

На правах рукописи

КРАСЮК ЕКАТЕРИНА ВАСИЛЬЕВНА

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

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь - 2020

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

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Пупыкина Кира Александровна**

Официальные оппоненты:

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

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

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

Защита состоится «___» _____ 2020 г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г Пермь, ул. Полевая, 2, тел. (342) 233-55-01).

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

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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

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

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

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

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

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

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- 1) провести сравнительное морфолого-анатомическое изучение видов монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан, и выявить диагностически значимые макро- и микроскопические признаки;
- 2) изучить качественный состав биологически активных веществ различных видов монарды;
- 3) определить количественное содержание основных групп биологически активных веществ, изучить динамику накопления эфирного масла и флавоноидов в разные фазы вегетации растений;

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

5) определить некоторые виды фармакологической активности травы монарды;

6) разработать проект фармакопейной статьи «Монарды трава».

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

Изучен состав биологически активных веществ травы различных видов монарды с использованием методов хроматоденситометрии, ВЭЖХ, УФ-спектроскопии, 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 на изобретение № 2019125919/04(050832) от 15.08.2019г.

Теоретическая и практическая значимость работы.

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

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

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

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

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

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

Положения, выносимые на защиту:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Объекты и методы исследования

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

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

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

2. Морфолого-анатомическое исследование растений рода монарда

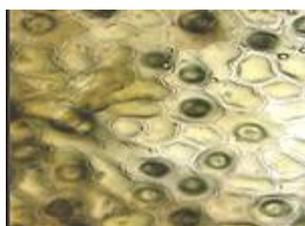
Проведен сравнительный макроскопический анализ травы пяти видов монарды и установлено, что по морфологическим признакам они имеют много общего, а именно, у всех видов стебель четырехгранный, прямостоячий, облиственный, опушенный; листорасположение супротивное; листья простые, короткочерешковые, жилкование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

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

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

3. Сравнительное фитохимическое исследование видов монарды

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



Многоугольные утолщенные клетки верхнего эпидермиса листа



Извилистостенные клетки нижнего эпидермиса листа



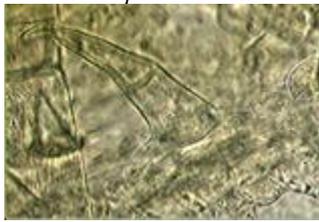
Устьичный аппарат диацитного типа



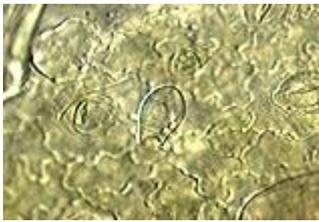
Эфиромасличная железка из 8-12 выделительных клеток



Простые и многоклеточные волоски по краям листа



Простой двухклеточный волосок с изогнутой верхушкой листа



Головчатый волосок листа



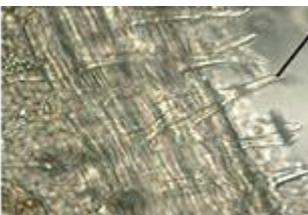
Остро-конусовидные волоски листа



Проводящий пучок открытый коллатеральный жилки листа



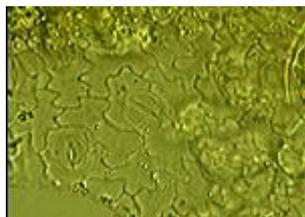
Эпидермис стебля с продольно-вытянутыми клетками



Простые волоски на поверхности стебля



Эфирномасличная железка на поверхности стебля



Извилистостенные клетки, устьичный аппарат прилистника



Извилистые клетки эпидермиса чашечки



Многочисленные простые волоски на поверхности чашечки



Сосочковидные волоски по краю венчика



Простой двухклеточный волосок с одноклеточной головкой венчика



Простой многоклеточный волосок с грубобордавчатой поверхностью, железка



Простой волосок с одноклеточной головкой, головчатый волосок



Пыльцевые зерна цветка

Рисунок 1. Микроскопические признаки травы монарды.

