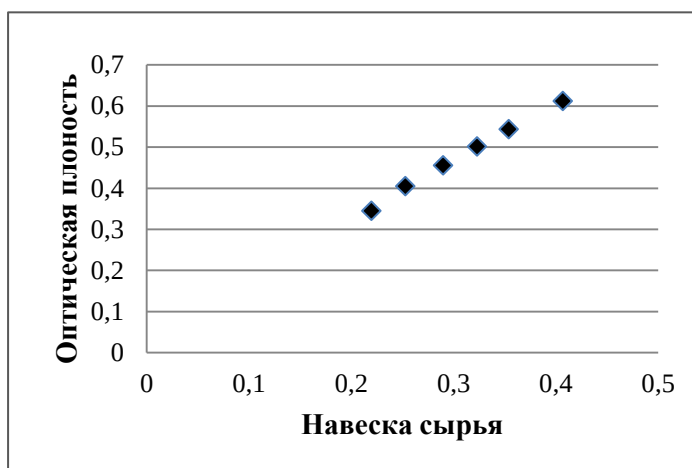
Содержание флавоноидов, мг	Добавлено лютеолина, мг	Должно быть флавоноидов, мг	Найдено флавоноидов, мг	х, мг	ε, %
<i>Monarda fistulosa</i>					
15,241	0,25	15,491	15,851	0,360	2,27
15,334	0,50	15,834	16,126	0,292	2,54
15,382	0,75	16,152	15,866	-0,286	1,97
<i>Monarda didyma</i>					
16,329	0,25	16,579	17,085	0,517	2,87
16,373	0,50	16,873	17,205	0,332	3,06
16,481	0,75	17,231	16,952	-0,279	2,47
<i>Monarda hybrida</i>					
14,979	0,25	15,229	15,681	0,452	3,15
15,038	0,50	15,538	15,658	0,120	3,05
15,144	0,75	15,894	15,484	-0,140	2,67
<i>Monarda citriodora</i>					
16,037	0,25	16,287	16,776	0,489	2,64
16,088	0,50	16,588	16,810	0,222	2,59
16,135	0,75	16,885	16,557	-0,328	2,22
<i>Monarda Rassela</i>					
0,885	0,25	1,135	1,174	0,035	1,74
0,903	0,50	1,403	1,424	0,021	1,85
0,915	0,75	1,665	1,631	-0,034	2,06

Валидационная оценка разработанной нами методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в траве монарды была проведена по следующим критериям: правильность, прецизионность, линейность и специфичность.

Коэффициент корреляции является критерием приемлемости линейности и если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией (таблица 33). Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99.

Таблица 33 – Результаты определения линейности разработанной методики

№	Навеска сырья, %	Навеска сырья, г	Оптическая плотность	Содержание суммы флавоноидов, %
<i>Monarda fistulosa</i>				
1.	70	0,344	0,210	1,426
2.	80	0,412	0,262	1,485
3.	90	0,449	0,298	1,550
4.	100	0,503	0,336	1,563
5.	110	0,547	0,373	1,592
6.	120	0,614	0,421	1,605
 $y = 0,785x - 0,059$ $R^2 = 0,9986$				
<i>Monarda didyma</i>				
1.	70	0,352	0,222	1,475
2.	80	0,407	0,260	1,494
3.	90	0,451	0,292	1,514
4.	100	0,507	0,343	1,582
5.	110	0,551	0,381	1,617
6.	120	0,600	0,423	1,649

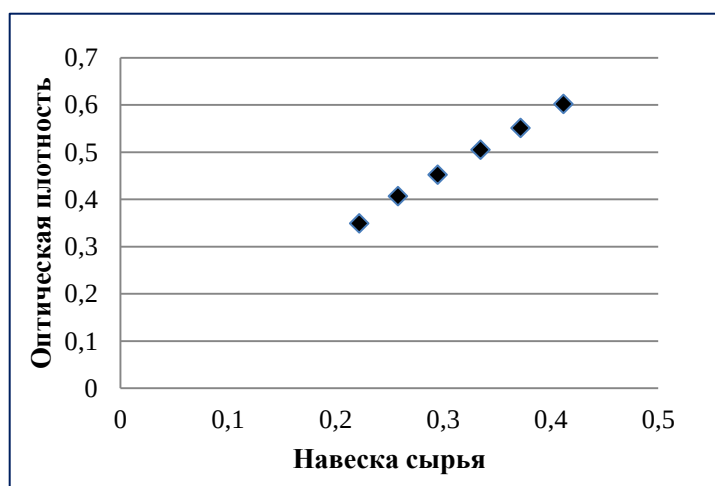


$$y = 1,215x + 0,089$$

$$R^2 = 0,9974$$

Monarda hybrida

1.	70	0,345	0,213	1,441
2.	80	0,405	0,253	1,458
3.	90	0,455	0,290	1,487
4.	100	0,501	0,323	1,504
5.	110	0,543	0,354	1,522
6.	120	0,612	0,407	1,552



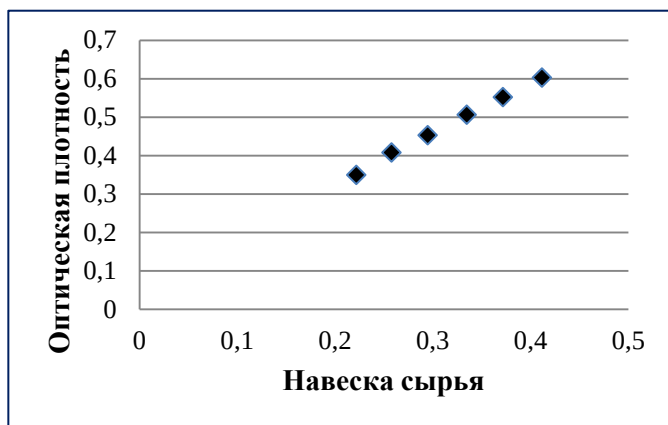
$$y = 1,408x + 0,043$$

$$R^2 = 0,9971$$

Monarda citriodora

1.	70	0,349	0,222	1,485
2.	80	0,407	0,263	1,509

3.	90	0,452	0,295	1,527
4.	100	0,505	0,335	1,553
5.	110	0,551	0,372	1,568
6.	120	0,602	0,412	1,597

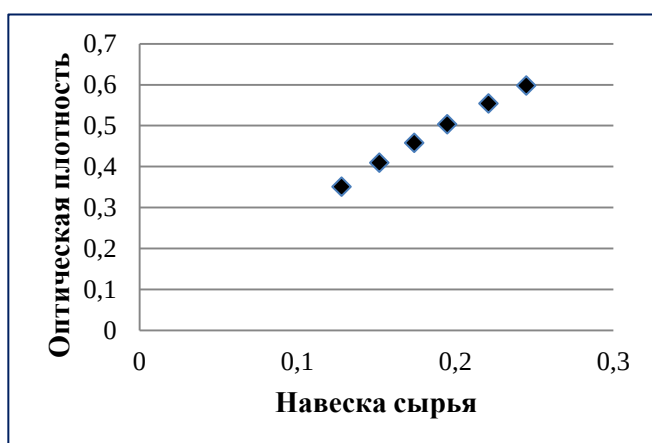


$$y = 1,313x + 0,063$$

$$R^2 = 0,9984$$

Monarda Rassela

1.	70	0,351	0,128	0,853
2.	80	0,409	0,152	0,871
3.	90	0,458	0,174	0,888
4.	100	0,503	0,195	0,905
5.	110	0,554	0,221	0,931
6.	120	0,598	0,245	0,957



$$y = 2,107x + 0,087$$

$$R^2 = 0,9974$$

Результаты определения повторяемости разработанной методики, определенные на девяти образцах (3 образца сыра в 3-х повторностях)

представлены в таблице 34. О прецизионности методики в условиях повторяемости можно судить по установлению критерия приемлемости, который выражался величиной относительного стандартного отклонения - 0,95%.

Таблица 34 – Результаты определения повторяемости разработанной методики

Повторность	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в траве монарды, %				
	<i>Monarda fistulosa</i>	<i>Monarda didyma</i>	<i>Monarda hybrida</i>	<i>Monarda citriodora</i>	<i>Monarda Rassela</i>
1.	1,547	1,592	1,506	1,634	0,884
2.	1,578	1,633	1,533	1,645	0,916
3.	1,546	1,647	1,507	1,62	0,884
4.	1,564	1,604	1,514	1,618	0,896
5.	1,588	1,623	1,542	1,623	0,913
6.	1,569	1,597	1,527	1,647	0,914
7.	1,589	1,644	1,508	1,607	0,907
8.	1,548	1,628	1,527	1,612	0,894
9.	1,557	1,634	1,512	1,644	0,882
Среднее значение	1,565	1,622	1,519	1,628	0,898
Относит. стандартное отклонение (RSD)	0,838	0,956	0,659	0,713	1,189

Для установления показателя воспроизводимости методики, ее осуществляли 2 химика-аналитика на 3 образцах в 3 повторностях (таблица 35). О прецизионности методики в условиях воспроизводимости можно судить по критерию приемлемости, который выражался величиной относительного стандартного отклонения, не превышающего 15%.

Таблица 35 –Результаты определения воспроизводимости разработанной методики

Повторность	Аналитик	Содержание флавоноидов в траве монарды в пересчете на лютеолин, %		
		Образец 1	Образец 2	Образец 3
Monarda fistulosa				
1.	1	1,589	1,577	1,573
2.	1	1,568	1,589	1,584
3.	1	1,579	1,574	1,567
4.	2	1,524	1,531	1,544
5.	2	1,527	1,512	1,523
6.	2	1,504	1,498	1,514
Среднее значение		1,549	1,547	1,551
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		2,345	2,588	1,921
Monarda didyma				
1.	1	1,644	1,633	1,654
2.	1	1,642	1,649	1,624
3.	1	1,652	1,642	1,645
4.	2	1,589	1,587	1,582
5.	2	1,612	1,578	1,598
6.	2	1,603	1,582	1,584
Среднее значение		1,624	1,612	1,614
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		1,666	2,138	2,001
Monarda hybrida				
1.	1	1,502	1,487	1,502
2.	1	1,512	1,473	1,503
3.	1	1,499	1,472	1,493
4.	2	1,543	1,546	1,562

5.	2	1,536	1,537	1,542
6.	2	1,534	1,535	1,557
Среднее значение		1,521	1,508	1,527
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		1,311	2,405	2,109
<i>Monarda citriodora</i>				
1.	1	1,613	1,629	1,597
2.	1	1,625	1,624	1,615
3.	1	1,627	1,623	1,612
4.	2	1,581	1,557	1,555
5.	2	1,589	1,557	1,563
6.	2	1,582	1,568	1,554
Среднее значение		1,603	1,593	1,583
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		1,398	2,351	1,895
<i>Monarda Rassela</i>				
1.	1	0,856	0,874	0,88
2.	1	0,869	0,899	0,852
3.	1	0,847	0,907	0,864
4.	2	0,913	0,921	0,903
5.	2	0,925	0,884	0,895
6.	2	0,905	0,874	0,876
Среднее значение		0,886	0,893	0,878
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		3,864	2,224	2,263

Проводя анализ на различных сериях образцов различных видов монарды было выявлено, что количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в траве монарды дудчатой (трубчатой)

варьирует от 1,50 до 1,60 %, монарды двойчатой – от 1,59 до 1,68%, монарды гибридной от 1,42 до 1,54%, монарды лимонной от 1,50 до 1,63%, монарды Рассела от 0,93 до 1,00% (таблица 36). На основании полученных результатов, предлагается установить норму содержания суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин не менее 0,90 %.

Таблица 36– Результаты количественного определения содержания флавоноидов в траве монарды

Наименование сырья	№ серии	Содержание флавоноидов, %
<i>Monarda fistulosa</i>	001	1,57 ± 0,05
	002	1,50 ± 0,04
	003	1,60 ± 0,06
	004	1,53 ± 0,05
	005	1,55± 0,04
<i>Monarda didyma</i>	011	1,59 ± 0,06
	012	1,62 ± 0,05
	013	1,68 ± 0,03
	014	1,63 ± 0,04
	015	1,63± 0,06
<i>Monarda hybrida</i>	020	1,42± 0,06
	021	1,49 ± 0,05
	022	1,54 ± 0,05
	023	1,52 ± 0,04
	024	1,48 ± 0,05
<i>Monarda citriodora</i>	030	1,63± 0,06
	031	1,54 ± 0,05
	032	1,50 ± 0,03
	033	1,52 ± 0,06
	034	1,59 ± 0,04

<i>Monarda Rassela</i>	041	$0,93 \pm 0,02$
	042	$1,00 \pm 0,03$
	043	$0,97 \pm 0,04$
	044	$0,94 \pm 0,04$
	045	$0,96 \pm 0,02$

Таким образом, исследованы и изучены условия и разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве монарды, по которой в последующем рекомендуется проводить стандартизацию (акт внедрения №1-4, приложение №1-4).

4.6. Изучение динамики накопления эфирных масел и флавоноидов в различных видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан

Сравнительную оценку содержания основных доминирующих групп биологически активных веществ проводили в разные фазы вегетации растений для того, чтобы установить оптимальные сроки заготовки сырья монарды. Результаты исследований, проводимых в период с 2012-2017 гг. [42, 48], представлены на рисунках 80 и 81.

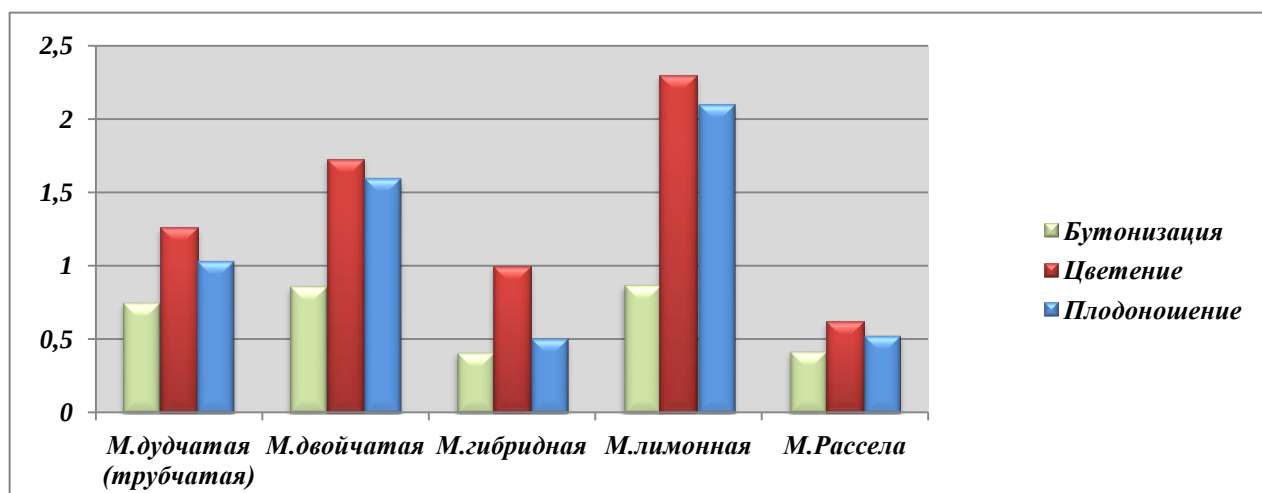


Рисунок 80 - Динамика накопления эфирного масла в различных видах монарды в разные фазы вегетации

Максимальное накопление эфирного масла в траве различных видов монарды наблюдали в фазу цветения, а наилучший выход эфирного масла был получен из монарды лимонной и монарды двойчатой, что подтверждает ранее проведенные исследования.