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

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

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

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

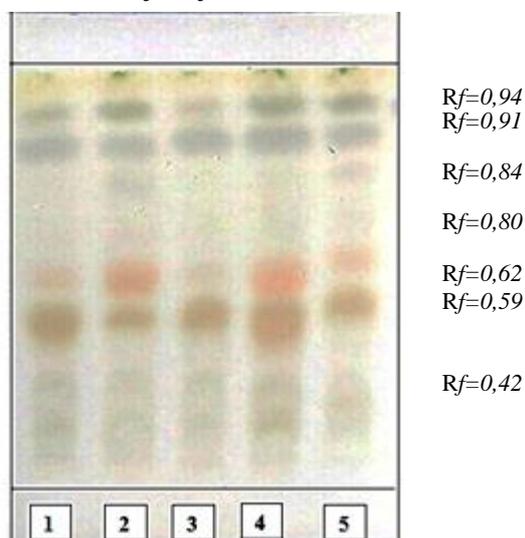


Рисунок 2. ТСХ, система «этилацетат – муравьиная кислота - вода (14:3:3)» в УФ-свете при $\lambda=254$ нм: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*.

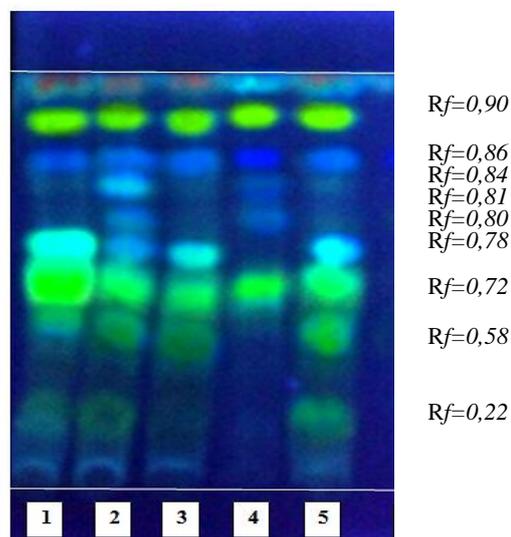


Рисунок 3. ТСХ, система «этилацетат - уксусная кислота - вода (5:1:1)» в УФ-свете при $\lambda=365$ нм: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*.