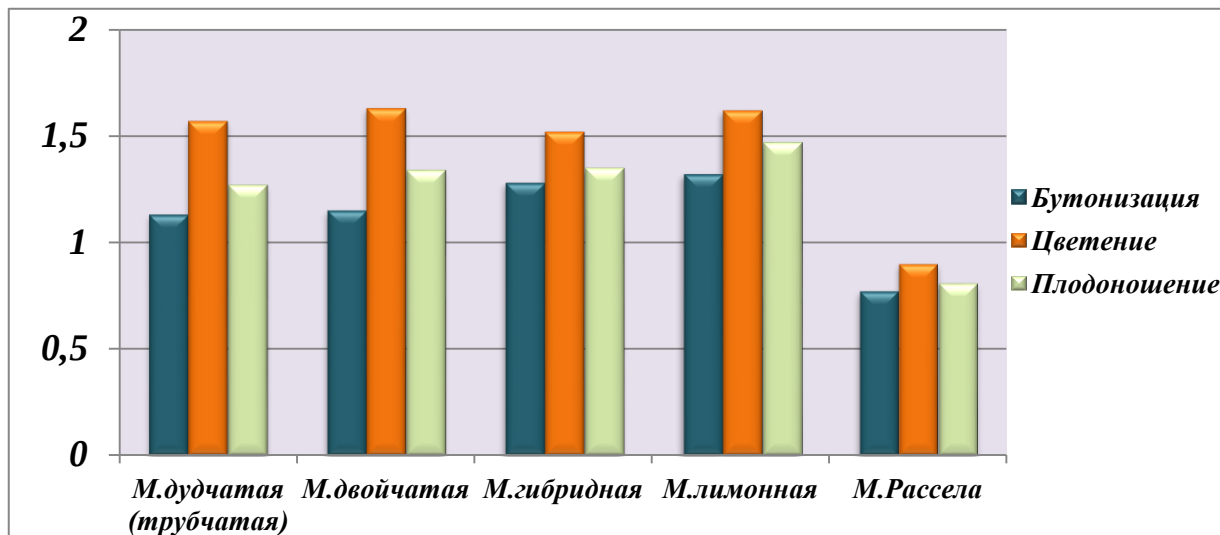


Рисунок 81 - Динамика накопления флавоноидов в различных видах монарды в разные фазы вегетации

Динамика накопления флавоноидов в траве различных видов монарды при этом показывает, что большее содержание флавоноидов наблюдается в сырье, собранном в фазу цветения.

Следует отметить, что результаты изучения динамики накопления биологически активных веществ в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, согласуются с результатами исследований, описанных в работах других авторов, по изучению условий интродукции растений рода монарды в нечерноземной зоне России, Московской области и других регионах России [41, 60], в которых также отмечается, что наиболее благоприятной для заготовки фазой развития растений является фаза цветения.

Учитывая вышесказанное, фаза цветения является оптимальным периодом для заготовки сырья (приложение №7).

Для определения срока годности травы различных видов монарды были проведены исследования по установлению показателей качества и, в

том числе, основных действующих веществ (эфирного масла и флавоноидов в пересчете на лютеолин) в процессе хранения в период с 2013 по 2017 г.г., (приложение № 5). В результате установлено, что рекомендуемый срок годности сырья «Монарды трава» составляет 3 года.

4.7. Стандартизация сырья монарды

На основе выполненных морфолого-анатомических, фитохимических и товароведческих исследований разработан проект фармакопейной статьи на сырье «Монарды трава» (приложение № 6, который принят к рассмотрению ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» 03.04.2019г., входящий номер № 6278).

В таблице 37 приведены основные критерии подлинности и показатели качества сырья «Монарды трава», которые включены в проект фармакопейной статьи.

Таблица 37 - Значения показателей качества травы монарды, включенные в проект фармакопейной статьи

<i>Показатели</i>	<i>Методы анализа</i>	<i>Нормы</i>
Внешние признаки	ОФС.1.5.1.0002.15, ГФ-XIV (т.2), визуально (с помощью лупы и микроскопа), огранолептически	смесь листьев, соцветий, кусочков стеблей опушенных полых, четырехгранных, зеленых с красноватым или коричневым оттенком; листья с верхней стороны голые, с нижней – опушенные серовато-зеленые или зеленые; цветки фиолетовые, лиловые, розовато-красные, пурпурные или белые, собранные в одиночные или многоярусные шаровидные головки; запах сильный,

		специфический, ароматный.
Микроскопия	ОФС.1.5.3.0003.15. ГФ-XIV (т.2)	Микродиагностические признаки, характерные и диагностически значимые для травы монарды
Качественные реакции	Цветная реакция со спиртовым раствором алюминия хлорида (III)	Желто-зеленое окрашивание (флавоноиды)
	ТСХ: система «этиацетат-уксусная кислота-вода 5:1:1», проявитель 5% раствор алюминия хлорида	Соответствует ФС
<i>Числовые показатели:</i> Содержание эфирного масла Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин Влажность Зола общей Зола, нерастворимой в 10 % растворе кислоты хлористоводородной Примеси – кусочки стеблей Органическая примесь Минеральная примесь Измельченность: частиц, не проходящих сквозь сито d=7 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	ОФС.1.5.2.0001.15, ГФ-XIV(т.2), метод 1 Дифференциальная спектрофотометрия ОФС.1.5.3.0007.15, ГФ-XIV (т.2) ГФ-XI, вып.1 ОФС.1.5.3.0005.15, ГФ-XIV (т.2) ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-XIV (т.2) ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-XIV (т.2) ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-XIV (т.2) ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-XIV (т.2) ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-XIV (т.2)	не менее 0,5% не менее 0,9% не более 10% не более 10% не более 5 % не более 40% не более 1% не более 1% не более 5% не более 5%
Микробиологическая чистота	ОФС 42-0016-04, ОФС 42-0067-07, ГФ XII (т.1, разд. 32)	Категория 4А
Радиологическая чистота	СанПиН 2.3.2.1078-01	Радионуклиды

	п.п.1.6.10, ОФС.1.5.3.0001.15, ГФ-XIV (т.2)	отсутствуют
Тяжелые металлы и мышьяк	ОФС.1.5.3.0009.15 ГФ-XIV (т.2)	Тяжелые металлы и мышьяк отсутствуют
Упаковка	ОФС 1.1.0025.18. ГФ-XIV том 1.	Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные, в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного.
Хранение	ОФС.1.1.0011.15 ГФ ГФ-XIV том 1.	Изолированно от других видов сырья в сухом, проветриваемом, защищенном месте.
Срок годности		3 года

Таким образом, в результате обобщения сведений сравнительного изучения качественного состава и количественного определения биологически активных веществ составлена сводная таблица, включающая числовые показатели по каждой группе биологически активных веществ (таблица 38).

Таблица 38 – Показатели содержания биологически активных веществ в траве монарды, (n=5)

Группы БАВ, метод количественного определения	Содержание БАВ, %				
	<i>M. fistulosa</i>	<i>M. didyma</i>	<i>M. hybrida</i>	<i>M. citriodora</i>	<i>M. Rassela</i>
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 в пересчете на β-каротин (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 в пересчете на глюкозу (спектрофотометрия,	0,861±0,027	0,932±0,023	0,662±0,019	0,511±0,015	0,694±0,022

$\lambda=460$ нм)					
Кумарины в пересчете на кумарин (спектрофотометрия, $\lambda=310$ нм)	0,355±0,008	0,251±0,005	0,224±0,007	0,118±0,005	0,327±0,008
Сумма оксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту (спектрофотометрия, $\lambda=325$ нм)	4,791±0,103	4,621±0,123	3,740 ±0,119	4,062 ±0,023	3,881±0,112
Сапонины в пересчете на урсоловую кислоту (спектрофотометрия, $\lambda=310$ нм)	0,022±0,001	0,010±0,001	0,017±0,001	0,012±0,001	0,018±0,001
Дубильные вещества - титриметрия в пересчете на танин - спектрофотометрия в пересчете на катехин, $\lambda=545$ нм	7,83±0,26 4,63±0,23	9,44±0,46 5,55±0,21	9,05±0,32 4,82±0,28	5,42±0,36 3,13±0,19	8,23±0,19 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
Эфирные масла (метод перегонки с водяным паром №1)	1,23±0,03	1,72±0,03	0,95±0,03	2,28±0,07	0,63±0,02
Флавоноиды в пересчете на лютеолин (спектрофотометрия, $\lambda=398$ нм)	1,57±0,02	1,63±0,02	1,52±0,03	1,62±0,02	0,91±0,03

По результатам сравнительного фитохимического исследования видов монарды необходимо отметить, что химический состав изученных видов является однотипным и лишь незначительно отличается по количественному содержанию биологически активных веществ в сырье. Среди пяти исследуемых видов монарды выделяются: *Monarda fistulosa* L., в которой преобладают аскорбиновая кислота ($0,125\pm0,004\%$), кумарины ($0,355\pm0,008\%$), оксикоричные кислоты в пересчете на кофейную кислоту ($4,791\pm0,103\%$), сапонины ($0,022\pm0,001\%$) и *Monarda didyma* L., в которой в большем количестве содержатся органические кислоты ($3,616\pm0,109\%$), каротиноиды ($0,039\pm0,001\%$), полисахариды ($0,932\pm0,023\%$), дубильные вещества в пересчете танин ($9,44\pm0,46\%$) и катехин ($5,55\pm0,21\%$),

аминокислоты (суммарное содержание $8,42 \pm 0,39\%$). Доминирующие группы биологически активных веществ – эфирные масла и флавоноиды в пересчете на лютеолин, которые включены в проект фармакопейной статьи преобладают в *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag. ($2,28 \pm 0,07\%$ и $1,62 \pm 0,02\%$) и *Monarda didyma* L. ($1,72 \pm 0,03\%$ и $1,63 \pm 0,02\%$). Изучен макро-, микроэлементный и аминокислотный состав травы различных видов монарды.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4:

1. Изучены и определены нормы показателей качества сырья монарды: 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%.

2. Качественными реакциями установлено присутствие полисахаридов, аминокислот, эфирных масел, флавоноидов, кумаринов, сапонинов, дубильных веществ конденсированной природы.

3. Методами хроматографического и спектрального анализа, установлено присутствие аскорбиновой кислоты, эфирных масел, органических кислот, каротиноидов, полисахаридов, сапонинов, флавоноидов, оксикоричных и фенолкарбоновых кислот, кумаринов. Методом ВЭЖХ подтверждено присутствие веществ фенольной природы: в траве идентифицировано 6 флавоноидов (рутин, лютеолин-7-гликозид, нарингенин, гиперозид, лютеолин, катехин), фенолкарбоновая (галловая) и оксикоричные кислоты (хлорогеновая, кофейная); кумарин; флавоноид нарингенин и хлорогеновая кислота обнаружены впервые. Методом препаративной хроматографии выделены и идентифицированы индивидуальные вещества (рутин, лютеолин-7-гликозид, лютеолин,

нарингенин, гиперозид, катехин, галловая, кофейная и хлорогеновая кислоты), структура которых подтверждена сравнением спектральных характеристик.

4. Изучен компонентный состав эфирного масла из травы различных видов монарды с использованием метода газовой хроматографии с масс-детектором и 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 (25,01 – 54,42%), карвакрол (2,00 – 19,76%), метиловый эфир карвакрола (3,26 – 17,25%), цимол (2,6 – 15,71%), в монарде двойчатой впервые обнаружен винилгваякол, содержание которого составляет 36,43%. По количественному содержанию эфирного масла трава монарды, заготовленная в Республике Башкортостан, не уступает сырью, собранному в Краснодарском крае.

5. Определено количественное содержание всех групп биологически активных веществ, которые обнаружены в траве различных видов монарды методами качественного анализа. Установлено, что в траве монарды дудчатой (трубчатой) преобладает аскорбиновая кислота ($0,125 \pm 0,004\%$), кумарины ($0,355 \pm 0,008\%$), оксикоричные кислоты в пересчете на кофейную кислоту ($4,791 \pm 0,103\%$), сапонины ($0,022 \pm 0,001\%$), монарды двойчатой - органические кислоты ($3,616 \pm 0,109\%$), каротиноиды ($0,039 \pm 0,001\%$), полисахариды ($0,932 \pm 0,023\%$), дубильные вещества в пересчете на танин ($9,44 \pm 0,46\%$) и катехин ($5,55 \pm 0,21\%$), аминокислоты (суммарное содержание $8,42 \pm 0,39\%$). Эфирные масла и флавоноиды в пересчете на лютеолин, которые включены в проект фармакопейной статьи преобладают в *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag. ($2,28 \pm 0,07\%$ и $1,62 \pm 0,02\%$) и *Monarda didyma* L.

($1,72 \pm 0,03\%$ и $1,63 \pm 0,02\%$). Изучен макро-, микроэлементный и аминокислотный состав травы различных видов монарды.

6. Проведены исследования по разработке методики количественного определения эфирного масла в траве монарды методом перегонки с водяным паром из растительного сырья с использованием приемника Гинзберга и суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин методом дифференциальной спектрофотометрии. Установлены нормы их содержания в сырье: «содержание эфирного масла» - не менее 0,5%, «содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин» - не менее 0,9%.

7. 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. Установлен срок годности сырья «Монарды трава» - 3 года.

8. По результатам сравнительного изучения химического состава пяти видов монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан, установлено, что все пять видов являются источниками ценных биологически активных веществ, имеют схожий химический состав, отличающийся лишь незначительно по количественному содержанию отдельных групп БАВ, поэтому, учитывая, что исследуемые виды имеют также близкие морфолого-анатомические характеристики, мы считаем возможным рекомендовать производящие растения монарда дудчатая (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.) для заготовки сырья «Монарды трава».

9. Предложен проект фармакопейной статьи «Монарды трава».

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРАВЫ МОНАРДЫ

5.1. Определение острой токсичности травы монарды

С целью внедрения в медицинскую практику нового вида лекарственного растительного сырья следует установить и определить показатель острой токсичности. По этой причине определение острой токсичности настоя травы монарды исследовали на 96 белых мышах обоего пола весом от 18,0 до 20,0 г. Доза введения внутрь составляла 5000, 7500 и 10000 мг/кг в пересчете на сухой вес сырья. Из сырья готовили водные извлечения в виде настоя 1:10 в соответствии с требованиями ГФ - XIV издания. Настой из травы монарды животным вводили внутрь с помощью зонда, в течение 14 дней и весь промежуток времени фиксировали поведенческие реакции. При этом, следует отметить, что никаких признаков интоксикации не наблюдали, все животные были живы, подвижны, обладали хорошим аппетитом. Наибольшая доза введения настоя травы монарды составила 10000 мг/кг (таблица 39).

Таблица 39- Показатели острой токсичности сырья монарды

Показатели	Доза, мг/кг		
	5 000	7 500	10 000
Путь введения	внутри	внутри	внутри
Наблюдаемый эффект	0/6	0/6	0/6
Наблюдаемый эффект, %	0	0	0
Ожидаемый эффект, %	-	-	-

Учитывая нетоксичность сырья монарды, дальнейшие токсикологические исследования не проводили и по классификации ГОСТ 12.1.007.76, трава монарды отнесена к классу малотоксичных соединений, что позволяет судить о ее безопасности и возможности дальнейшего использования.

5.2. Антиоксидантная активность травы монарды

Для исследования антиоксидантных свойств водных и спиртовых извлечений различных видов травы монарды использовали метод регистрации хемилюминесценции на приборе «Хемилюминометр ХЛМ-033». Анализ проводили в двух модельных системах, в которых распространены процессы свободно-радикального окисления: система АФК-образование активных форм кислорода и система ПОЛ - реакции перекисного окисления липидов (глава 2, п. 2.2.5). В качестве контроля служили модельные системы без добавления водных и спиртовых извлечений монарды. Антиоксидантная активность рассчитывалась в процентах по отношению к контролю. Водные извлечения готовились в соотношении 1:10, спиртовые извлечения готовились путем растворения сухого спиртового экстракта в воде, в соотношении 1:10. Сухой экстракт монарды получали методом перколяции. В модельные системы АФК и ПОЛ добавляли различное количество водных и спиртовых извлечений в концентрации 0,01 мг/мл, 0,1 мг/мл и 1,0 мг/мл. Для оценки изменений показателей хемилюминесценции в модельных системах АФК и ПОЛ с добавлением исследуемых образцов травы монарды учитывали показатель светосуммы свечения, который измерялся в течение 5 минут.

При проведении экспериментальных исследований определения антиоксидантной активности обращали внимание на то, что уменьшалась амплитуда быстрой вспышки, удлинялся латентный период, медленная вспышка начиналась позже и угасала раньше, а также снижалось значение максимальной светимости, и вследствие этого показательная характеристика хемилюминесценции – светосумма свечения - была меньшей по сравнению с контролем. Результаты исследования представлены в таблице 40.

Таблица 40 - Показатели хемилюминесценции в модельной системе АФК при добавлении исследуемых растворов травы монарды, (n=5)

Опыт	Концентрация, мг/мл	ХЛ в модели АФК, %	
		Водные извлечения	Спиртовые извлечения
Контроль		100	100
<i>Monarda fistulosa</i>	0,01	10,39±0,46	84,00±1,98
	0,1	4,95±0,16	22,26±0,47
	1,0	0,01±0,003	9,63±0,24
<i>Monarda didyma</i>	0,01	13,78±0,67	96,85±1,36
	0,1	8,70±0,34	26,48±0,92
	1,0	0,04±0,006	12,45±0,33
<i>Monarda hybrida</i>	0,01	46,02±1,85	99,03±2,07
	0,1	19,02±0,06	37,40±0,97
	1,0	2,33±0,07	14,87±0,37
<i>Monarda hybrida</i>	0,01	63,68±1,42	99,10±1,87
	0,1	32,17±0,78	39,90±1,29
	1,0	9,80±0,45	18,7±0,43
<i>Monarda Rassela</i>	0,01	54,68±2,18	97,30±3,5
	0,1	28,56±0,07	30,31±0,57
	1,0	8,34±0,12	17,2±0,39

Подавление хемилюминесценции зависело от объема водного и спиртового извлечения травы монарды, добавляемого в модельную систему, который составлял 0,01 мг/мл; 0,1 мг/мл; 1,0 мг/мл соответственно. В ходе исследования отмечали то, что чем больше концентрация вводимого извлечения, тем сильнее угнеталось свечение, и это без исключения свидетельствовало о дозозависимом эффекте исследуемых извлечений. Установлено, что наибольший антиоксидантный эффект в системе АФК проявляли извлечения из травы монарды дудчатой (трубчатой) в концентрации 1,0 мг/мл, снижая светосумму свечения на 99,99% (водное

извлечение) и на 90,37% (спиртовое извлечение), а наименьшую антиоксидантную активность проявляли извлечения из травы монарды лимонной, снижая светосумму свечения на 90,20% (водное извлечение) и на 81,30% (спиртовое извлечение). Спиртовые извлечения, в отличие от водных, проявляли меньшую антиоксидантную активность (рисунок 82).

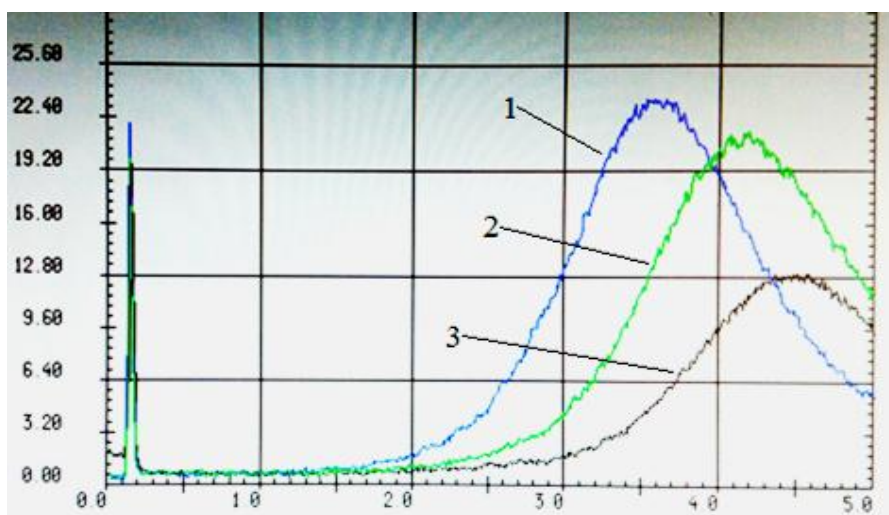


Рисунок 82 - Модельная система АФК: 1 – контроль, 2- спиртовые извлечения из травы монарды, 3- водные извлечения из травы монарды.

Следует отметить, что в модельной системе ПОЛ водные и спиртовые извлечения из травы монарды по-разному снижали светосумму свечения. Уменьшение амплитуды быстрой и медленной вспышки, увеличение длительности латентного периода, снижение значения максимальной светимости происходило при внесении извлечений травы монарды в наименьшей концентрации в модельную систему (таблица 41).

Таблица 41 - Показатели хемилюминесценции в модельной системе ПОЛ при добавлении водных извлечений из травы монарды, (n=5)

Опыт	Концентрация, мг/мл	ХЛ в модели ПОЛ, %	
		Водные извлечения	Спиртовые извлечения
Контроль		100	100

<i>Monarda fistulosa</i>	0,01	9,07±0,42	79,74±0,24
	0,1	3,80±0,74	11,14±0,31
	1,0	0,02±0,0001	5,76±0,12
<i>Monarda didyma</i>	0,01	18,06±0,76	87,02±2,1
	0,1	6,35±0,15	13,10±,32
	1,0	0,03±0,0002	7,45±,19
<i>Monarda hybrida</i>	0,01	20,12±0,98	89,25±1,68
	0,1	19,02±0,45	14,17±,49
	1,0	8,34±0,56	9,06±,21
<i>Monarda hybrida</i>	0,01	74,50±0,72	93,42±,90
	0,1	37,5±1,17	57,63±1,55
	1,0	17,8±0,59	21,38±0,54
<i>Monarda Rassela</i>	0,01	71,00±2,24	91,65±2,20
	0,1	36,42±1,16	38,36±1,30
	1,0	16,3±0,42	18,56±0,44

Уровень свечения модельной системы при добавлении водных извлечений травы монарды подавлялся в большей степени, чем при внесении спиртовых извлечений. Наибольшую антиоксидантную активность проявили извлечения из травы монарды дудчатой (трубчатой) в концентрации 1,0 мг/мл, снижая светосумму свечения на 99,98% (водное извлечение) и на 94,24% (спиртовое извлечение), а наименьшую - монарды лимонной (1,0 мг/мл), снижая светосумму свечения на 82,2% (водное извлечение) и на 78,62% (спиртовое извлечение). Из выше сказанного следует, что водные и спиртовые экстракты анализируемых образцов травы монарды могут считаться как активные антиоксиданты перекисного окисления липидов (рисунок 83).

Учитывая полученные результаты проведенных экспериментальных исследований, можно сделать вывод о том, что в обеих модельных системах исследуемые извлечения травы различных видов монарды снижали процессы

образования свободных радикалов, что свидетельствует об их выраженной антиоксидантной активности.

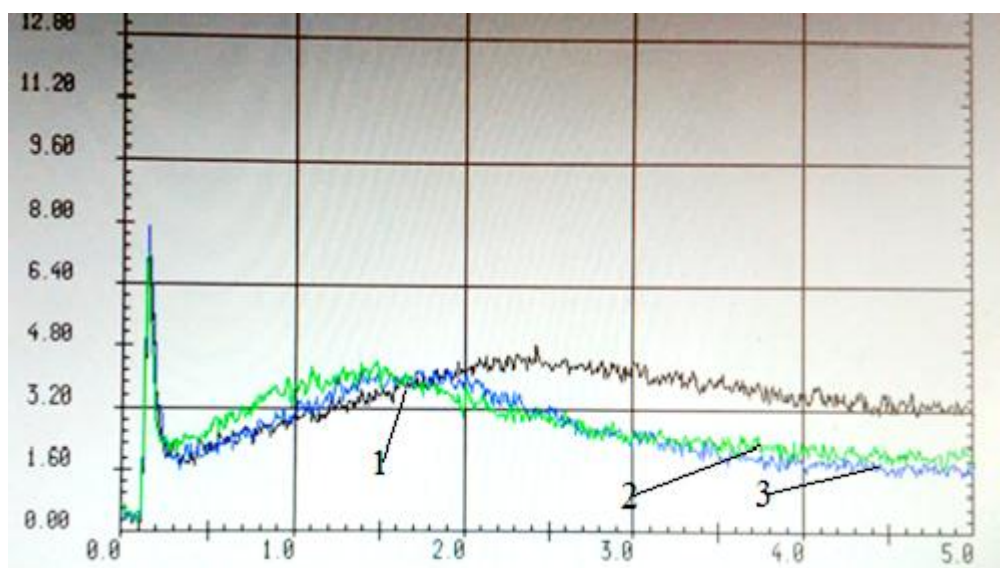


Рисунок 83 - Модельная система ПОЛ: 1 – контроль, 2- спиртовые извлечения из травы монарды, 3- водные извлечения из травы

5.3. Противовоспалительная активность травы монарды

Противовоспалительную активность проводили в водных извлечениях различных видов монарды, так как последующее применение лекарственного растительного сырья планируется в виде водных настоев. Из сырья изготавливали водные извлечения в виде настоя 1:10 в соответствии с требованиями ГФ - XIV издания [23]. Анализ противовоспалительной активности исследуемых извлечений проводился с использованием скрининговой модели формалинового отека лапки у мышей [99]. Исследование проводили на 36 белых непородистых мышах-самцах, весом от 18,0 до 22,0 гр., с хорошей двигательной активностью. Перед началом исследования животных помещали на 10-14 дней в карантин. После истечения карантинного срока опытным группам на протяжении 7 суток внутрижелудочно вводили настои различных видов монарды, используя специальный зонд. Доза вводимого извлечения составляла 0,08 мл.

Контрольная группа животных получала воду. Препаратом сравнения служил диклофенак-натрия в дозе 10 мг/кг. В завершающий день опыта, через час после введения дозы настоя, ввели флогоген. Далее субплантарным введением под подошвенный апоневроз правой лапки мыши ввели 0,05 мл 1% раствора формалина. Отек лапки животных формировался в течение некоторого времени, впоследствии, по уменьшению отека лапки мышей делали заключение о противовоспалительном эффекте исследуемых извлечений (таблица 42). По завершению опыта животных усыпляли диэтиловым эфиром, придерживаясь Приложения к приказу МЗ СССР от 12.08.1977г. № 755 «Правила работы с лабораторными животными».

Таблица 42 – Результаты определения противовоспалительной активности исследуемых водных извлечений из различных видов монарды.

Группа исследования	Количество животных	Прирост массы лапки, мг Ме [25% - 75%]
Контроль	6	93,5 [92 – 94]
Диклофенак-натрия	6	55,0 [41 – 62]*
<i>Monarda fistulosa</i>	6	78,5 [70 – 86]*
<i>Monarda didyma</i>	6	88,5 [81 – 100]
<i>Monarda hybrida</i>	6	68,5 [66 – 73]*
<i>Monarda citriodora</i>	6	83,0 [76 – 90]*
<i>Monarda Rassela</i>	6	91,2 [81 – 100]
Примечание: * - различия достоверны по сравнению с контрольной группой по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$).		

В результате все без исключения исследуемые извлечения из травы монарды проявляли противовоспалительную активность. При этом, наиболее выраженную активность, согласно сопоставлению с контролем, показали настои монарды гибридной и монарды дудчатой (трубчатой) достоверно уменьшая отек лапки соответственно на 25% и 15, 2% (рисунок 84).

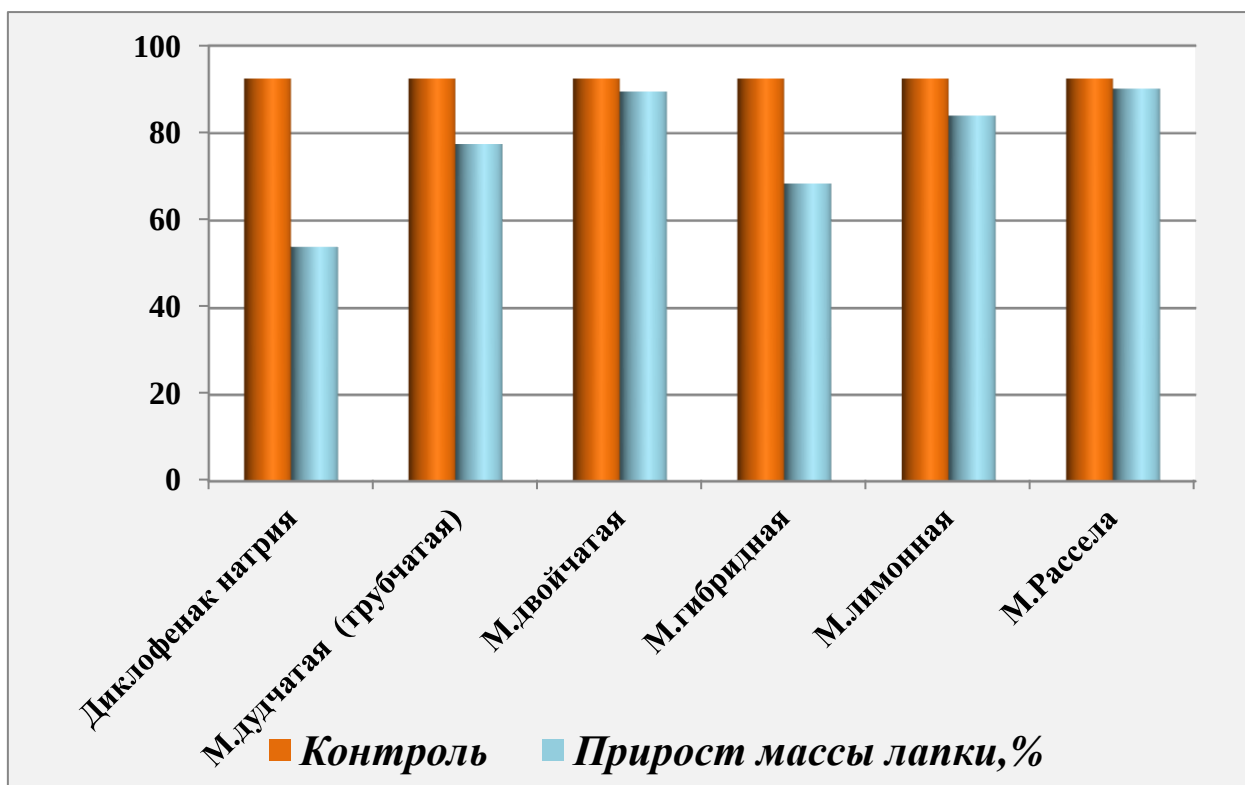


Рисунок 84 - Противовоспалительная активность исследуемых образцов травы монарды

Таким образом, результаты определения противовоспалительной активности видов монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан, соотносятся с проведенными ранее исследованиями по определению содержания в них основных групп биологически активных веществ [44], а именно виды монарды, содержащие большее количество БАВ, и проявляли более выраженную активность.