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

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

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

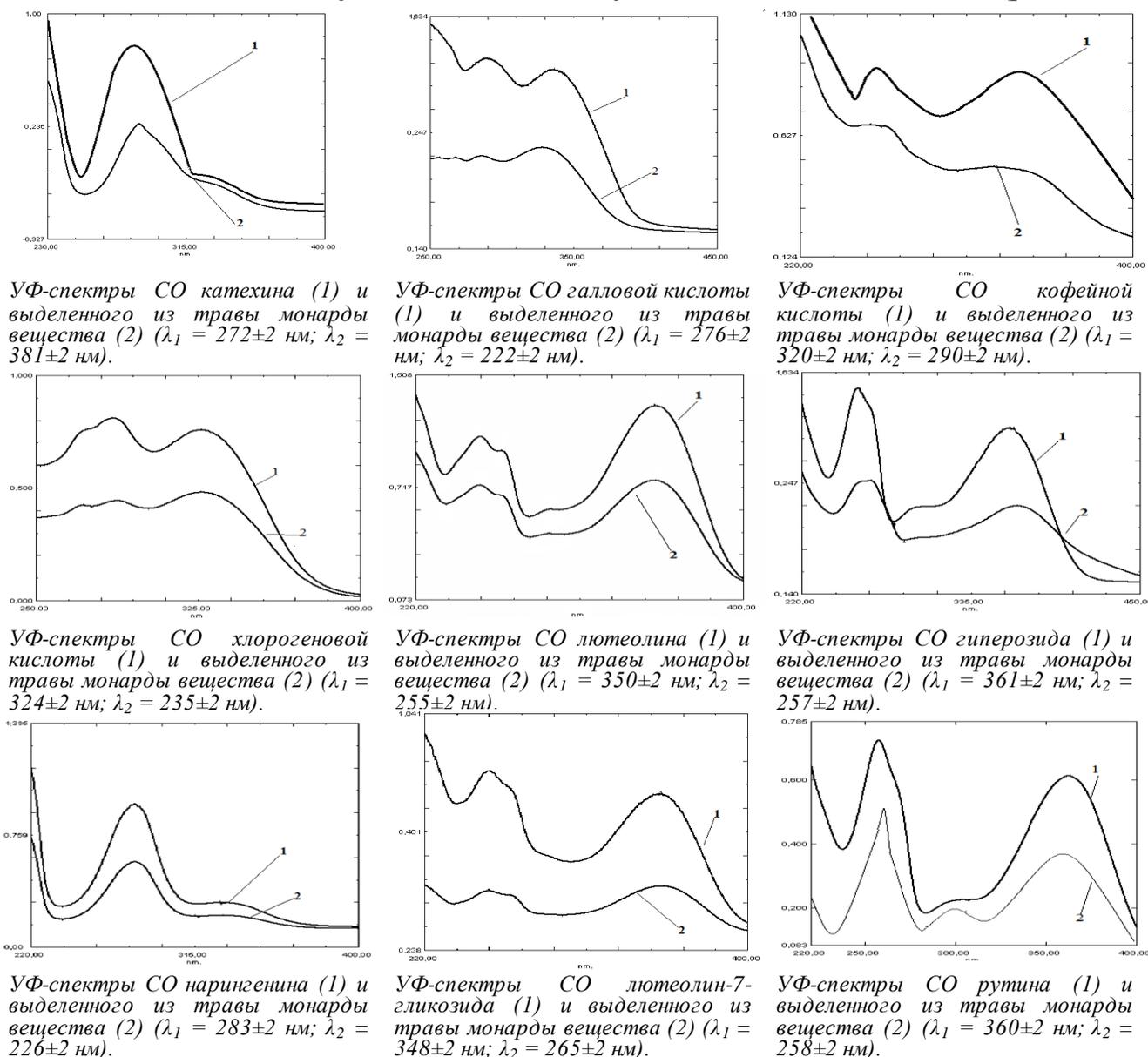


Рисунок 4. УФ-спектры, выделенных из травы монарды веществ в сравнении с веществами-свидетелями.

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

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

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

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

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

Группы БАВ, метод количественного определения	Содержание БАВ, %				
	<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 (спектрофотометрия, $\lambda=450$ нм)	0,036±0,001	0,039±0,001	0,038±0,001	0,036±0,001	0,036±0,001
Полисахариды (спектрофотометрия, $\lambda=460$ нм)	0,861±0,027	0,932±0,023	0,662±0,019	0,511±0,015	0,694±0,022
Кумарины (спектрофотометрия, $\lambda=310$ нм)	0,355±0,008	0,251±0,005	0,224±0,007	0,118±0,005	0,327±0,008
Оксикоричные кислоты (спектрофотометрия, $\lambda=325$ нм)	4,791±0,103	4,621±0,123	3,740 ±0,119	4,062 ±0,023	3,881±0,112
Сапонины (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	7,83±0,26	9,44±0,46	9,05±0,32	5,42±0,36	8,23±0,19
спектрофотометрия($\lambda=545$ нм)	4,63±0,23	5,55±0,21	4,82±0,28	3,13±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

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

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

Таблица 2 - Метрологические характеристики определения эфирных масел

№	Исследуемый объект	n	f	\bar{x}	S ²	Sx	P, %	T (P, f)	E _a	E _{ср} , %
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, с показателем преломления от 1,4983 до 1,5033.