5.4. Антибактериальная активность травы монарды

Анализ антибактериальной активности водных и водно-спиртовых растворов из травы монарды проводили диско-диффузным методом. Из сырья готовили водные извлечения в виде настоя 1:10 в соответствии с требованиями ГФ - XIV издания [23]. Приготовленные спиртовые извлечения из травы монарды, упаривали до сухого остатка, после чего сухой экстракт растворяли в дистиллированной воде в соотношении 1:10.

Специально подготовленные стерильные диски пропитывали исследуемыми водными и спиртовыми растворами, затем помещали в чашку Петри с питательной средой и заранее засеянными микроорганизмами. После аппликации дисков чашки помещали в термостат ($t = 35^{\circ}\text{C}$), для инкубирования, которое ввели 24 часа. Результаты оценки антимикробной активности водных и водно-спиртовых извлечений из травы монарды в отношении микроорганизмов представлены в таблице 43.

Таблица 43 - Антибактериальная активность растворов из травы монарды

Исследуемый объект	Диаметра зоны задержки роста микроорганизмов в мм (X_{cp})				
	<i>St. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Kl. pneunoniae</i>	<i>Ps. aeruginos</i>	<i>C.. albicans</i>
<i>Водные извлечения</i>					
<i>Monarda fistulosa</i>	13	3	4	9	15
<i>Monarda didyma</i>	10	3	5	9	11
<i>Monarda hybrida</i>	8	1,5	-	6	9
<i>Monarda citriodora</i>	8	0,7	-	6	7
<i>Monarda Rassela</i>	5,5	0,7	-	3,5	6
<i>Водно-спиртовые извлечения</i>					
<i>Monarda fistulosa</i>	14	6	5	12	17
<i>Monarda didyma</i>	14	4,5	5	13	16
<i>Monarda hybrida</i>	9	3	1,8	6,0	11
<i>Monarda citriodora</i>	9	3	1,8	7,5	9
<i>Monarda Rassela</i>	6	1	2	4	8

Из таблицы видно, что водно-спиртовые растворы оказывают более активное влияние на задержку роста микроорганизмов по сравнению с водными растворами. При этом водно- и водно-спиртовые извлечения

обладают выраженной антимикробной активностью в отношении *C.albicans*, *Ps. aeruginos*, *St.aureus*.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5:

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

2. Изучена антиоксидантная активность водных и водно-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 активностью при концентрации 1,0 мг/мл. Более выраженную активность проявляла монарда дудчатая (трубчатая), меньшую – монарда лимонная.

3. Изучена противовоспалительная активность различных видов монарды и установлено, что более выражена она была у настоев травы монарды гибридной и монарды дудчатой (трубчатой) достоверно уменьшающих отек лапки по сравнению с контрольной группой на 26% и 16,2% соответственно.

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

5. Установленные виды фармакологической активности различных видов монарды подтверждают целесообразность ее дальнейшего изучения и использования в медицине в лечебно-профилактических целях.

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 ($0,125 \pm 0,004\%$), кумарины ($0,355 \pm 0,008\%$), оксикоричные кислоты в пересчете на кофейную кислоту ($4,791 \pm 0,103\%$), сапонины ($0,022 \pm 0,001\%$) и траве *Monarda didyma* L. (органические кислоты ($3,616 \pm 0,109\%$), каротиноиды ($0,039 \pm 0,001\%$), полисахариды ($0,932 \pm 0,023\%$), дубильные вещества в пересчете танин ($9,44 \pm 0,46\%$) и катехин ($5,55 \pm 0,21\%$), аминокислоты (суммарное содержание $8,42 \pm 0,39\%$). Эфирные масла и флавоноиды в пересчете на лютеолин, которые включены в проект фармакопейной статьи преобладают в *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag. ($2,28 \pm 0,07\%$ и $1,62 \pm 0,02\%$) и *Monarda didyma* L. ($1,72 \pm 0,03\%$ и $1,63 \pm 0,02\%$).

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 *Monarda* 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.

СОКРАЩЕНИЯ

РАН – Российская академия наук

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

УФ-спектроскопия – ультрафиолетовая спектроскопия

АФК - активная форма кислорода

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СО – стандартный образец

ГФ – государственная фармакопея

БАВ – биологически активные вещества

ТСХ – тонкослойная хроматография

ХЛ - хемилюминесценция

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аббасова, Б.З. К интродукции монарды лимонной и иссопа -лекарственного в Казахстане / Б.З. Аббасова // Изв. М-ва науки АН Респ. Казахстан. Сер.биол. - 1996. - №4 - С. 84-86.
2. Анализ лекарственных растений из флоры Башкортостана на содержание биологически активных веществ / К.А. Пупыкина, Е.В. Красюк, А.Р. Казеева, С.Р. Шамсутдинова // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. - 2014. - № 6. - С. 66-69.
3. Андреева, Н.Ф. Результаты интродукции эфирномасличных растений / Н.Ф. Андреева, И.Г. Капелев // Бюл. Никит. бот. Сада. - 1987. - Т.63. - С. 67-74.
4. Анищенко, И.Е. Нетрадиционные пряно-ароматические растения семейства *Lamiaceae* в Башкортостане / И.Е. Анищенко // Вестник ОГУ. – 2009. – № 6. – С. 35–38.
5. Анищенко, И.Е. Монарда — новая перспективная пряно-ароматическая культура для Башкирского Предуралья / И.Е. Анищенко, О.Ю. Жигунов // Аграрная Россия. - 2013. - № 2. - С. 11-13.
6. Антиоксидантная активность водных экстрактов монарды дудчатой / Л.В. Беспалько, А.А. Байков, В.К. Гинс [и др.] // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. - 2017. - № РЗ. - С. 88-95.
7. Банах, Р. Определение химического состава флавоноидов 6 видов растений рода *Monarda* и изучение их биологической активности: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 06.01.13 / Банах Роберт. - М., 1986.- 19 с.
8. БарадACHEVA, В.М. Особенности возделывания многолетних (монарды дудчатой) и однолетних пряных трав в условиях Поволжья / В.М. БарадACHEVA, Е.В. Лялиан // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: матер. V междунар. симп.- М., 2003. - Т.2. - С. 211-213.
9. Бедуленко М.А. Интродукция, экологический аспект и современные направления изучения и применения лекарственного, пряно-ароматического и эфирномасличного растения *Monarda fistulosae* L. (Обзор) // М.А.

Бедуленко // Труды Башкирского государственного университета. - 2013. – Т. 8, Ч. 2. – С. 52-60.

10.Бедуленко, М.А. Количество фенольных соединений монарды дудчатой (*monarda* f. 7III, OSA г.) 11p и использовании микроэлементов и регуляторов роста ретардантного типа / М.А. Бедуленко // Современные проблемы биологии и экологии: матер. док. II Междунар. науч.- практ. конф.: посвящается 75-летию со дня рождения д.б.н., проф., заслуженного деятеля науки РФ Шейха Ибрагимовича Исмаилова, 5 марта 2016.- Махачкала, 2016. - С. 167-170.

11.Бедуленко, М.А. Содержание экстрактивных веществ в пряно-ароматическом и лекарственном сырье монарды дудчатой при применении удобрений / М.А. Бедуленко // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: материалы III междунар. науч.-практ. конф., посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского, 9 окт. 2015.- Минск, 2015. - С. 258-261.

12.Беликов, В. В. Применение ВЭЖХ в анализе флавоноидных препаратов / В. В. Беликов // Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств.-1991. – Т.2. –Ч. 2. – С.14-15.

13. Беликов, В.Г. Фармацевтическая химия: в 2 частях. Часть 1. Общая фармацевтическая химия. - М.: Высш. шк., 1993. - 432 с.

14.Беляков, К.В. Методологические подходы к определению биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье спектрофотометрическим методом / К.В. Беляков. – М., 2004. - 188 с.

15.Быков, В.А. Некоторые особенности и перспективы использования растений для улучшения среды обитания в помещениях / В.А. Быков, Л.Н. Зайко, А.Н. Цицилин // Лекарственное растениеводство: сб. науч. трудов, посвященных 70-летию ВИЛАР.- Москва, 2000. - С. 155-159.

16.Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на физиолого-биохимические показатели *Hyssopus officinalis* L. и *Monarda fistulosa* L / Е.Г. Голубовская М.В. Бобрович, Ж. Э. Мазец, В.Н. Родионова // Лекарственные

- растения: фундаментальные и прикладные проблемы: матер. I междунар. науч. конф., 21 мая 2013 г. – Новосибирск, 2013. - С. 35-37.
17. Воронина, Е.П. Новые ароматические растения для Нечерноземья / Е.П. Воронина, Ю.Н. Горбунов, // Наука. - 2001.- с. 173.
18. Говорун, М. И. Отчет о фармакологическом изучении масла монарды / Говорун, М. И. [и др.] // НИИ физических методов лечения и медицинской климатологии им. Сеченова.- Ялта, 1985 г.
19. Говорун, М.И. Защитное действие эфирных масел при внешнем гамма-облучении животных / М.И. Говорун, А.А. Тихомиров // Медицина катастроф. - 2014. - № 3(87).- С. 59-62.
20. Горлачева, З.С. К вопросу об идентификации видов рода *Monarda L* при интродукции / З.С. Горлачева // Бюллетень Главного ботанического сада. - 2012. - № 1. - С. 26-28.
21. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / М-во здравоохранения СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
22. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд. [Электронный ресурс] // Федеральная электронная медицинская библиотека, 2015. – Режим доступа: <http://www.femb.ru>
23. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронный ресурс] // Федеральная электронная медицинская библиотека, 2018. – Режим доступа: <http://www.femb.ru>
24. Гринкевич, Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронович. - М. (Высшая школа): 1983. С. 174 – 175.
25. Данилова, Н.А. Количественное определение дубильных веществ в корнях щавеля конского методом спектрофотометрии в сравнении с методом перманганатометрии / Н.А. Данилова, Д.М. Попов // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2004. - № 2 – С. 32.
26. Дмитриева, В.Л. Изучение состава эфирных масел эфиромасличных растений нечернозёмной зоны России / В.Л. Дмитриева, Л.Б. Дмитриев //

Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. - 2011. - № 3. - С. 106-119.

27. Емельянов, С.В. Монарда (*Monarda* L.) - перспективная сельскохозяйственная культура для республики Мордовия / С. В. Емельянов, И. А. Хапугин, М. В. Салкова // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции Лапшинские чтения: материалы IX Междунар. науч.-практ. конф., 18-19 апр. 2013 г. - Саранск, 2013. - С. 50-52.

28. Емельянов, С.В. Эфиромасличные культуры семейства яснотковые (Lamiaceae) / С. В. Емельянов, И. А. Хапугин, М. В. Салкова // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции. - 2014. - С. 63-70.

29. Зюзин, Ю.Б. Противогистаминное средство [Электронный ресурс] / Ю.Б. Зюзин // Интернет центр кафедры ИУ МГТУ им. Н.Э. Баумана. Медицинская тематика. – М., 2006. – Режим доступа: www.mgtu.rtisystems.net.

30. Исследование антимикробной и противовоспалительной активности новой лекарственной формы с маслом монарды / Е.Т. Жилякова, О.О. Новиков, Е.Н. Наumenко [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. - 2013. - Т. 24, № 25 (168). - С. 198-201.

31. Исследование иммуномодулирующей активности эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L) / Е.Н. Наumenко, Е.Т. Жилякова, О.О. Новиков [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2012. - Т. 21, № 21(140). - С. 154-158.

32. Исследование компонентного состава эфирного масла растений рода *Monarda* (Lamiaceae), культивируемых в условиях северо-западного региона / О.Е. Вишневская, А.Л. Шаварда, А.Е. Соловьева, О.А. Зверева // Аграрная Россия. – 2006. - № 6. – С. 60-62.

33. Исследование низкомолекулярных биологически активных соединений растительного происхождения как перспективных агентов для профилактики и лечения себореи / Е.Т. Жиликова, О.О. Новиков, Е.Н. Наumenко [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. - 2010. - № 8. - С. 68-72.
34. Исследование противовоспалительной активности суппозиторий «Монавитол» *in vivo* / Е.Н. Наumenко, Е.Т. Жиликова, О.О. Новиков [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. - 2012. - Т. 20, № 22-1. - С. 195-198.
35. Исследование химического состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. и *Monarda didyma* L., культивируемых в условиях западной Сибири / Р.В. Опарин, Л.М. Покровский, Г.И. Высочина, А.В. Ткачев // Химия растительного сырья. - 2000. - № 3. - С. 19-24.
36. Исследование эфирного масла *Monarda fistulosa* как перспективного антисеборейного агента / Е.Т. Жиликова, Е.Н. Наumenко, О.О. Новиков [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2009. - Т. 148, № 10. - С. 414-416.
37. Кан, Л.Ю. К вопросу о виде монарда лимонная (*M. citriodora* Cerv. EX LAG.), выращиваемого в СНГ / Л.Ю. Кан., И.В. Дрягина, Л.В. Соловьева // Всерос. НИИ селекции и семеноводства овощных культур. - М., 1996. - 32 с.
38. Карабаев, С.Р. Биология и морфометрические параметры видов монарды в условиях северо-запада России / С.Р. Карабаев, Н.М. Найда // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. - 2011. - № 22. - С. 33-37.
39. Карина, Т.Г. Анатомо-морфологические особенности листьев *Urtica cannabina* L., *Lophanthus anisatus* Benth. и *Monarda citriodora* Cerv., как один из показателей адаптационных возможностей видов к экологическим условиям юга томской области / Т.Г. Карина, Н.В. Кирсанова // Научные ведомости. Серия Естественные науки. - 2011. - № 9(104). - Выпуск 15/1 – с. 335.

40. Компонентный состав эфирных масел некоторых представителей рода *Monarda* L., интродуцированных 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.
41. Корчашкина, Н. В. Биологические особенности роста и развития видов рода монарда (*Monarda* L.) в условиях нечерноземной зоны Российской Федерации: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.01.13 / Корчашкина Наталья Валентиновна. – М.: 2009. – 23 с.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. 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, № 5. - С. 72-74.
47. Красюк, Е.В. Отличия морфологических признаков видов монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко // Молодые ученые и фармация XXI века: сб.

науч. тр. третьей науч. – практ. конф. с междунар. участием, 15 дек. 2015. - Москва, 2015. - С. 292-294.

48. Красюк, Е.В. Сезонная динамика накопления эфирных масел в видах монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А Пупыкина // Евразийский союз ученых. - 2015. - № 3-7 (12). - С. 154-155.

49. 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.

50. Крикливая, А.Н. Интродукция перспективного эфиромасличного вида монарды двойчатой (*Monarda didyma* L.) в условиях омского Прииртышья / А.Н. Крикливая, Н.В. Шорин // Агрометеорология и сельское хозяйство: история, значение и перспективы: сб. матер. нац. (Всероссийской) науч.- практ. конф., посвященной 100-летию юбилею со дня образования учебной лаборатории агрометеорологии, 23 марта 2016 г. – Омск, 2016. - С. 16-21.

51. Крикливая, А.Н. Монарда двойчатая (*Monarda didyma* L.) как перспективный вид для городского озеленения / А.Н. Крикливая, Н.В. Шорин, А.Ю. Верховых // Разнообразие и устойчивое развитие агробиоценозов омского Прииртышья: мат. нац. науч.- практ. конф., посвященной 90-летию ботанического сада Омского ГАУ, 25 сент. 2017 г. - Омск, 2017. - С. 82-87.

52. Крикливая, А.Н. Онтогенез эфиромасличного растения *Monarda didyma* L. в условиях Омской области / А.Н. Крикливая, В.А. Черёмушкина, Н.В. Шорин // Вестник Омского государственного аграрного университета. - 2016. - № 4 (24). - С. 82-91.

53. Крикливая А.Н. Развитие особей *Monarda didyma* L. в первый год жизни в условиях лесостепной зоны Омской области / А.Н. Крикливая // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы: матер. I междунар. науч. конф., 21 мая 2013 г. – Новосибирск, 2013. - С. 66-69.

54. Крутенко, Е.Г. Монарда новое эфирно-ароматическое растение / Е.Г. Крутенко, Н.Е. Зеленгур // Актуальные вопросы изучения и использования эфиромасличных растений и эфирных масел. –1980. - С. 105-106.
55. Кудашкина, Н.В. Фитохимический анализ: учеб. Пособие по фармакогнозии для студентов. / Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова, С.А. Мещерякова. - Уфа.: Издательство ГОУ ВПО БГМУ РосЗдрава, 2007. - 281 с.
56. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевт. вузов. – Изд. 2-ое, перераб. и доп. / В.А. Куркин. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. – 1239 с.
57. Лапина, А.С. Вопросы морфолого-анатомического изучения травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) / А.С. Лапина // Аспирантские чтения – 2017: мат. науч. - практ. конф. с междунар. участием "Научные достижения молодых ученых XXI века в рамках приоритетных направлений стратегии научно-технологического развития страны", 8 ноябр. 2017 г. - Самара, 2017. - С. 172-173.
58. Ларькина, М.С. Изучение динамики накопления фенолкарбоновых кислот в наземной части василька шероховатого / М.С. Ларькина, Т.В. Кадырова, Е.В. Ермолова/ Химия растительного сырья. - 2008. - № 3. - С. 71-74.
59. Либусь, О.К. Монарда дудчатая *Monarda fistulosa* L. / О.К. Либусь // Эфиромасличные и пряно-ароматические растения: научно – популярное издание / О.К. Либусь [и др.]; под ред. Т.К. Ереминой. – Херсон: Айлант, 2004. – С. 184–187.
60. Маланкина, Е.Л. Перспективы интродукции некоторых лекарственных и ароматических растений Северной Америки / Е.Л. Маланкина // Генетические ресурсы лекарств, и аромат, растений. –М.: 2001. - С. 171-172.
61. Малораспространенные ароматические растения как источник эфирных масел широкого спектра действия / Л.А. Хлыпенко, Л.А. Логвиненко, О.М. Шевчук [и др.] // Ароматкоррекция психофизического состояния человека:

материалы V междунар. науч.- практ. конф. 28 окт. 2015 г.- Ялта, 2015. - С. 57-59.

62.Марченко, М.А. Разработка противовоспалительного стоматологического геля на основе экстракта из травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) / М.А. Марченко // Молодая наука: матер. науч. - практ. конф. Пятигорск, 21 окт.2016 г. - 2016. - С. 36-38.

63.Мащенко, З. Е. Качественный анализ тимолсодержащих видов семейства Губоцветных / Мащенко З. Е. // Аспирантские чтения-2002: сборник тезисов докладов конференции молодых исследователей. - Самара: СамГМУ, 2002. - С. 117.

64.Мащенко, З.Е. Определение активности полифенолоксидазы травы монарды дудчатой по фазам вегетации / Мащенко З. Е. // Актуальные проблемы современной науки: сб. статей '4-й Международной конференции молодых ученых и студентов. Естественные науки. Часть 26: Фармация. - 2003. - С. 26-27.

65. Михайлова, Е.Г Эффективность применения средств на основе природных антисептиков в медицинских учреждениях /Е.Г. Михайлова, И.С. Копецкий, О.И. Чубатова // Медицинский вестник МВД. - 2012. - № 3(58). - С. 51-55.

66.Монарда - ценный источник биологически активных соединений / В.А. Харченко, Л.В. Беспалько, В.К. Гинс [и др.] // Овощи России. - 2015. - № 1(26). - С. 31-35

67.Морфология и анатомия лекарственных растений. Вопросы диагностики лекарственных растений и их примесных видов петиолярная анатомия травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) / А.С. Лапина // Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы: сб. мат. ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России; под редакцией В.А. Куркина, 7 окт.2017 г.- Самара, 2017. - С. 71-81.

68.Найда, Н. М. Биометрические характеристики видов рода монарда (*Monarda L.*) / Н. М. Найда, С. Р. Карабаев // Научное обеспечение развития

АПК в условиях реформирования: материалы науч. конф. проф.- препод. состава, науч. сотрудников и аспирантов СПбГАУ, 27-28 янв. 2011 г. - Санкт-Петербург, 2011. - С.50-53.

69. Некоторые фармакологические свойства монарды дудчатой и солянки холмовой / В.Н. Кисленко, В.А. Реймер., В.А. Черемушкина [и др.] // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. - 2011. - Т. 2, № 18. - С. 87-91.

70. Никитина, А.С. Морфолого-анатомические признаки травы монарды дудчатой, интродуцированной в Никитском ботаническом саду / А.С. Никитина, О.И. Попова, М.Н. Богданова // Молодые ученые и фармация XXI века: сб. науч. тр. четвертой науч.- практ. конф. с международ. участием, 16 декабрь. 2016 г. – Москва, 2016. - С. 282-287.

71. Никитина, А.С. Определение общих числовых показателей в траве монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) / А.С. Никитина, Е.Э. Саргсян // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – Ижевск, 2016. - С. 50-51.

72. Николаевский, В.В. Действие эфирного масла монарды на показатели клеточного и гуморального иммунитета / В.В. Николаевский, В.Н. Александров, В.М. Резванов // Эфирные масла и их использование в здравоохранении и народном хозяйстве: матер. конф., декабрь. 1988 г.- Ялта, 1988.- С. 14-15.

73. Опарин Р.В. Исследование химического состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. и *Monarda dydima* L., культивируемых в условиях Западной Сибири / Р.В. Опарин, Л.М. Покровский, Г.И. Высочина // Химия растительного сырья. - 2000. - № 3. - С. 19-24.

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

75. Оценка фармакологической активности видов монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Н.Н. Макарова, И.В.

Петрова, К.А. Пупыкина [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. - 2015. - Т. 10, № 5(59). - С. 67-70.

76. Пат. 2244552 Российская Федерация, МПК: А61К35/78, В01D11/02, А01N65/00, А61Р17/00. Способ получения масляного экстракта из монарды дудчатой, обладающего антимикробной активностью / Высочина Г.И., Волхонская Т.А., Якимова Ю.Л.; заявитель и патентообладатель Центральный сибирский ботанический сад СО РАН. - № 2003105076/15; заявл. 2003105076/15; регистр. 20.02.2003.

77. Пат. 2372096 Российская Федерация, МПК: А61К3678, А61К3615, А61К3628, А61К36532, А61К3653, А61К36534, А61К3676, А61К36185, А61Р4300. Композиция с фунгицидным, антимикробным и вирулецидным действием на основе фитоэкстрактов (варианты) / Чубатова С.А., Кузнецова Г.В., Зурабов А.Ю., Чумбуридзе Г.Г.; заявитель и патентообладатель Чубатова С.А., Кузнецова Г.В., Зурабов А.Ю., Чумбуридзе Г.Г. - № 2008121625/15 регистр. 30.05.2008.

78. Перельсон, М.Е. Спектры и строение кумаринов и хромонов. М.: Медицина, 1975. – 232 с.

79. Песцов, Г.В. Особенности интродукции и перспективы изучения эфиромасличных растений / Г.В. Песцов, М.А. Чепурнова, Е.Н. Музафаров // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. - 2009. - № 2. - С. 246-254.

80. Потанина, О.Г. Оценка доброкачественности лекарственного растительного сырья с учетом диагностически значимых признаков / О.Г. Потанина, И.А. Самылина // Фармация. - 2003. - №4. - С. 12-14.

81. Проблемы создания и стандартизации антибактериальных лекарственных растительных средств / В.Б. Браславский, С.В. Первушкин, В.А. Куркин [и др.] // Человек и лекарство: Тезисы докладов IV Российского национального конгресса. – М.: 1997. - С. 311.

82. Разработка методики количественного определения тимола в эфирном масле монарды дудчатой и стоматологических пленках / С.Н. Степанюк Н.В.

- Никитина, А.С. Никитина, Б.В. Боровский // Молодые ученые и фармация XXI века: сб. науч. тр. четвертой науч.- практ. конф. с международ. участием, 16 декабр. 2016 г. – М., 2016. - С. 320-322.
83. Разработка состава суппозиторий с β -каротином микробиологическим и маслом монарды / Е.Т. Жиликова, Е.Н. Науменко, О.О. Новиков, Д.В. Придачина // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. - 2012. - № 6. - С. 244-248.
84. Решетников, В.Н. Биологическая активность эфирных масел растений в связи с составом и оптической активностью компонентов / В.Н. Решетников, А.Г. Шутова, Е.В. Спиридович // Доклады Национальной академии наук Беларуси. - 2015. - Т. 59. - № 1. - С. 74-77.
85. Самойленко, Т.Г. Структурные особенности и водоудерживающая способность листового аппарата монарды двойчатой (*Monarda didyma* L.) при выращивании в условиях южной степи Украины / Т.Г. Самойленко, И.А. Янченко // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. - 2016. - № 4. - С. 55-57.
86. Саргсян, Е.Э. Изучение флавоноидов травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) / Е.Э. Саргсян, А.С. Никитина, С.Н. Степанюк // Беликовские чтения: матер. IV Всероссийской науч.- практ. конф., 2 декаб. 2015. – Пятигорск, 2015. - С. 128-129.
87. Пат. 2439568 Российская Федерация, МПК: G01 N33 52, A61 K36 00. Способ определения дубильных веществ в растительном сырье Самылина И.А., Абоянц Р.К., Гринько Е.Н.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ -) № 2010141622/15; регистр. 2012.
88. Самылина, И.А. Фармакогнозия: Атлас: учебное пособие: в 3-х т. / И.А. Самылина, О. Г. Аносова. - М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2010. - 30 см.; Т. 1: Общая часть. Термины и техника микроскопического анализа в фармакогнозии: учебное пособие. - 188 с.

- 89.Самылина, И.А. Фармакогнозия: учебник / И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 976 с.
90. Содержание антиоксидантов в водных экстрактах сухих листьев и соцветий некоторых пряно-ароматических овощных культур / Л.В. Беспалько, А.А. Байков, В.К. Гинс, В.А. Харченко // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. - 2016. - № 12. - С. 92-97.
91. Содержание антиоксидантов в листьях монарды лимонной в зависимости от яруса их расположения на растении / Л.В. Беспалько, А.А. Байков, В.К. Гинс, В.А. Харченко // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. - 2015. - № 11. - С. 114-118.
92. Сур, С.В. Методы выделения, идентификации и определения терпеновых соединений. Обзор / С.В. Сур // Химико-фармацевтический журнал. – 1996. - № 5. – С. 45-50
- 93.Толкунова, Н.Н. Антиокислительные свойства композиций эфирных и жирных масел / Н.Н. Толкунова // Пищевая и перерабатывающая промышленность. - 2003. - № 4. - С. 34-35.
- 94.Фархутдинов, Р.Р. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003 / Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевдорадзе // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: сб. докладов / под ред. Е.Б. Бурлаковой. - М.: Изд-во РУДН, 2005. - С. 147-154.
95. Федотов, С.В. Эфирные масла монард видов *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* cervantes ex lag., их хемотипы и биологическая активность / С.В. Федотов // Сб. науч. тр. Государственного Никитского ботанического сада. - 2015. - № 141. - С. 131-147.
96. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина/ под ред. Ю.С. Тараховского. – Пущино: Synchronobook, 2013. – 310 с.
- 97.ФС.2.5.0032.15 Подорожника большого листья

- 98.ФС.2.5.0011.15 Донника трава
99. Хабриев, Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев – М.: Медицина, 2005. – 832с.
- 100.Химический анализ лекарственных растений: учеб. пособие для фармацевтических вузов / Е.А. Ладыгина [и др.]; под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – М., 1983. – 176 с.
- 101.Шматков, Д.А. Определение суммы фенолкарбоновых кислот в корнях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) / Д.А. Шматко, Д.М. Попов // Фармация на современном этапе - проблемы и достижения: научные труды ВНИИФ. - М., 2000. - Т. XXXIX, ч. 2. - С. 174.
- 102.Шутова, А.Г. Антирадикальная активность эфирных масел и входящих в их состав терпеновых и фенольных соединений в различных средах / А.Г.Шутова // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біялаг. навук. – 2009. – № 4. – С. 5–10.
- 103.Яшкин, С.Н. Метод структурной аналогии в нестандартной идентификации изомерных фенолов в экстракте эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) / С.Н.Яшкин, Ю.А Агеева // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2013. - Т. 13. - № 2. - С. 173-181.
104. Analysis of flavonoids in the flowers and leaves of *Monarda didyma* L. / N. Savickiene // Medicina (Kaunas). – 2002. – Vol. 38, № 11. – P. 1119-22.
105. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. [Review] / A. Marchese, E. Orhan, M. Daglia, R. Barbieri // Food Chemistry. – 2016. - № 01. – P. 402-14.
106. Battistutta, F. Valutazione delle attività antiossidanti ed antimicrobiche degli oli essenziali di *Salvia officinalis* e di *Thymus vulgaris* / F. Battistutta // Coltivazione e miglioramento di piante officinale. - Trento, 1996. - P. 481-486.
107. Bioassay-guided investigation of two *Monarda* essential oils as repellents of yellow fever mosquito *Aedes aegypti* / N. Tabanca, U.R. Bernier, A. Ali, M. Wang, // Journal of Agricultural & Food Chemistry. - 2013. - Vol. 61, №36. - P. 573-80.