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

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

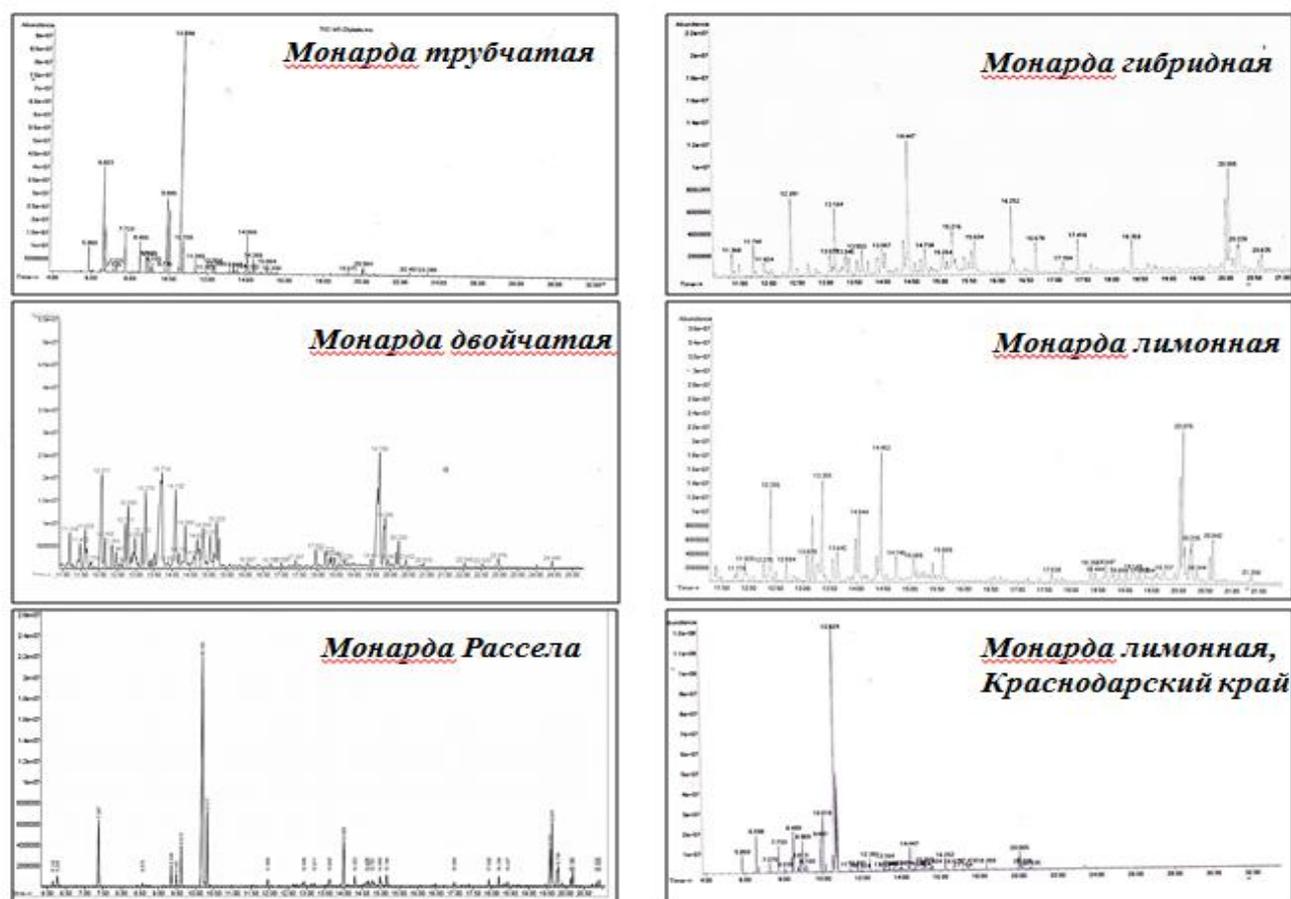


Рисунок 5. Хроматограммы эфирного масла исследуемых видов монарды.

Таблица 3 – Компонентный состав эфирных масел видов монарды, %

Компоненты эфирного масла	Содержание в смеси, %					
	<i>Monarda fistulosa</i>	<i>Monarda didyma</i>	<i>Monarda hybrida</i>	<i>Monarda Russela</i>	<i>Monarda citriodora</i>	<i>Monarda citriodora</i> (Красн.край)
Винилгвая-кол	-	36,43±0,81	-	-	-	-
Гераниол	1,85±0,11	1,22±0,04	1,74±0,42	1,10±0,17	1,44±0,20	1,12±0,13
Карвакрол	3,03±0,12	2,00±0,05	-	19,76±0,5	3,4±0,12	2,28±0,12
Камфора	2,98±0,11	-	4,18±0,12	-	2,13±0,08	1,21±0,04
Линалоол	3,83±0,15	2,64±0,08	3,83±0,14	17,31±0,52	3,02±0,11	13,72±0,50
Лимонен	0,44±0,10	0,40±0,21	0,38±0,22	0,22±0,08	0,27±0,14	0,27±0,15
Метилловый 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 кари-офиллена	-	2,42±0,06	2,79±0,10	1,17±0,07	1,10±0,04	1,54±0,04
Терпинен	0,38±0,04	0,36±0,03	-	0,34±0,04	0,12±0,02	0,22±0,04
Тимол	37,36±1,21	6,50±0,25	54,42±1,90	25,01±0,93	28,65±1,10	31,87±1,32
Фарнезол	4,76±0,13	2,13±0,06	-	-	1,54±0,04	0,86±0,08
1,8-цинеол	2,33±0,05	1,90±0,27	0,54±0,07	1,33±0,08	1,98±0,06	1,67±0,16
Цимол	12,89±0,42	7,9±0,19	2,6±0,07	4,11±0,15	10,21±0,40	15,71±0,43

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

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

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

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

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

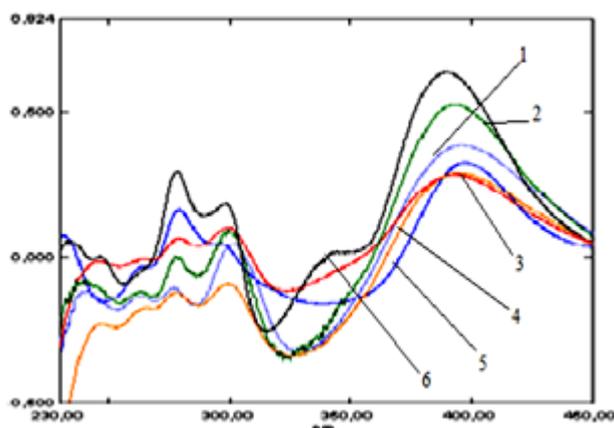


Рисунок 6. Дифференциальные спектры извлечений видов монарды и СО лутеолина (λ_{max} комплекса $AlCl_3/HCl$ 398-400 нм): 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6- лутеолин

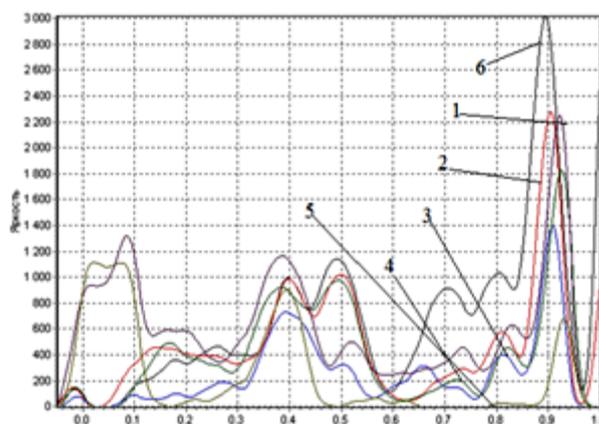


Рисунок 7. Денситограмма извлечений из видов монарды: 1 – *M. fistulosa*, 2- *M. didyma*, 3 – *M. hybrida*, 4 – *M. citriodora*, 5 – *M. Rassela*, 6- лутеолин.