108. Brieskorn, C.H. On the occurrence of isosacuranetine-7-rhamnosidoglucoside in the leaves of *Monarda didyma* L / C.H. Brieskorn, G. Meister // Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft. – 1965. - № (7). – P. 435-40.
109. Chronic toxicity, genotoxic assay, and phytochemical analysis of four traditional medicinal plants / A. Castaneda Sortibran, M.G. Tellez, V.M. Ocotero, M.A. Carballo-Ontiveros [et al.] // Journal of Medicinal Food. – 2011. - № 14. – P.1018-22.
110. Comparative screening of plant essential oils: phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity / M. Tognolini, E. Barocelli, V. Ballabeni [et al.] // Life Sciences. 2006. - Vol. 78, № 13. – P. 1419-32.
111. Disruption of the PI3K/AKT/mTOR signaling cascade and induction of apoptosis in HL-60 cells by an essential oil from *Monarda citriodora* / A.S. Pathania, S.K. Guru, M.K. Verma [et al.] // Food & Chemical Toxicology. – 2013. - № 62. – P. 246-54.
112. Effect of Drive Row Ground Covers on Hop (Rosales: Cannabaceae) Yard Arthropod Pests in Vermont, USA / L. Calderwood, J. Cubins, D. Vesty, H. Darby // Environmental Entomology. – 2017. - Vol.46, № 2. – P. 183-190.
113. Inhibitory activity of hydrosols, herbal teas and related essential oils against filament formation and the growth of *Candida albicans* / S. Inouye, M. Takahashi, S. Abe// Japanese Journal of Medical Mycology. – 2009. -№ 4. - P. 243-51.
114. In vitro and in vivo anti-plasmodial activity of essential oils, including hinokitiol / R. Fujisaki, K. Kamei, M. Yamamura [et al.] // Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health. -2012. – Vol. 43, № 2. - P. 270-9.
115. Ownley, B.H. Role of essential oils in control of *Rhizoctonia* damping-off in tomato with bioactive *Monarda* herbage / B.H. Ownley, K.D. Gwinn, S.E. Greene // Phytopathology. – 2005. - Vol. 100, № 5. - P. 493-501.
116. Scora R.W. Interspecific relationships in botany / R.W. Scora // University of California publication in botany. - 1967. – Vol. 41. - P.1-71.

117. Structure clarification and synthesis of didymin, an isosakuranetin-7-beta-rutinoside from *Monarda didyma* L. [German] / H. Wagner, L. Horhammer, G. Aurnhammer, L. Farkas // *Chemische Berichte*. – 1968. – Vol. 101, №2. - P.445-9.
118. Study of *Monarda fistulosa* essential oil as a prospective antiseborrheic agent/ E.T. Zhilyakova, O.O. Novikov, E.N. Naumenko [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology & Medicine*. – 2009. - Vol 148, № 4. – P. 612-4.
119. Walton, N.J. Survival of three commercially available natural enemies exposed to Michigan wildflowers / N.J. Walton, R. Isaacs // *Environmental Entomology*. – 2011. – Vol. 40, № 5. – P. 1177-82.

ПРИЛОЖЕНИЯ



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Красюк Екатерины Васильевны «Фармакогностическое исследование видов монарды, интродуцируемых на территории Республики Башкортостан», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебную работу кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе: председатель - заведующий кафедрой фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, д.фарм.н., профессор Халиуллин Ф.А.

члены комиссии: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, д.фарм.н Клен Е.Э., доцент кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, к.фарм.н. Шарипов И.М.

составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Красюк Екатерины Васильевны «Фармакогностическое исследование видов монарды, интродуцируемых на территории Республики Башкортостан» внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3) и применяются при изучении вопросов качественного и количественного анализа лекарственных препаратов растительного происхождения на практических занятиях у студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета.

Председатель комиссии

Члены комиссии:

450008, г.Уфа, ул.Ленина, 3

 Ф.А. Халиуллин
 Е.Э. Клен
 И.М. Шарипов



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Красюк Екатерины Васильевны «Фармакогностическое исследование видов монарды, интродуцируемых на территории Республики Башкортостан», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебную работу кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе: председатель - заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, д.фарм.н., профессор Кудашкина Н.В.

члены комиссии: профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, д.фарм.н Хасанова С.Р., доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, к.фарм.н. Галиахметова Э.Х.

составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Красюк Екатерины Васильевны «Фармакогностическое исследование видов монарды, интродуцируемых на территории Республики Башкортостан» внедрены в учебный и научно-исследовательский процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3) и применяются на практических занятиях у студентов 3 и 4 курсов фармацевтического факультета при изучении вопросов качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья, содержащего эфирные масла, флавоноиды и при разработке методов стандартизации лекарственного растительного сырья и средств растительного происхождения.

Председатель комиссии

Члены комиссии:

450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Three handwritten signatures are shown, corresponding to the names listed to the right. The first signature is for N.V. Kudashkina, the second for S.R. Hasanova, and the third for E.Kh. Galiaxmetova.

Н.В. Кудашкина

С.Р. Хасанова

Э.Х. Галиахметова

УТВЕРЖДАЮ



Директор ГБУЗ «Республиканский
центр контроля качества и сертификации
лекарственных средств»

Т.Ф. Мулюкова

2018 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

**результатов диссертационной работы Красюк Екатерины Васильевны
«Фармакогностическое исследование видов монарды, интродуцируемых в
Республике Башкортостан», представленной на соискание ученой степени кандидата
фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия,
фармакогнозия в работу лаборатории Государственного бюджетного учреждения
здравоохранения «Республиканский центр контроля качества и сертификации
лекарственных средств»**

Комиссия в составе: председатель - директор Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» Т.Ф. Мулюкова

Члены комиссии: провизор-аналитик Дианова И.С., провизор-аналитик Сухарева А.А. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Красюк Е.В. внедрены в работу ГБУЗ «Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств». Разработанные методики качественного и количественного анализа травы монарды апробированы в работе предприятия. В основе разработанных методик лежит унифицированный подход к анализу лекарственного растительного сырья: качественный анализ с использованием хроматографических проб методом ТСХ и количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в траве монарды методом дифференциальной спектрофотометрии и эфирных масел методом перегонки с водяным паром. Методики являются нетрудоемкими, экспрессными, легко воспроизводимыми и статистически достоверными.

Внедрение результатов диссертационного исследования Красюк Е.В. будет способствовать оптимизации анализа лекарственного растительного сырья травы монарды и дальнейшего ее внедрения в медицину.

Провизор-аналитик ГБУЗ «Республиканский
центр контроля качества и сертификации
лекарственных средств»

А.А. Сухарева

Провизор-аналитик ГБУЗ «Республиканский
центр контроля качества и сертификации
лекарственных средств»

И.С. Дианова

450106, г.Уфа, ул. Батырская, 39 в.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

ул. Ленина, 3, г. Уфа, Республика Башкортостан, Российская
Федерация, 450008
тел. (347) 272-41-73, факс 272-37-51
[http:// www.bashgmu.ru](http://www.bashgmu.ru), E-mail: rectorat@bashgmu.ru

ОКПО 01963597 ОГРН 1020202561136
ИНН 0274023088 КПП 027401001

28.03.2019 № 1564-01

На № _____ от _____

Генеральному директору
учреждения ФГБУ
«Научный Центр Экспертизы
средств медицинского
применения»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
Олефиру Ю.В.

127051, Россия, г. Москва,
Петровский бульвар, д.8, стр.2

Уважаемый Юрий Витальевич!

Направляем Вам проект фармакопейной статьи «Монарды трава», разработанный на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Приложение:

- проект ФС с пояснительной запиской – 4 экземпляра,
- диск с электронной версией проекта ФС.

Ректор

Исполнитель: Пупыкина К.А.

8 (347) 2712285



В.Н. Павлов



Приложение 5

Показатели качества сырья травы монарды в процессе хранения

Сырье	Дата анализ а	Подлин- ность (качест. реакции, ТСХ)	Содержание в процентах									Продолжи тельность хранения
			Эфир- ное масло	Флаво- ноиды в пере- счете на лю- теолин	Влажн ость	Зола общая	Зола, не раств. в 10 % HCl	Измель чен- ность	Примеси			
									Кусоч- ки стеб- лей	Органи ческие	Мин ерал ные	
1	2	3	4	5	6	7	8	10	9	11	12	13
Монарда дудчатая (трубчатая)	10.2013	Соотв.	1,37	1,44	9,65	8,76	3,92	Соотв.	31,56	0,46	0,23	исх.
	10.2014	То же	1,25	1,40	9,60	8,74	3,90	То же	31,74	0,45	0,21	1 год
	10.2015	-«-	0,95	1,24	9,58	8,71	3,91	-«-	30,90	0,43	0,22	2 года
	10.2016	-«-	0,76	1,14	9,52	8,70	3,87	-«-	31,22	0,41	0,20	3 года
	10.2017	-«-	0,33	1,10	9,42	8,58	3,66	-«-	32,33	0,38	0,20	4 года
Монарда двойчатая	10.2013	Соотв.	1,48	1,33	8,80	8,02	3,75	Соотв.	28,98	0,42	0,25	исх.
	10.2014	То же	1,35	1,30	8,76	7,98	3,72	То же	28,66	0,36	0,23	1 год
	10.2015	-«-	1,03	1,28	8,73	7,96	3,68	-«-	27,94	0,40	0,27	2 года
	10.2016	-«-	0,74	1,24	8,69	7,95	3,67	-«-	28,16	0,41	0,25	3 года
	10.2017	-«-	0,41	1,15	8,47			-«-				4 года
Монарда гибридная	10.2013	Соотв.	1,11	1,22	7,45	9,32	4,02	Соотв.	27,41	0,71	0,77	исх.
	10.2014	То же	0,94	1,18	7,39	9,31	3,98	То же	27,65	0,69	0,75	1 год
	10.2015	-«-	0,79	1,15	7,36	9,33	4,01	-«-	27,39	0,76	0,73	2 года
	10.2016	-«-	0,58	1,13	7,23	9,32	3,96	-«-	27,81	0,74	0,76	3 года

	10.2017	-«-	0,27	0,95	7,03	9,11	3,84	-«-	27,34	0,72	0,76	4 года
1	2	3	4	5	6	7	8	10	9	11	12	13
Монарда лимонная	10.2013	Соотв.	1,29	1,56	8,56	7,24	3,62	Соотв.	35,44	0,56	0,53	исх.
	10.2014	То же	1,13	1,53	8,48	7,20	3,65	То же	35,57	0,57	0,50	1 год
	10.2015	-«-	0,94	1,50	8,41	7,19	3,66	-«-	35,49	0,56	0,49	2 года
	10.2016	-«-	0,65	1,49	8,39	7,15	3,63	-«-	35,50	0,55	0,47	3 года
	10.2017	-«-	0,37	1,23	8,22	7,04	3,47	-«-	35,52	0,54	0,43	4 года
Монарда Рассела	10.2013	Соотв.	0,99	1,06	6,45	8,44	3,81	Соотв.	24,71	0,33	0,65	исх.
	10.2014	То же	0,91	1,03	6,38	8,40	3,79	То же	24,07	0,34	0,63	1 год
	10.2015	-«-	0,84	0,99	6,32	8,42	3,80	-«-	24,33	0,32	0,65	2 года
	10.2016	-«-	0,62	0,97	6,27	8,41	3,81	-«-	24,50	0,39	0,64	3 года
	10.2017	-«-	0,40	0,87	6,17	8,38	3,72	-«-	25,46	0,41	0,61	4 года

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Монарды трава

ФС 42-____-____

Herba Monarda

Вводится впервые

Срок введения установлен

«____» _____ 20__ года

Срок действия до

«____» _____ 20__ года

Требования фармакопейной статьи распространяются на собранную в фазу цветения и высушенную траву культивируемых, многолетних травянистых растений различных видов монарды (*Monarda*): монарды дудчатой (трубчатой) - *M. fistulosa*, монарды двойчатой - *M. didyma*, монарды гибридной - *M. hybrida*, монарды лимонной - *M. citriodora* и монарды Рассела - *M. Russell*, сем. яснотковых – *Lamiaceae*.

<i>Показатели</i>	<i>Методы анализа</i>	<i>Нормы</i>
Внешние признаки	ОФС.1.5.1.0002.15, ГФ-XIV (т.2), визуально (с помощью лупы и микроскопа), огранолептически	смесь листьев, соцветий, кусочков стеблей опушенных полых, четырехгран- ных, зеленых с красноватым или коричневым оттенком; листья с верхней стороны голые, с нижней – опушенные серовато-зеленые или зеленые; цветки фиолетовые, лиловые, розовато-красные, пурпурные или белые, собранные в одиночные или многоярусные шаровидные головки; запах сильный, специфический, ароматный.
Микроскопия	ОФС.1.5.3.0003.15. ГФ-XIV (т.2)	Характерные диагностически значимые признаки травы монарды
Качественные реакции	Цветная реакция со спиртовым раствором алюминия хлорида (III)	Желто-зеленое окрашивание (флавоноиды)
	ТСХ: система «этиацетат-уксусная кислота-вода 5:1:1», проявитель 5% раствор алюминия хлорида	Соответствует ФС
<i>Числовые показатели:</i> Содержание эфирного масла Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин Влажность	ОФС.1.5.2.0001.15, ГФ-XIV(т.2), метод 1 Дифференциальная спектрофотометрия ОФС.1.5.3.0007.15,	не менее 0,5% не менее 0,9% не более 10%

Золы общей	ГФ-ХIV (т.2)	не более 10%
Золы, нерастворимой в 10 % растворе кислоты хлористоводородной	ГФ-ХI, вып.1 ОФС.1.5.3.0005.15, ГФ-ХIV (т.2)	не более 5 %
Примеси – кусочки стеблей	ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-ХIV (т.2)	не более 40%
Органическая примесь	ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-ХIV (т.2)	не более 1%
Минеральная примесь	ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-ХIV (т.2)	не более 1%
Измельченность: частиц, не проходящих сквозь сито d=7 мм	ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-ХIV (т.2)	не более 5%
частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	ОФС.1.5.3.0004.15, ГФ-ХIV (т.2)	не более 5%
Микробиологическая чистота	ОФС 42-0016-04, ОФС 42-0067-07, ГФ XII (т.1, разд. 32)	Категория 4А
Радиологическая чистота	СанПиН 2.3.2.1078-01 п.п.1.6.10, ОФС.1.5.3.0001.15, ГФ-ХIV (т.2)	Радионуклиды отсутствуют
Тяжелые металлы и мышьяк	ОФС.1.5.3.0009.15 ГФ-ХIV (т.2)	Тяжелые металлы и мышьяк отсутствуют
Упаковка	ОФС 1.1.0025.18. ГФ-ХIV том 1.	Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного;
Хранение	ОФС.1.1.0011.15 ГФ ГФ-ХIV том 1.	Изолированно от других видов сырья в сухом, проветриваемом, защищенном месте.
Срок годности		3 года

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки. Сырье исследуют невооруженным глазом, с помощью лупы (10х) или стереомикроскопа (16х) в соответствии с разделом «Морфологические группы лекарственного растительного сырья», ОФС «Трава» (ГФ-XIV, т.2, с. 2220).