Таблица 4 - Метрологическая характеристика методики количественного определения флавоноидов

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

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

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

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

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

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

4. Изучение фармакологической активности настоя травы монарды

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

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

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

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Итоги выполнения исследования

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

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

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

3. Проведено количественное определение основных групп биологически активных веществ и установлено, что во всех пяти видах их содержание отличается незначительно, но несколько больше наблюдается в траве *Monarda fistulosa* L. (аскорбиновая кислота ($0,125 \pm 0,004\%$), 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.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Красюк, Е.В. Монарда-как потенциальный источник ценных биологически активных веществ / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко // **Медицинский вестник Башкортостана**. - 2012. - Т. 7. - № S5. - С. 72-74.
2. Красюк, Е.В. Изучение монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств**. - 2013. - № 2. - С. 41-43.
3. Красюк, Е.В. Динамика накопления эфирного масла в видах монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан, в зависимости от фазы вегетации растений / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Традиционная медицина**. - 2015. - № 2 (41). - С. 39-40.
4. Красюк, Е.В. Изучение параметров выделения эфирного масла из видов монарды, интродуцированной в Башкортостане / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств**. - 2015. - № 5(10). - С. 19-23.
5. Красюк, Е.В. Характеристика фенольных соединений видов монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко // **Башкирский химический журнал**. - 2015. - Т. 22. - № 3. - С. 79-83.
6. Пупыкина, К.А. Изучение некоторых эфирномасличных растений, интродуцированных в условиях Республики Башкортостан / К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко, Е.В. Красюк, А.В. Шумадалова // **Традиционная медицина**. - 2015. - № 5. - С. 114-116.
7. Оценка активности лекарственных растений флоры Башкортостана / К.А. Пупыкина, Л.А. Валеева, Н.Н. Макарова, Г.Г. Давлятова, Е.В. Красюк [и др.] // **Традиционная медицина**. - 2015. № 3 (42). - С. 41-43.
8. Красюк, Е.В. Качественный анализ и разработка методики количественного определения флавоноидов в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Медицинский вестник Башкортостана**. - 2016. - Т.11. - № 5(65). - С.73-77.
9. Анищенко, И.Е. Компонентный состав эфирных масел некоторых представителей рода MONARDA L. итродуцированных в республике Башкортостан / И.Е. Анищенко, К.А. Пупыкина, Е.В. Красюк, О.Ю. Жигунов// **Известия Уфимского научного центра РАН**. 2017, №3. С.71-76.
10. Красюк, Е.В. Исследование антимикробной активности растений рода Монарда, интродуцируемых в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, А.Д. Красюк // **Вестник Башкирского государственного университета**. – 2019. - №6. – С. 120-123.
11. Красюк, Е.В. Изучение и выбор оптимальных условий получения эфирного масла из различных видов монарды / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е.Анищенко // «Вопросы теоретической и практической медицины»: Матер. 77-й Российской научной конференции студентов и молодых ученых. - Т.1. - Уфа: Изд-во ГОУ ВПО БГМУ, 2012. - С. 311 – 312.
12. Красюк, Е.В. Изучение элементного состава различных видов монарды, культивируемой в Республике Башкортостан/ Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е.Анищенко // «Актуальные вопросы медицинской науки»: Матер. Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием - Ярославль, 2012. –С. 331-332.
13. Красюк, Е.В. Изучение аминокислотного состава монарды, культивируемой в Республике Башкортостан /Е. В. Красюк, К.А. Пупыкина, И.Е. Анищенко // «Актуальные вопросы современной медицины»: Всероссийская Байкальская научно-практическая конфер. молодых ученых и студентов с международным участием - Иркутск, 2012. – С. 224.
14. Красюк, Е.В. Сравнительный анализ макроскопических признаков растений рода Монарда, культивируемых в Республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А. Пупыкина // «Вестник БГМУ»: Матер. Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Сетевое издание, №2 (приложение). -2012. – С. 56 – 60.
15. Красюк, Е.В. Изучение антиоксидантной активности растений рода Монарда, культивируемых в Республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Вестник БГМУ: Матер. 78-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием**. - Сетевое издание, №1 (прилож.) – Уфа, 2013. - С.1659-1662.
16. Красюк, Е.В. Изучение химического состава монарды, культивируемой в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // **Лекарственные растения: фундаментальные и**

прикладные проблемы материалы I Международной научной конференции, 21 мая 2013 г. - Новосибирск, 2013. - С. 183-184.