Цельное сырье: верхние части стеблей с листьями, цветками, могут встречаться отдельные листья, прилистники, цветки, части стеблей или соцветий. Стебли полые, четырехгранные, опушенные или частично опушенные по ребрам. Листья супротивные, простые, короткочерешковые, продолговато-яйцевидные или ланцетные (у монарды лимонной), зубчатые или пильчатые (у монарды лимонной), с верхней стороны голые, с нижней – опушенные, длиной 6 -15 см (нижние листья), 2 - 5 см (верхние стеблевые). Цветки многочисленные (30-50 или 15 (у монарды лимонной)), собраны в одиночные шаровидные головки на концах основных и боковых побегов или многоярусные 5-7 мутовок (у монарды лимонной). Цветки обоеполые, чашечка длиной 1,5-2,0 см, трубчатая с пятью зубцами и многочисленными волосками, венчик двугубый, верхняя губа узкая, нижняя – более широкая и свисающая, тычинок 4, завязь верхняя. Плод – ценобий, мелкий сухой, распадающийся на четырехгранные орешки длиной 1-1,5 мм.

Цвет стеблей зеленый с красноватым или коричневым оттенком, листьев – от серовато-зеленого до зеленого, чашелистиков – зеленый, лепестков венчика - фиолетовый, лиловый, розовато-красный, пурпурный или белый. Запах сильный, специфический, ароматный. Вкус водного извлечения горьковато-вяжущий.

Измельченное сырье: кусочки стеблей, листьев, цветков, проходящих сквозь сито 7 мм. Цвет стеблей зеленый с красноватым или коричневым оттенком, листьев – от серовато-зеленого до зеленого, чашелистиков – зеленый, лепестков венчика - фиолетовый, лиловый, розовато-красный, пурпурный или белый. Запах сильный, специфический, ароматный. Вкус водного извлечения горьковато-вяжущий.

Порошок: зеленого цвета с темно-красными включениями, проходящий сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм. Запах сильный, специфический.

Микроскопические признаки. Проводят в соответствии с указаниями ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» (ГФ-XIV, т.2, с. 2327).

Из аналитической пробы готовят препараты по методике приготовления микропрепаратов из цельного сырья ОФС «Трава» (ГФ-XIV, т.2, с. 2220).

Цельное, измельченное сырье. Эпидермис стебля представлен крупными прямоугольными, вытянутыми вдоль стебля клетками, расположенными плотно друг к другу, ближе к центру клетки приобретают многоугольную форму. На поверхности эпидермиса диагностированы многочисленные простые волоски с гладкой поверхностью (рисунок 1, 2).

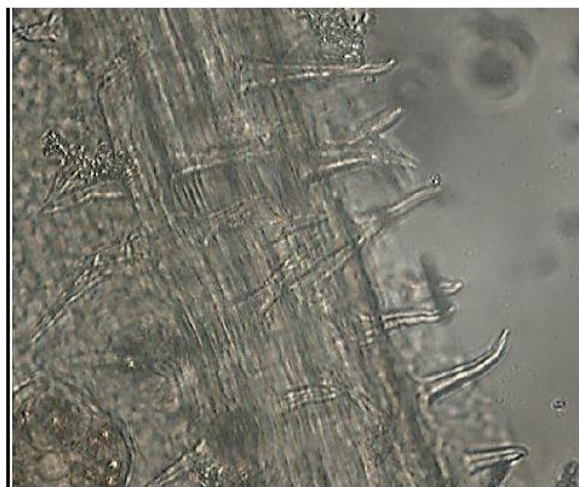


Рис.1. Стебель монарды: простые волоски. Увел. 20х10.

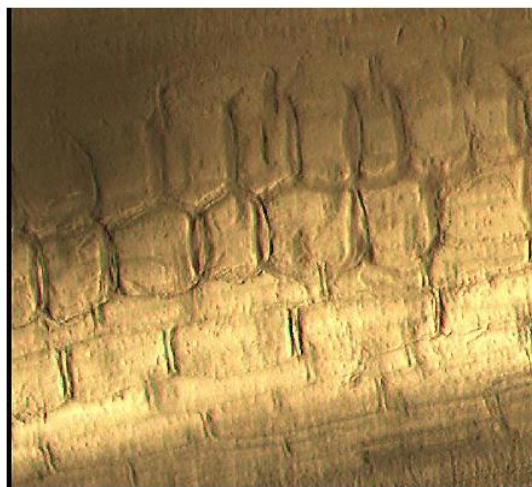


Рис. 2. Стебель монарды: эпидермис. Увел. 20х10.

Анатомо-микродиагностические признаки листьев: состоит из многоугольных, слегка утолщенных клеток (рисунок 3); нижний эпидермис образован извилистостенными клетками (рисунок 4); устьица крупные, имеются только на нижней стороне листа (гипостоматический тип) и окружены двумя околоустьичными клетками, которые расположены

перпендикулярно устьичной щели (диацитный тип) Форма устьиц в основном округлая, реже овальная. (рисунок 5).

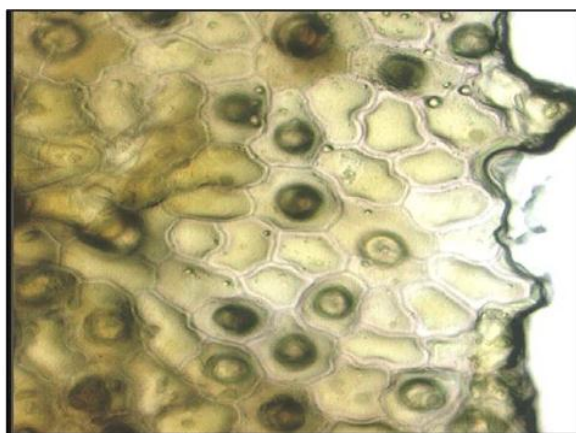


Рис.3. Верхний эпидермис листа монарды: клетки многоугольные, с утолщённой стенкой. Увел. 20x10.

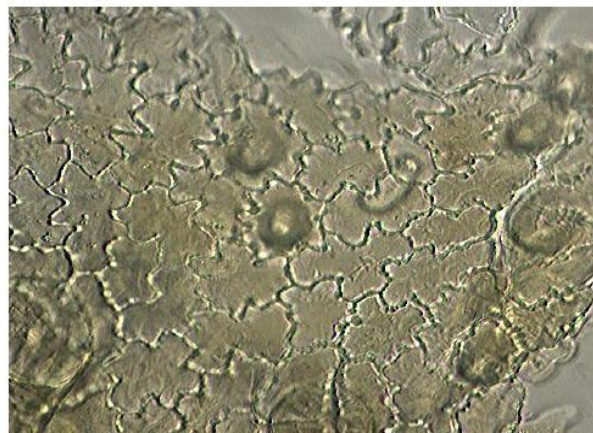


Рис.4. Нижний эпидермис листа монарды: клетки извилистостенные. Увел. 20x10.

На нижней стороне листа в большом количестве присутствуют округлые эфиромасличные железки, состоящие из 8-12 выделительных клеток, расположенных радиально, клетки эпидермиса вокруг места прикрепления эфиромасличной железки образуют розетку (рисунок 6).



Рис.5. Нижний эпидермис листа монарды: устьичный аппарат диацитного типа. Увел. 40x10.



Рис.6. Нижний эпидермис листа монарды: эфиромасличная железка. Увел. 40x10.

Центральная жилка сильно выделяется, проводящие ткани представлены одним крупным проводящим пучком. Эпидермис над жилкой состоит из нескольких рядов вытянутых в прямоугольную форму клеток, которые плотно смыкаются между собой (рисунок 7). Характерно наличие

нескольких типов волосков: остро-конусовидные, наклоненные к поверхности листа; простые волоски, расположенные по краю листовой пластинки; многоклеточные, 3-5 клеточные волоски; головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на короткой одноклеточной ножке, простые многоклеточные волоски с изогнутой верхушкой (рисунок 8, 9).



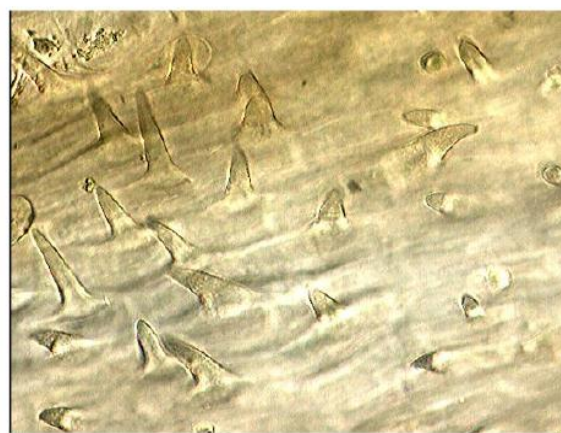
Рис.7 Жилки листа монарды. Увел. 20x10.



Рис.8. Край листа монарды: простые и многоклеточный волосок. Увел. 10x10.



Рис.9. Нижний эпидермис листа монарды: головчатый волосок, волоски остро-конусовидные, наклоненные к поверхности. Увел. 20x10.



При рассмотрении прилистника обнаружено, что верхний эпидермис представлен многоугольными, а нижний извилистыми клетками, устьичный аппарат диацитного типа (окружены двумя перпендикулярно расположенными друг к другу клетками), встречаются головчатые,

многоклеточные и простые волоски. Эфиромасличные железы располагаются на нижней стороне прилистника (рисунок 10).

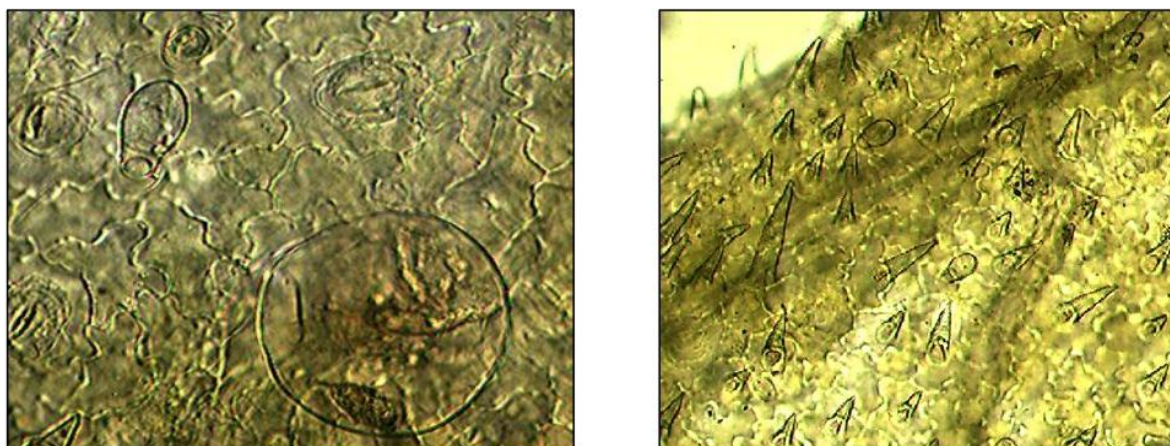


Рис.10. Нижний эпидермис прилистника монарды: эфиромасличная железа, устьичный аппарат диацитного типа, извилистые клетки эпидермиса, головчатый волосок, остро-конусовидные волоски. Увел. 20х10.

Анатомо-микродиагностические признаки чашечки. Эпидермис чашечки представлен сильно извилистыми клетками, которые у основания приобретают многоугольную вытянутую форму, устьичный аппарат диацитного типа (рисунок 11) .

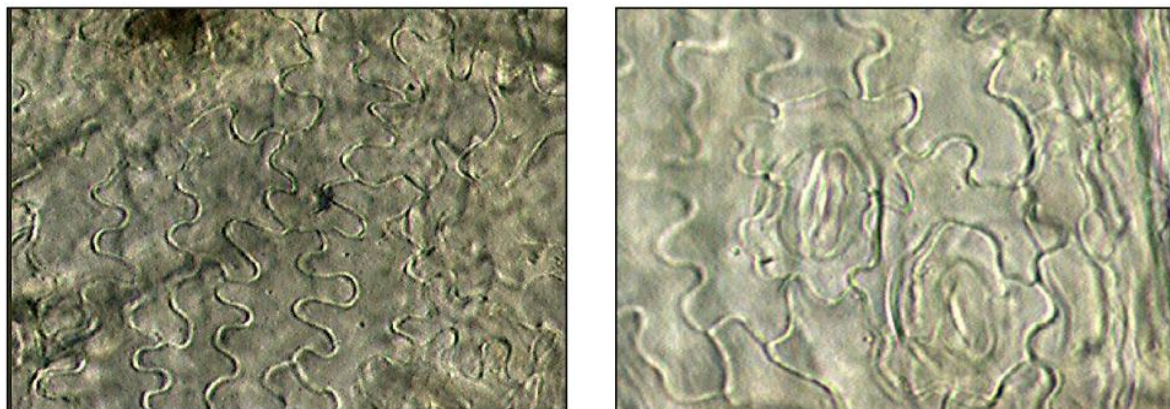


Рис.11. Чашечка монарды: сильноизвилистые клетки эпидермиса, устьичный аппарат диацитного типа. Увел. 40х10.

Основание не имеет волосков, а по краю зубцов чашечки имеются многочисленные простые многоклеточные волоски (рисунок 12). На внешней стороне чашечки располагаются волоски двух типов: одноклеточные и головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на короткой одноклеточной ножке, на внутренней стороне имеются эфиромасличные

железки и простые двухклеточные волоски с одноклеточной головкой (рисунок 13,14).

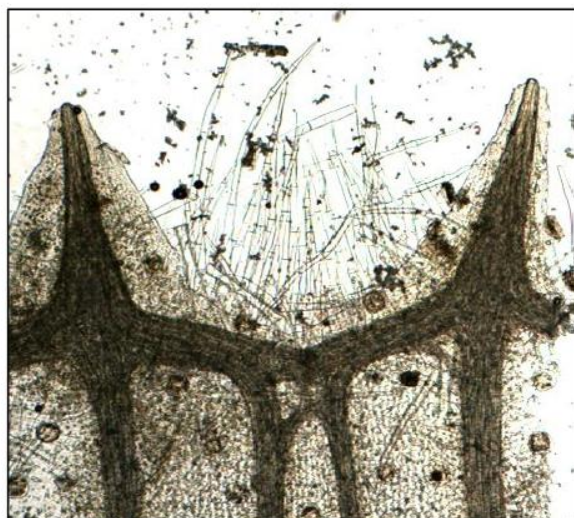


Рис.12. Чашечка монарды: простые волоски, эфиромасличные железки Увел. 10x10.



Рис.13. Внутренняя сторона чашечки монарды Увел. 40x10.