17. Красюк, Е.В. Определение содержания экстрактивных веществ в различных видах монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина // Научно-практический журнал «Молодежный инновационный вестник»: Матер. IX Всероссийской Бурденковской студенческой научной конференции // - Том II, №1. - Воронеж, 2013. - С. 193.

18. Особенности накопления биологически активных веществ в некоторых лекарственных растениях из флоры Башкортостана / А.Р. Казеева, Е.В. Красюк, А.В. Шумадалова, С.Р. Шамсутдинова [и др.] // «Вестник Башкирского государственного медицинского университета»: Сборник материалов 79-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых. - Сетевое издание, №3 (приложение). - Уфа, 2014. - С. 1746 - 1749.

19. Изучение некоторых дикорастущих и культивируемых растений из флоры Башкортостана/ К.А. Пупыкина, Г.Г. Шайдуллина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк [и др.] // Гаммермановские чтения - 2014»: Сборник научных трудов научно-методической конференции - Санкт-Петербург, 2014. - С. 92 - 95.

20. Пупыкина, К.А. Исследование некоторых представителей семейства губоцветных из флоры Башкортостана на содержание эфирных масел / К.А. Пупыкина, Анищенко И.Е., Е.В. Красюк, А.В. Шумадалова // «Лекарственные растения: биоразнообразие, технологии, применение: Сборник научных статей I Международной научно-практической конференции - Гродно: ПГАУ, 2014. - С. 172-174.

21. Красюк, Е.В. Определение содержания аскорбиновой кислоты в видах монарды, культивируемых в Республике Башкортостан / Е. В. Красюк, К.А Пупыкина // «Современные аспекты медицины и фармации - 2014»: Матер. 74-й Всеукраинской научно-практической конференции с международным участием - Запорожье, 2014. - С. 178-179.

22. Красюк, Е.В. Исследование эфирного масла видов монарды, культивируемых в Башкортостане /Е. В. Красюк, К.А Пупыкина, И.Е. Анищенко // «Сеченовский вестник» // «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине»: Матер. II-й научно-практической конференции. - №1(15). - Москва, 2014. - С. 128-129.

23. Результаты фитохимического изучения некоторых дикорастущих и интродуцированных в условиях Республики Башкортостан растений / К.А. Пупыкина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк [и др.] // «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям»: Матер. III международной научно-практической интернет конференции - Полтава, 2014. - С. 139-140.

24. Исследование противовоспалительной активности некоторых растений дикорастущих и интродуцированных в Башкортостане / К.А. Пупыкина, Л.А. Валеева, Н.Н. Макарова, Е.В. Красюк [и др.] // «Вестник ЮКГФА»: Сборник трудов Международной научно-практической конференции "Фармацевтическое образование, наука и производство - ориентир на стратегию "Казахстан-2020" - 2014. - №3 (68), Том IV. - С. 99-102.

25. Пупыкина, К.А. К вопросу изучения химического состава некоторых лекарственных растений из флоры Башкортостана // К.А. Пупыкина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк, С.Р. Шамсутдинова //«Вестник ЮКГФА»: Сборник трудов Международной научно-практической конференции "Фармацевтическое образование, наука и производство - ориентир на стратегию "Казахстан-2020" - Республика Казахстан, 2014. - №3 (68), Том IV. - С. 102-105.

26. Пупыкина, К.А. Анализ лекарственных растений из флоры Башкортостана на содержание биологически активных веществ / К.А. Пупыкина, А.Р. Казеева, Е.В. Красюк, С.Р. Шамсутдинова // Вестник БГМУ (сетевое издание) - №6, 2014. - С.66-69.

27. Красюк, Е.В. Определение полисахаридов в различных видах монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан / Е.В. Красюк, К.А Пупыкина // «Актуальные проблемы современной медицины и фармации - 2015»: Сборник тезисов докладов 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. - Минск, 2015. - С.1648.

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

Патенты:

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