Рис.14. Внешняя сторона чашечки монарды. Увел. 20x10.



Рис.15. Венчик монарды: простой одноклеточный волосок с одноклеточной головкой, головчатый волосок. Увел. 40x10.

Анатомо-микродиагностические признаки венчика. Эпидермис верхней стороны лепестков образован сильноизвилистыми клетками, у основания и по краю клетки прямоугольной вытянутой формой плотно прилегают друг к другу, эпидермис внутренней стороны представлен слабоизвилистыми клетками; устьичный аппарат диаитного типа встречаются редко, в большом количестве присутствуют эфиромасличные железки, простые многоклеточные волоски с грубобородавчатой поверхностью, головчатые

волоски, простой одноклеточный волосок с одноклеточной головкой, по краям лепестка располагаются сосочковидные волоски; а так же встречаются группы простых одноклеточных, двухклеточной волосков, с возможным разветвлением место прикрепление у которых в виде валика (рисунок 15-17).



Рис.16. Венчик монарды: волосок с разветвлением и прикреплением в виде валика. Увел. 40x10.



Рис.17. Венчик монарды: эфиромасличная железка. Увел. 40x10.

Порошок. Под микроскопом видны обрывки многоугольных и извилистых клеток эпидермиса, устьица диацитного типа, волоски: простые, многоклеточные, головчатые, многочисленные эфиромасличные железки, обрывки проводящих элементов стебля, грубобородавчатые волоски цветка, пыльцевые зерна.

Определение основных групп биологически активных веществ

Качественные реакции. К 1 мл извлечения, полученного согласно методике, описанной в разделе "Количественное определение", прибавляют 2 мл 1% раствора алюминия хлорида в 95% спирте и 10 мл 95% спирта; раствор окрашивается в желтый цвет (флавоноиды)

Тонкослойная хроматография. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм. Около 1,0 г помещают в коническую колбу на 100 мл, прибавляют 20 мл спирта 70%, нагревают с обратным холодильником на

водяной бане в течении 30 минут. После охлаждения до комнатой температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ» капилляром наносят 0,05 мл испытуемого раствора и по 0,05 мл 0,05% растворов РСО лютеолина, лютеолина-7-гликозида, рутина, кофейной кислоты. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 10 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 10 минут. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм обнаруживаются 9 пятен, 5 из которых предположительно с R_f около 0,48 рутин, с R_f около 0,72 лютеолин -7-гликозид, с R_f около 0,86 кофейная кислота, с R_f около 0,90 лютеолин (рисунок 16). После проявления пластинки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида происходит изменение окраски пятен.

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ» вырезают размером 14×5 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 часа.

2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система растворителей: этилацетат-уксусная кислота-вода (5:1:1). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.

3. Приготовление раствора проявителя. 5,4 г алюминия хлорида 6-водного растворяют в 80 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки, перемешивают.

4. Приготовление растворов сравнения.

Растворы рутина, лютеолина-7-гликозида, лютеолина: около 0,05 г (точная навеска) РСО, предварительно высушенного при температуре 130-135°С в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 мес.

Раствор кофейной кислоты: около 0,05 г (точная навеска) РСО растворяют в 95% этиловом спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят до метки. Срок годности раствора 1 мес.

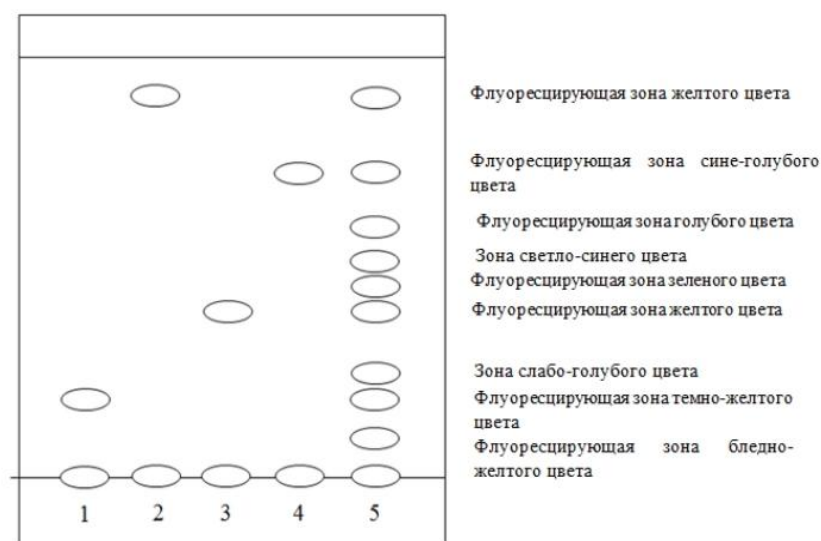


Рисунок 16. Схема хроматограммы травы монарды в системе этилацетат-уксусная кислота-вода (5:1:1): 1- раствор сравнения рутина, 2- раствор сравнения лютеолина, 3- раствор сравнения лютеолина-7-гликозида, 4- раствор сравнения кофейной кислоты, 5-испытуемый раствор.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное сырье, измельченное сырье и порошок* - не более 10%.

Зола общая. *Цельное сырье, измельченное сырье и порошок* - не более 10%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. *Цельное сырье, измельченное сырье* – не более 5%.

Измельченность сырья. *Цельное сырье:* частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями $d=7$ мм - не более 5%. *Измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями $d=7$ мм - не более 5%; измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями $d=0,5$ мм - не более 5%.

Порошок: измельченных частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями 2 мм - не более 5%; измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,25 мм - не более 5%.

Посторонние примеси.

Кусочки стеблей. *Цельное сырье* - не более 40%.

Органическая примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 1%.

Минеральная примесь. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - не более 1%.

Тяжелые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок* - содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин не менее 0,9%.

Около 0,5 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц 1 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл и добавляют 30 мл 40 % спирта этилового. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане 30 мин. Извлечение фильтруют, избегая попадания частиц сырья на фильтр, в колбу вместимостью 50 мл. Затем экстракцию повторяют ещё раз, заливая сырье 20 мл экстрагента, кипятят 30 минут и фильтруют в ту же мерную колбу, доводя объем извлечения до метки этим же растворителем (раствор А).

1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 1% раствора хлорида алюминия в 95%-м этиловом спирте и 1 каплю хлористоводородной кислоты, доводят объем раствора 95%-м этиловым спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). Через 45 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре

при длине волны 398 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий 1 мл исследуемого раствора, 1 каплю хлористоводородной кислоты и 95%-й этиловый спирт до общего объема 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность государственного стандартного образца (РСО) лютеолина: 1 мл 0.05% спиртового раствора ГСО лютеолина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 1% раствора хлорида алюминия в 95%-м этиловом спирте, доводят объем раствора 95%-м этиловым спиртом до метки и перемешивают. Измерения проводят аналогично испытываемому раствору.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин в % (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot V_6 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot V_3 \cdot V_4 \cdot V_5 \cdot (100 - W)},$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность ГСО лютеолина;

a_1 – навеска сырья, г;

V_1 – объем полученного экстракта сбора;

V_2 – объем разведения аликвоты экстракта;

V_3 – объем аликвоты экстракта;

a_0 – навеска ГСО лютеолина, г;

V_4 – объем раствора стандарта;

V_5 – объем разведения аликвоты раствора стандарта;

V_6 – объем аликвоты раствора стандарта;

W – потеря в массе при высушивании сырья.

Примечание 1: Приготовление СО лютеолина: 0,05 г стандартного образца лютеолина (точная навеска) предварительно высушенного при температуре 130-135⁰С в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта при нагревании на водяной бане при периодическом перемешивании.

Охлаждают, количественно переносят в другую мерную колбу на 100 мл, доводят объем раствора до метки тем же спиртом и перемешивают.

2. Приготовление 1% спиртового раствора алюминия хлорида: - 1,4 г алюминия хлорида 6-водного растворяют (ГОСТ 3759-75); растворяют в 40 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора 95% спиртом до метки. Срок годности раствора при хранении в колбе с притертой пробкой 6 мес.

Эфирное масло. *Цельное сырье, измельченное сырье*, содержание эфирных масел не менее 0,5%.

В соответствие с требованиями ОФС «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1, масса сырья – 10 грамм, измельченного до величины частиц проводящих сквозь сито с отверстиями 2 мм, время перегонки 1 час).

Упаковка. Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные по ГОСТ 2226-88; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного по ГОСТ 26 996-86, для лекарственных средств или пищевых продуктов; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые по ГОСТ 30 090-93. На мешки наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86, бумаги писчей по ГОСТ 18 510-87.

Маркировка. На этикетке указывают: название лекарственного средства на русском и латинском языках, масса 15 кг, влажность 10%, регистрационный номер, номер серии, срок годности, условия хранения.

Хранение. В соответствие с ГОСТ 6077-80 и ОФС.1.1.0011.15 ГФ XIV том 1. Изолированно от других видов сырья в сухом, проветриваемом, защищенном месте.

Срок годности. 3 года.

Фармакологическая группа. Противовоспалительное, антиоксидантное и антимикробное средство.

**ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ И СУШКЕ
ТРАВЫ МОНАРДЫ**

Монарда – однолетнее, двулетнее или многолетнее травянистое растение, образующее плотные кусты высотой 60-120 см. Корневище длинное, горизонтальное, корни мочковатые. Стебли прямостоячие, жесткие, крепкие, четырехгранные, пустотелые, разветвленные или не разветвлённые. Листья расположены супротивно, на коротких черешках с прилистниками. Листовая пластинка имеет длину 6-12 см, овально-ланцетная, темно - пурпурно - либо просто зеленого цвета. Сверху листовая пластинка голая или опушенная короткими волосками, снизу по жилкам также идет опушение. Края листовой пластинки городчато-зубчатые (рисунок 1). Соцветие - шаровидная головка, которая образованна примерно из 50 цветков. Соцветия растения появляются в верхней части стебля или при выходе из пазух. Цветки монарды трубчатые, двухсторонние и симметричные: верхняя губа узкая, а низкая чуть шире, собраны, как правило, в головчатые соцветия на верхушке стебля, часто весьма необычно – в виде канделябра (в 2-3 яруса) и в пазухах стеблей. Цветки гермафродиты, так как имеют элементы и мужской и женской структуры в каждом цветке. Имеется две тычинки. Плод – сухой, растрескивающийся на 4 орешка. Масса 1000 плодов (орешков) 0,2-0,3 г.

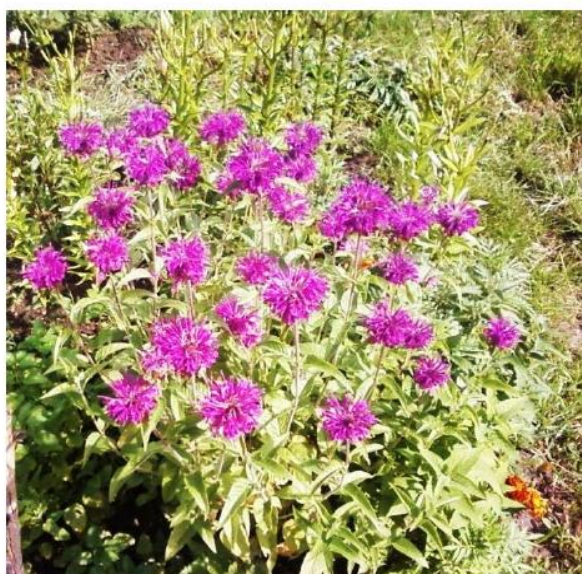


Рисунок 1. Монарда

В России монарда встречается только в условиях культуры в европейской части страны, на Урале, в Сибири, на дальнем Востоке, в Средней Азии, Украине, Молдавии и Северном Кавказе. Большой пласт по работам интродукции, выполнен в ботанических садах Украины, Белоруссии, Молдавы, Азербайджана, России: в Башкортостане и Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений, Северо-Западном регионе (Ленинградская область) и Западной Сибири

В качестве сырья у монарды используют траву с соцветиями. Сырье заготавливают через 10-15 дней после начала полного цветения (июнь-август), срезая ножами или секаторами на высоте 20-25 см от поверхности почвы – в зоне ветвления цветоносных стеблей. Сушат траву монарды в хорошо проветриваемом помещении или под навесом при температуре не выше 35-40⁰С. Для сушки сырье необходимо разложить тонким слоем на бумагу или ткань, периодически переворачивая сырье. Возможна сушка в сушилках при температуре не выше 40⁰С.

Сырье представляет собой целые или частично измельченные цветоносные, облиственные стебли длиной 20 см. Листья простые, цельные, короткочерешковые расположены супротивно. Листочки длиной от 5 до 12 см, по форме овально-яйцевидные или ланцетные, по краю пильчатые или зубчатые. Снизу листовая пластинка опушена вдоль жилок. Стебли прямостоячие, четырехгранные, полые. Опушение начинается по ребрам и лишь к середине побега появляется полное опушение стебля. Цветки собраны в шаровидные головки с прицветными листьями, расположенные на концах основного и боковых побегов, зигоморфные, обоеполые. Венчик двугубый, трубчатый, двустороннесимметричный, верхняя губа узкая, а нижняя – более широкая и свисающая. Чашечка состоит из пяти чашелистиков сросшихся, длинна 1,5-2,0 см, между зубцами чашечки длинные многочисленные волоски. Тычинок 4, расположены кругами. Плодолистиков 2, завязь верхняя. Плоды - мелкие сухие четырехгранные орешки длиной 1-1,5 мм.

Цвет стеблей зеленый с лиловым оттенком, листьев – сверху темно-зеленые, снизу - светло зеленые. При снижении температуры стебель и листья окрашиваются в красный, бордовый или лиловый цвет; цвет цветков – красный, лиловый, пурпуровый; плоды – коричневые. Запах сильный, специфический. Вкус водного извлечения горьковато-вяжущий.

Числовые показатели. Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин не менее 0,9%, эфирного масла – не менее 0,5%, влажность не более 10%, золы общей не более 10%, золы, нерастворимой в 10 % растворе кислоты HCl не более 5%, примеси – кусочки стеблей не более 40%, органическая примесь не более 1,0%, минеральная примесь не более 1,0%, частиц, не проходящих сквозь сито $d=7$ мм не более 5%, частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм не более 5%.

Высушенную траву монарды упаковывают в тюки. Хранят изолированно от других видов сырья на стеллажах в сухом, хорошо проветриваемом помещении, защищенном от прямых солнечных лучей месте. Срок годности - 3 года.

Инструкцию составили:

ассистент кафедры

фармакогнозии с курсом

ботаники и основ фитотерапии

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России



Е.В. Красюк

Профессор кафедры

фармакогнозии с курсом ботаники

и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ

Минздрава России, д.фарм.н



К.А. Пупыкина

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2707098

**СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЛЕДЕНЦЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ПОРАЖЕНИЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА**

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Башкирский государственный медицинский университет"
Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Красюк Екатерина Васильевна (RU), Пупыкина Кира
Александровна (RU), Аверьянов Сергей Витальевич (RU),
Салангина Екатерина Викторовна (RU)*

Заявка № 2019125919

Приоритет изобретения 15 августа 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 22 ноября 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 15 августа 2039 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев