

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ**

Фармацевтичний факультет
Кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри _____
проф. Марчишин С.М.
«__» _____ 2021 р.

УДК 615.014.07:582.943

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА
на тему:
ФАРМАКОГНОСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ВИДІВ
РОДУ МОНАРДА (*MONARDA L.*)

Виконала студентка 5 курсу
денної форми навчання
спеціальності 226 "Фармація"

_____ Гвоздик Наталія Василівна

Науковий керівник:

канд. біол. наук, доцент _____

Шанайда М.І.

ТЕРНОПІЛЬ 2021

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	3
ВСТУП	4
Розділ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ФАРМАКОГНОСТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ВИДІВ РОДУ МОНАРДА ТА ІНШИХ ТИМОЛВМІСНИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИНИ ГЛУХОКРОПИВОВІ (Огляд літератури)	7
1.1. Ботанічний опис та поширення видів роду Монарда (<i>Monarda</i> L.)	12
1.1.1 <i>Monarda fistulosa</i> L.	12
1.1.2 <i>Monarda didyma</i> L.	13
1.1.3 <i>Monarda citriodora</i> Cerv. ex Lag.	14
1.1.4 <i>Monarda punctata</i> L.	15
1.1.5 <i>Monarda bradburiana</i> Beck	16
1.2 Хімічний склад і біологічна активність видів роду Монарда	20
Розділ 2 ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	20
Розділ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	27
3.1 Скринінгові дослідження БАР вторинного синтезу	27
3.2 Аналіз якісного складу та вмісту терпеноїдів	28
3.2.1 Отримання і ГХ/МС аналіз ефірних олій трьох видів	28
3.2.2 ТШХ-аналіз терпенових сполук монарди лимонної	36
3.3 Аналіз якісного складу та вмісту фенольних сполук трави монарди лимонної	37
3.4 Морфолого-анатомічний аналіз трави монарди лимонної	45
3.5 Дослідження антимікробної активності ефірних олій в умовах <i>in vitro</i>	48
ВИСНОВКИ	52
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	53
ДОДАТКИ	

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- БАР – біологічно активні речовини;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ГКЕ – галової кислоти еквівалент;
ГКК – гідроксикоричні кислоти;
ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДФУ – Державна Фармакопея України;
ЛПРП – лікарський препарат рослинного походження;
СЗ – стандартний зразок речовини;
ТНМУ – Тернопільський національний медичний університет
ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
ТШХ – тонкошарова хроматографія;
R_f – коефіцієнт утримання у ТШХ.

ВСТУП

В останні роки на фармацевтичному ринку збільшується попит на лікарські препарати рослинного походження (ЛПРП), що можна пояснити їхньою ефективністю, безпечністю та економічною доступністю. Для визначення перспективи використання сировини неофіціальних видів рослин у виробництві ЛПРП необхідно здійснити її комплексне фітохімічне дослідження, взявши до уваги, насамперед, результати аналізу вмісту сполук вторинного синтезу [44, 53], які виявляють різноманітні види біологічної активності – від антимікробної, протизапальної до можливості використання у профілактиці і лікуванні таких хронічних дегенеративних захворювань як діабет, рак, хвороба Альцгеймера тощо [53].

Для ЛПРП є характерним широкий спектр терапевтично активних компонентів, добра переносимість пацієнтами, незначна кількість побічних ефектів, що дає змогу застосовувати їх впродовж тривалого часу, що є важливим в лікуванні хронічних захворювань.

Не дивлячись на значне видове розмаїття флори України, ресурси лікарської рослинної сировини не є безмежними. Культивування розглядається як перспективна стратегія збереження природних ресурсів і як надійний спосіб виробництва достатньої кількості фітопрепаратів на основі видів із належною сировинною базою [17,19].

Одним з важливих напрямків наукових досліджень є пошук і виявлення нових видів ефіроолійних рослин як джерел цінних біологічно активних речовин (БАР) та створення на їх основі ЛПРП для застосування у лікувально-профілактичних цілях [19]. У даний час ведеться широкий спектр досліджень, що зачіпають різні аспекти фітохімічного та фармакологічного вивчення пряно-ароматичних рослин.

Види родини Глухокропівові займали вагому нішу в арсеналі ефіроолійних рослин офіційної медицини. В аптеках України наявні сировина чи препарати на основі декількох видів родини, а саме: лаванди колоскової,

меліси лікарської, материнки звичайної, м'яти перцевої, шавлії лікарської, чебреців звичайного і повзучого, собачої кропиви, чаберу садового та ін. Актуальним напрямом фармакогностичних досліджень є виявлення та дослідження нових перспективних видів ефіроолійних рослин з числа неофіціальних – з метою розробки нових вітчизняних ЛПРП.

Рід Монарда (*Monarda* L., підродина *Nepetoideae* Burnett., родина *Lamiaceae* Martinov) охоплює більше 20 видів та підвидів ефіроолійних рослин [68], які походять із Північної Америки [4]. Індіанці відносили їх до категорії найбільш цінних "священних рослин", які застосовували у лікуванні застуди, для промивання ран тощо. В останні роки окремі види цього роду (*M. fistulosa* L., *M. didyma* L., *M. citriodora* Cerv. ex Lag., *M. punctata* L. тощо) поступово поширюються на європейському континенті – переважно як пряно-смакові і декоративні рослини. Науковці відмічають, що їхня сировина має значний лікувальний потенціал [4, 26]. Види цього роду в Україні та інших країнах Європи належать до неофіціальних [8, 25, 49]. Зокрема, на фармацевтичному ринку України немає жодного фітозасобу на основі їхньої сировини [9]. Науковцями встановлено, що рослини роду Монарда містять потужний комплекс БАР з бактерицидною, противірусною, протигрибковою, антибіотичною, антигельмінтною активністю, проявляють імуномодулюючу, протизапальну, седативну дію, відновлюють порушені окислювально-відновні процеси в організмі, стимулюють регенерацію пошкоджених ділянок шкіри і слизових оболонок [4, 11, 26].

У зв'язку з цим, актуальним є фармакогностичне дослідження видів роду Монарда як потенційних сировинних джерел БАР певного спрямування фармакологічної дії для подальшого отримання ЛПРП.

Дослідження виконані в рамках науково-дослідної теми кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ТНМУ «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин» (№ держреєстрації 0118U004982). Тему магістерської роботи затверджено 10.11.2020 р. (Наказ № 127).

Мета роботи: порівняльне дослідження компонентного складу і біологічної активності ефірних олій трьох видів роду Монарда (*Monarda* L.) та вивчення різних груп БАР вторинного синтезу і морфолого-анатомічних ознак сировини *M. citriodora* Cerv. ex Lag. як найбільш перспективного виду.

Для реалізації поставленої мети необхідно було виконати наступні **завдання:**

- ідентифікувати основні групи БАР вторинного синтезу у траві трьох видів роду *Monarda* – *M. fistulosa* L., *M. didyma* L. і *M. citriodora*;
- здійснити порівняльний аналіз вмісту, компонентного складу і антимікробної активності ефірних олій досліджуваних видів;
- провести хроматографічний аналіз сполук терпенової і фенольної природи у траві *M. citriodora*;
- визначити вміст різних груп фенольних сполук у траві *M. citriodora* методом спектрофотометрії;
- провести морфолого-анатомічний аналіз сировини *M. citriodora*.

Основні положення магістерської роботи оприлюднено та обговорено на 4 науково-практичних форумах різного рівня: Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2020, 2021 рр.); Міжнародній конференції "Contemporary pharmacy: issues, challenges and expectation" (23.10.2020 у., Kaunas, Lithuania); Підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 11.06.21 р.). Всього опубліковано 5 наукових праць, у тому числі 1 стаття у фаховому журналі і 4 тез доповідей.

Магістерська робота викладена на 60 сторінках машинописного тексту, містить 6 таблиць та 30 рисунків. Робота включає такі частини: вступ, огляд літератури, характеристику об'єктів і методів досліджень, експериментальну частину, загальні висновки та список використаних джерел наукової літератури (всього 76 посилань).

Розділ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ФАРМАКОГНОСТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ВИДІВ РОДУ МОНАРДА ТА ІНШИХ ТИМОЛВМІСНИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИНИ ГЛУХОКРОПИВОВІ (Огляд літератури)

Значення ефіроолійних лікарських рослин як потенційних джерел цінних БАР постійно зростає [4, 17, 36]. Пошук, вивчення та використання нових видів рослин світової флори сприяє збагаченню флори України культивованими видами та надає можливість отримати нові сорти, хемотипи, що надалі відкриє перспективу їх всебічного вивчення для розширення асортименту ЛПРП.

Представники роду *Monarda* родини *Lamiaceae* мають приємний аромат і м'яку терапевтичну дію, тому в деяких країнах використовуються як харчові та лікарські рослини [4, 17, 48]. З лікувальною метою найчастіше заготовляють всю надземну частину рослин – траву, рідше листки, квітки чи самі пелюстки квіток; підземні органи застосовують зрідка. Види цього роду належать до підродини *Nepetoideae*, яка є найбільшою в родині *Lamiaceae* [68].

До підродини *Nepetoideae* входять ряд таксонів (*Satureja*, *Monarda*, *Origanum*, *Thymus*), у сировині яких накопичується ефірна олія з домінуванням таких ароматичних компонентів як тимол, карвакрол, цимен [64, 66, 67], у зв'язку з чим декілька офіційних видів знайшли застосування на фармацевтичному ринку України у складі антисептичних, антимікробних, протизапальних, відхаркувальних засобів (табл. 1.1.). Тимол, як один із основних компонентів ефірної олії трави більшості із цих видів, є відомим антисептиком та входить у склад десятків лікарських засобів різної спрямованості фармакологічної дії [9].

В аптечній мережі реалізують також ефірні олії материнки, чебреців, які не є лікарськими засобами.

Таблиця 1.1.

**Приклади фітопрепаратів, наявних на фармацевтичному ринку України,
із сировини тимол-вмісних представників родів *Origanum*, *Thymus* та
Satureja родини *Lamiaceae* [9]**

Зображення аптечної упаковки	Назва, лікарська форма і склад препарату
1	2
	<p>МАТЕРИНКИ ТРАВА (<i>Origanum vulgare herba</i>)</p> <p>Фармакотерапевтична група: препарати, які застосовуються при застудних захворюваннях, кашлі. Відхаркувальні засоби. Код АТС R05CA.</p>
	<p>ЧЕБРЕЦЮ ТРАВА (<i>Thymus serpylli herba</i>)</p> <p>Фармакотерапевтична група: відхаркувальні засоби. Код АТС R05CA.</p>
	<p>ГРУДНИЙ ЗБІР № 1 Лікарська форма: збір.</p> <p>Фармакотерапевтична група: засоби, які застосовуються при кашлі, застудних захворюваннях. Код АТС R05C A10. Склад: 1 г збору містить: мати-й- мачухи листя 400 мг, алтеї коренів 400 мг, <u>материнки трави 200 мг.</u></p>

1	2
	<p>ПЕРТУСИН (сироп) Фармакотерапевтична група: препарати від кашлю і застуди. Код АТС R05C A10.</p> <p>Склад: 10 мл препарату містять: <u>екстракту трави чебрецю рідкого (1:2)</u> - 1,2 г; екстрагент: етанол 30%); калію броміду - 0,1 г</p>
	<p>БРОНХОФІТ Лікарська форма: збір.</p> <p>Фармакотерапевтична група: відхаркувальні засоби; препарати, що застосовуються при кашлі і застудних захворюваннях. Код АТС R05C A.</p> <p>Склад: 1 упаковка (50г) містить суміш: айру коренів 4,5г, алтеї коренів 4,5г, липи квіток 4,5г, нагідок квіток 4,5г, солодки коренів 4,5г, шавлії лікарської листя 4,5г, бузини квіток 4г, кропиви листя 4г, м'яти перцевої листя 4г, <u>чебрецю повзучого трави 4г</u>, оману корені 3,5г, ромашки квіток 3,5г.</p>
	<p>УРОЛЕСАН (випускається у вигляді сиропу, крапель оральних, капсул)</p> <p>Фармакотерапевтична група: засоби, які застосовуються в урології. Код АТС G04B X.</p> <p>Склад: 1 капсула містить густого екстракту Уролесану отриманого з екстрактів рідких з моркви дикої плодів (1:1), хмелю шишок (1:1), <u>материнки трави (1:1)</u> у співвідношенні 1/1,4/1, екстрагент – етанол 96 % об./об., олія ялиці сибірської – 25,50 мг</p>

1	2
	<p align="center">БРОНХИПРЕТ® (сироп, таблетки)</p> <p>Фармакотерапевтична група: засоби, які застосовуються при кашлі і застудних захворюваннях. Код АТС R05X.</p> <p>Входить: <u>екстракт чебрецю трави (Herba Thymi) рідкий</u> та ін.</p>
	<p align="center">БРОНХОСТОП® (сироп, пастилки)</p> <p>Фармакотерапевтична група: засоби, що застосовуються при кашлі, застудних захворюваннях. Код АТС R05C A10.</p> <p>Містить: <u>0,12 г тим'яну трави екстракту сухого (7-13:1)</u> та ін.</p>
	<p align="center">БРОНХОСОЛ (сироп)</p> <p>Фармакотерапевтична група: відхаркувальні засоби. Код АТС R05C A10.</p> <p>Склад: 100 мл сиропу містять (3 : 1) густого складного екстракту із суміші <u>сировини трави чебрецю, коренів первоцвіту (7,6/1) 4,360 г і тимолу 19,8мг</u></p>
	<p align="center">МАРАСЛАВІН (розчин гінгівальний)</p> <p>Фармакотерапевтична група: засоби для місцевого застосування у стоматології. Код АТС A01A D11.</p> <p>Склад: 100 мл розчину містить: відвар з трави полину понтійського 4,196г, <u>трави чаберу 0,728 г, бутонів гвоздичного дерева 3,646 г, кореневища імбиру 4,196г, плодів чорного перцю 1,199 г</u></p>

Серед десятків видів родини *Lamiaceae*, проаналізованих науковцями, ефірні олії представників роду *Thymus* найбільш потужно пригнічували патогенні мікроорганізми, відповідно до переважання ароматичних компонентів у їхньому складі [54]. Ефірна олія *Thymus vulgaris*, у складі якої превалював тимол (61,9 %), виявила значний пригнічуючий ефект на стійкі до антибіотиків штами *Staphylococcus aureus* [32]. Ефірна олія *T. vulgaris*, у якій домінував тимол, і *Origanum vulgare*, у якій основним компонентом був карвакрол, виявили значний антимікробний ефект по відношенню до уропатогенних штамів *Escherichia coli* (для аналізу було взято 79 різних ефірних олій) [56]. Ефірна олія *Thymus tauricus* флори України характеризувалась домінуванням таких фенольних сполук як тимол (39,72%) і *n*-цимол (19,68%) [27].

Попри багатовікове використання видів роду Монарда у народній медицині Північної Америки й наявності спорадичних експериментальних даних стосовно їхнього хімічного складу і біологічної активності, види цього роду до сьогодні залишаються неофіційними. Зокрема, всього 61 оригінальна стаття була виявлена в авторитетній міжнародній базі даних наукових статей медико-біологічного спрямування PubMed [27] станом на 20 березня 2021 р. після введення для пошуку слова '*Monarda*'. Для порівняння, пошук родових назв офіційних видів родини виявив на порядки більшу кількість публікацій: '*Mentha*' – 2506, '*Origanum*' – 1437 тощо.

Рослини роду Монарда на території України належить до маловідомих. Зокрема, до відомого енциклопедичного довідника «Лікарські рослини» за редакцією А. Гродзинського [15], який був опублікований наприкінці ХХ століття, жоден із видів цього роду не увійшов. Так само за даними «Определителя растений Украины» [20], наприкінці ХХ століття жоден із видів роду не був поширений на території України.

Немає згадок про ці рослини й у національному підручнику з "Фармакогнозії", який був виданий декілька років тому [25]. Разом із тим, в умовах ботанічних садів і дослідних станцій успішно виводять нові сорти,

хемотипи і форми монард [24, 64], які викликають значний інтерес як із фітохімічної точки зору, так і в плані біологічної активності.

1.1 Ботанічний опис та поширення видів

Назва роду "*Monarda*" походить від імені іспанського лікаря і ботаніка Ніколаса Монардеса, який описав багато цінних видів рослин північноамериканського континенту у книзі "Радісні звістки з Нового Світу" у 16 столітті. Через майже два століття у класичних працях шведського ботаніка-систематика Карла Ліннея цей рід рослин було названо в честь Н. Монардеса. Листки і квітки різних видів монард використовувались корінним населенням Америки як антисептичні та ранозагоювальні засоби, у лікуванні захворювань дихальних шляхів, від головного болю тощо [4, 26]. Європейські поселенці заварювали з листків і квіток монард чай під назвою 'Oswego', який застосовували при болях в шлунку, як жарознижуючий засіб тощо.

Рід Монарда включає переважно багаторічні, рідше однорічні трав'янисті рослини з прямостоячими розгалуженими чотиригранними стеблами [63]. Листки прості, цілісні, навхрест-супротивні. Квітки різних кольорів і відтінків, з двогубим віночком, зібрані у напівкільця, що утворюють головчасті суцвіття. Цвіте у літні місяці. Плід — чотиригорішок (ценобій). Монарди добре ростуть і на освітлених місцях, і в затінку. Розмножують їх переважно поділом куща, оскільки при насінневому розмноженні можливе перезапилення і утворення гібридів [24, 26].

В Україні у ботанічних садах та на присадибних ділянках найбільш поширеними є три види: монарда трубчаста, м. двійчаста та м. лимонна, рідше культивують м. хаотичну і м. плямисту [24].

1.1.1 Монарда трубчаста або дикий бергамот (*Monarda fistulosa* L.). Багаторічник до 120 см заввишки (рис. 1.1). Стебло рослини прямостояче, розгалужене, порожнисте всередині. Листки цілісні, супротивні, 7-9 см довжиною з яйцевидною листковою пластинкою, широко закруглені біля

основи, по краю пилчасті, верхівка загострена. Черешок приблизно вдвічі довший від ширини листкової пластинки.



Рис. 1.1. Зовнішній вигляд рослин та суцвіття *Monarda fistulosa*

Стебла, листки і квіти мають м'яке опушення короткими волосками [4, 24]. Квітки монарди трубчастої бузково-рожеві, дрібні, оцвітина подвійна, з п'ятизубчастою чашечкою і яскравим двогубим віночком. Квітки зібрані в несправжні мутовки, які утворюють компакту кулясту верхівкову голівку до 5 см у діаметрі. Приквіткові листки, які прилягають до чашечки, вузьколанцетні. Нижня губа віночка квіток широка, верхня – вузька. Андроцей складається з двох розвинених тичинок, пиляки яких виступають над верхньою губою віночка, і двох недорозвинених стаміноїдів. Гінецей ценокарпний, двоплодолистковий. Плід сухий, при дозріванні розтріскується на 4 дрібні овальні бурі горішки [76].

1.1.2 Монарда двійчаста (*Monarda didyma* L.). Багаторічна трав'яниста рослина до 100 см заввишки з видовженим горизонтальним кореневищем (рис. 1.2). Стебла прямостоячі, 4-гранні. Листки ланцетні, супротивні, до 12 см завдовжки, світло-зелені. Квітки рожево-пурпурові, у головчастих суцвіттях до

6 см у діаметрі. Приквітники крупні, часто яскраво забарвлені. Культивується, починаючи із 17 століття. Найчастіше культивують такі сорти монарди двійчастої як "Сансет" з пурпуровими квітками та "Роуз Квін" з рожевими квітками [4, 76].



Рис. 1.2. Зовнішній вигляд рослин і окремого суцвіття *Monarda didyma*

1.1.3 Монарда лимонна (*Monarda citriodora* Cerv. ex Lag.). Однорічна трав'яниста рослина до 80 см заввишки (рис. 1.3). Листки ланцетної форми (вужчі, ніж в інших видів монард), злегка опушені, сріблясто-сірі. Суцвіття складаються з 5-7 вертикально розміщених одна над одною зближених головчастих мутовок до 4 см в діаметрі, які утворені дрібними бузково-ліловими квітками.

Усі частини рослини мають сильний приємний, злегка пряний лимонний аромат, подібний до меліси та базиліків [4, 76].



Рис. 1.3 Зовнішній вигляд пагонів і суцвіття *Monarda citriodora*

1.1.4 Монарда плямиста або кінська м'ята (*Monarda punctata* L.).

Багаторічна морозостійка рослина висотою 30-90 см (рис. 1.4). Листки вузькі, ланцетні. Суцвіття оточують яскраві листки фіолетово-салатового кольору, які сильно виступають за межі суцвіть. Квітки бурувато-жовті, з темними бузковими цяточками, зібрані вздовж стебла у 5-8 щільних напівкілець [76].



Рис. 1.4. Зовнішній вигляд пагонів і суцвіття *Monarda punctata*

1.1.5 Монарда хаотична або східний бджолиний бальзам (*Monarda bradburiana* L.). Трав'янистий багаторічник, що виростає до 60 см заввишки (рис. 1.5). Стебла слабо розгалужені, зазвичай з фіолетовим відтінком, неопушені (або опушені по гранях). Листки до 9 см завдовжки, яйцеподібні або широколанцетної форми, із зубчастими краями. Квіткові голівки верхівкові, близько 4 см у діаметрі. Квітки рожево-білі, з фіолетовими цятками на віночку [76].



Рис. 1.5. Зовнішній вигляд пагонів та суцвіття *Monarda bradburiana*

1.2 Хімічний склад і біологічна активність видів роду Монарда

Монарди відносять до перспективних видів ефіроолійних рослин, оскільки їхні ефірні олії мають сильну бактерицидну дію широкого спектру (мікроорганізми, гриби, мікоплазми), а також антигельмінтну, імуномодулюючу, антиоксидантну, антисклеротичну, спазмолітичну, радіопротекторну, антистресову, антианемічну, антиканцерогенну тощо [4, 26].

Ефірні олії, які є багатокомпонентними сумішами десятків чи сотень летких компонентів, серед яких переважають похідні ізопрену, є важливою групою БАР видів роду Монарда, як і всієї підродини Котовникові [36]. У

наукових першоджерелах активно обговорюється перспектива використання ефірних олій як антимікробних засобів через значне розповсюдження проблеми антибіотикорезистентності патогенних мікроорганізмів [2, 32, 54]. Ефірні олії монард мають також репелентні властивості [35]. У надземних органах видів роду *Monarda* може накопичуватись до 3 % ефірних олій, у складі яких переважають тимол, карвакрол (рис. 1.6) та інші ароматичні компоненти з доведеною терапевтичною активністю [13, 36, 38, 57].

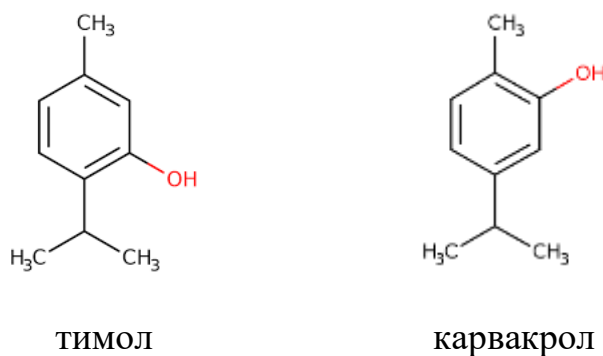


Рис. 1.6. Структурні формули тимолу і карвакролу

Таким чином, в ефірних оліях видів роду *Monarda* домінують ароматичні компоненти, які мають високий антисептичний та антиоксидантний потенціал. Для ефірних олій, отриманих із сировини перспективних видів, актуальним є вивчення антимікробної дії в умовах *in vitro*.

Як відомо, тимолвмісні ефіроолійні рослини родини *Lamiaceae* викликають інтерес з точки зору використання у складі відхаркувальних, антисептичних фітозасобів, зубних ополіскувачів тощо [10, 17, 33]. Виявлено значну антимікробну активність ліпосомованих екстрактів деяких ефіроолійних рослин родини для обробки повітря всередині приміщень [21].

Монарди, як і інші представники родини *Lamiaceae*, можуть накопичувати тритерпеноїди – переважно похідні урсану та олеанану, які виявляють антиоксидантні, протизапальні, гепатопротекторні, сечогінні, протиракові, противірусні та антимікробні властивості [70]. Компонентний склад тритерпенових сполук у рослинній сировині представників родини вивчають різними хроматографічними методами – ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ.

У надземних органах видів роду Монарда, як і інших видів Глухокропивових, може накопичуватись декілька підкласів фенольних сполук – дубильних речовин, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів тощо. Доведено, що поліфеноли, за наявності трьох і більше гідроксильних груп у молекулі, здатні виявляти істотну антиоксидантну, протизапальну, в'язучу дію [33, 34, 50, 71].

Накопичення значного вмісту гідроксикоричної розмаринової кислоти у надземних органах різних представників підродини *Nepetoideae* висвітлено у наукових працях Л. В. Вронської [3], D. Benedec та співавт. [34], M. Shanaida та співавт. [43]. Лікувально-профілактичні властивості поліфенолів, в основному, пов'язані з їхніми антиоксидантними властивостями, що має важливе значення у лікуванні запальних процесів, болю тощо [47]. В експериментах *in vitro* та *in vivo* встановлено значні антирадикальні, протизапальні, антивірусні, антимікробні, імуномодулюючі, седативні властивості розмаринової кислоти [51, 65].

Актуальним можна вважати також вивчення поліфенольного комплексу надземної частини видів роду Монарда. Численні дослідження видів цього роду та інших представників підродини *Nepetoideae* родини *Lamiaceae* продемонстрували, що розмаринова кислота є їхньою домінуючою поліфенольною сполукою [33, 34, 43]. Benedec D. та співавт. [34] встановили, що трава *Origanum vulgare* накопичує 1,24% розмаринової кислоти. Розмаринова кислота була основним поліфенольним компонентом водного та метанольного витягів трави *M. fistulosa*, заготовленої в Україні [43]. Сумарний вміст флавоноїдів, визначений спектрофотометрично у перерахунку на лютеолін, у траві видів роду Монарда, які культивували у Башкортостані (Росія) знижувався у напрямі: *M. didyma* (1,63%) > *M. citriodora* (1,61%) > *M. fistulosa* (1,57%) > *M. hybrida* Wender. (1,52%) > *M. russelliana* Nutt. (0,91%) [14].

На основі узагальнення даних наукових першоджерел встановлено, що найбільш вивченими з фітохімічної точки зору та стосовно біологічних властивостей є два види роду *Monarda* – *M. didyma* та *M. fistulosa* [4, 26]. Так,

Fraternale D. та співавт. [38] встановили, що *M. didyma* та *M. fistulosa* при культивуванні в Італії істотно відрізнялись за вмістом тимолу (62 % і 31%, відповідно). В ефірній олії *M. fistulosa*, вирощеній на ділянках Нікітського ботанічного саду, встановлено переважання *n*-цимену (28,12 %) і тимолу (21,8%) [13]. Основним складником ефірної олії квіток (49,29 %) та листків (49,02 %) *M. fistulosa*, заготовлених у США, був карвакрол [66]. У Белгородському університеті розроблено ректальні супозиторії «Монавітола» з ефірною олією *M. fistulosa* і β -каротином для лікування і профілактики проктологічних захворювань [11]. Сухий екстракт *M. fistulosa*, отриманий на основі післядистиляційного витягу її трави, виявив значну антиоксидантну, протизапальну та анальгетичну дію [63].

Виявлено значну обмеженість фітохімічного вивчення *M. citriodora*. Зокрема, всього 7 оригінальних статей було виявлено в міжнародній базі даних наукових публікацій PubMed [63] станом на 20.03.2021 р. після введення для пошуку слів '*Monarda citriodora*'. З них лише три публікації стосувались аналізу ефірної олії цього виду [55, 60], тоді як в інших було наведено результати досліджень особливостей її культивування, грибкових ендوفітів тощо. Значної уваги заслуговують, насамперед, вторинні метаболіти *M. citriodora* – зокрема, ефірна олія рослини – як з точки зору визначення її компонентного складу залежно від фази вегетації, так і встановлення хемотипових особливостей та антимікробної дії у порівнянні з іншими видами – *M. didyma* та *M. fistulosa*.

Таким чином, порівняльне фармакогностичне вивчення перспективних видів роду Монарда можна вважати актуальним завданням фармацевтичної науки і практики. Оскільки в сучасних умовах науковці селекціонують їх численні нові сорти і форми, це викликає значний інтерес з фітохімічної та фармакологічної точок зору.

Розділ 2

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єкти досліджень: види роду Монарда – *Monarda citriodora*, *Monarda didyma* (сорт "Скарлет") та *Monarda fistulosa* (сорт "Фортуна"). Як сировину заготовляли надземну частину рослин, зібрану у 2019-2020 рр. у період цвітіння. Заготівлю проведено на дослідних ділянках сектору мобілізації та збереження рослинних ресурсів Інституту рису НААН (сmt. Плодове, Херсонська обл.) за участі с.н.с., канд. біол. наук Свиденко Л.В. (рис. 2.1), яка забезпечила відповідну ідентифікацію видів і сортів монард [18]. Траву *M. citriodora* заготовляли у дві різні фази вегетації: початку цвітіння та масового цвітіння.

Траву рослин зрізали на рівні нижніх листків, після чого видаляли засохлі або побурілі частини і розкладали тонким шаром на стелажах у добре провітрюваному приміщенні та висушували за температури 25–35 °С. Подрібнення сировини для проведення досліджень здійснювали механічно вручну. Подрібнену траву просіювали крізь сита з отворами певного діаметру, як це зазначено у відповідних методиках досліджень (рис. 2.1, а).



а



б

Рис. 2.1. Етапи підготовки сировини монард до фітохімічного аналізу:

а) просіювання крізь сита; б) квартування проб

Відбір проб сировини для фармакогностичного аналізу виконували відповідно до вимог пункту 2.8.20 ДФУ [7]; для отримання середньої проби сировини використовували метод квартування (рис. 2.1, б).

Макроскопічний аналіз трави монарди лимонної здійснювали неозброєним оком та із використанням лупи із збільшенням 4× та 8×. Для встановлення діагностичних морфологічних ознак цілісної сировини аналізували зовнішній вигляд, розміри, а також органолептичні показники (колір, запах, смак) згідно загальноприйнятих методик.

Мікроскопічний аналіз трави монарди лимонної здійснювали для цілісної (згідно [29]) та подрібненої і просіяної крізь сито (355) сировини відповідно до вимог пункту 2.8.23 ДФУ [7] (рис. 2.2). Для проведення гістохімічних реакцій на лігнін застосовували розчин сірчанокислого аніліну. Використовували мікроскоп із збільшеннями 28–400 разів.



Рис. 2.2. Отримання порошку сировини монарди лимонної для мікроскопічного аналізу.

Фітохімічні дослідження проводили із використанням висушеної до повітряно-сухого стану сировини рослин. Підготовчі етапи досліджень включали подрібнення трави та її просіювання через сито відповідного діаметру.

Далі проводили визначення вологості сировини (втрати в масі при висушуванні) відповідно до методики, вказаної у ДФУ [7]. Для цього три наважки подрібненої сировини (по 3,00 г) поміщали в попередньо висушені і зважені разом із кришкою бюкси. У нагріту до 100–105 °С сушильну шафу ставили бюкси з наважками (разом зі знятими кришками під кожним бюксом). Час висушування відраховували з того моменту, коли температура у сушильній шафі знову стане 100–105 °С.

Перше зважування бюксів проводили через 2 год. Бюкси з наважками виймали із шафи тигельними щипцями і поміщали для охолодження в ексікатор, на дні якого знаходився безводний кальцію хлорид. Охолоджені бюкси закривали кришками і зважували. Висушування проводили доти, доки різниця між двома послідовними зважуваннями після півгодинного висушування і півгодинного охолодження в ексікаторі не перевищувала 0,01 г.

Втрату в масі при висушуванні сировини (V) у відсотках обчислювали за формулою:

$$V = (m - m_1) \times 100 / m$$

де : m — маса сировини до висушування, г;

m₁ — маса сировини після висушування, г.

Визначали середнє арифметичне результатів паралельних визначень у трьох повторностях.

Вміст загальної золи визначали відповідно до вимог п. 2.4.16 ДФУ [7] з використанням муфельної печі для спалювання сировини; вміст золи, нерозчинної у 10 % розчині хлористоводневої кислоти – п. 2.8.1 ДФУ [7]. Вміст часток трави, що потемніли, визначали візуально.

Скринінгові фітохімічні дослідження з ідентифікації різних груп БАР у сировині монард здійснювали із застосуванням загальноприйнятих методик [7, 22]. Застосовування ТШХ-аналізу у якості простого й зручного методу ідентифікації домінуючих БАР [3, 43] дало змогу отримати специфічні "хроматографічні відбитки" сполук терпенової та фенольної природи у траві монарди лимонної.

Ефірну олію отримували методом гідродистиляції за фармакопейною методикою [7]. Аналіз компонентного складу ефірних олій здійснювали методом газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ/МС); хроматограф Agilent Technologies 6890. Використовували капілярну хроматографічну колонку – DB-5 (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм); швидкість подачі газу-носія гелію складала 1,2 мл/хв; програмування температури – у діапазоні 50–300 °С; загальний час хроматографування становив 35 хв. Ідентифікацію компонентів здійснювали з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007.

Для ТШХ-аналізу ефірної олії монарди лимонної застосовували хроматографічні пластини розміром 20x10 см із силікагелем F₂₅₄ (Merck, Germany). Розчинення ефірної олії проводили в метиленхлориді. Рухома фаза: толуол – етилацетат (95:5). Дериватизацію проводили розчином анісового альдегіду, після чого пластинки впродовж 5–7 хв нагрівали при 100–105 °С та відразу переглядали при денному світлі. ТШХ-аналіз терпенових сполук у 70 % етанольному витягу трави монарди лимонної у присутності СЗ урсолової кислоти і тимолу після обробки анісового альдегіду розчином здійснювали при денному світлі; рухома фаза: метиленхлорид – метанол (9:1).

Методом ТШХ виявляли гідроксикоричні кислоти (ГКК) (в УФ-діапазоні при $\lambda=366$ нм); як рухома фаза використовували етилацетат – мурашину кислоту – воду у співвідношенні 15:1:1; дериватизацію здійснювали 1 % розчином AlCl₃.

При проведенні ВЕРХ-аналізу гідроксикоричних кислот у 50% етанольному витязі трави монарди лимонної використовували хроматограф Shimadzu LC20 Prominence, оснащений діодно-матричним детектором SPDМ20А і ChemStation; колонка Phenomenex Luna C18 (250 мм × 4,6 мм), сорбент – силікагель з розміром часток 5 мкм. Здійснювали градієнтне елюювання двома розчинниками: I (0,1 % трифтороцтова кислота – у воді) та II (0,1 % трифтороцтова кислота – в ацетонітрилі). Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази 1 мл/хв; температура термостата колонки 35 °С; об'єм введеної проби – 5 мкл; діапазон детектування – 190–

400 нм. Ідентифікацію компонентів проводили за відповідністю часу утримання та УФ-спектрам СЗ сполук.

Для виявлення маркерної сполуки при визначенні вмісту суми похідних гідроксикоричних кислот у траві монарди лимонної здійснено аналіз електронних спектрів світлопоглинання отриманих водно-етанольних витягів та СЗ розмаринової кислоти до і після утворення комплексів з нітритмолібденовим реактивом (при довжині хвилі 505 ± 2 нм, методом диференційної спектрофотометрії) на спектрофотометрі Lambda-25. Проведено визначення сумарного вмісту похідних ГКК в 50 % етанольних витягах трави рослин у перерахунку на цю сполуку – на основі встановленого співпадіння максимумів світлопоглинання досліджуваних витягів та СЗ розмаринової кислоти) за методикою ДФУ [8], що наведена у монографії "Розмарину листя".

Визначення сумарного вмісту флавоноїдів у траві монарди лимонної здійснювали на спектрофотометрі Lambda-25 відповідно до методики Н.В. Красюк і О. В. Пупікіної [14], у перерахунку на лютеолін (при довжині хвилі 400 нм).

Сумарний вміст флавоноїдів у сировині, в перерахунку на лютеолін (X , %) розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 10 \cdot m_{\text{нав}} \cdot (100 - w)}$$

де: A_x – оптична густина випробуваного розчину;

m_0 – маса СЗ лютеоліну, г;

A_0 – оптична густина СЗ лютеоліну;

$m_{\text{нав}}$ – маса наважки сировини, г;

w – вміст води у сировині, %.

Вміст суми поліфенолів у водних витягах трави монарди лимонної здійснювали спектрофотометричним методом – за загальновідомою методикою Фоліна-Чокальтеу, у перерахунку на галової кислоти еквівалент

(ГКЕ) [64]. Для приготування випробуваного розчину використовували різні розведення отриманих витягів у діапазоні концентрацій 0,1–1,0 мг/мл у воді очищеній. Розведення СЗ галової кислоти у діапазоні концентрацій 0,02–0,14 мг/мл використовували як розчин порівняння. Використовували 0,1 мл розведення витягу, далі переносили його у пробірку додавали 1,5 мл води очищеної та 0,1 мл реактиву Фоліна-Чокальтеу (фосфорно-молібденово-вольфрамовий реактив). У кожену пробірку додавали 0,3 мл 20 % розчину натрію гідроксиду, отриману суміш струщували та 2 год витримували в темному місці для завершення реакції (за кімнатної температури). Оптичну густина випробуваного розчину та розчину порівняння вимірювали на спектрофотометрі (при $\lambda=760$ нм).

Для отримання сухого екстракту трави монарди лимонної витяг сировини було отримано шляхом трикратної екстракції сухої подрібненої трави на водяній бані з використанням 50 % етанолу (сумарний час екстрагування – 90 хв); його висушування здійснене за допомогою вакуумно-роторного випарника [5].

Дослідження антимікробної дії ефірних олій монард на патогенні мікроорганізми проводили в умовах *in vitro* методом «колодязів» (дифузії в агар) за стандартними методиками [30] під керівництвом доцента кафедри мікробіології, вірусології та імунології ТНМУ доц. Покришко О.В. Товщина середовища – 10 мм, діаметр «колодязя» – 6 мм. Використовували однодобові культури мікроорганізмів: *Candida albicans* ATCC 885-653, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922. Мікроорганізми вирощували на таких поживних середовищах: бактерії на м'ясо-пептонному агарі, *Candida albicans* – на агарі Сабуро.

Вносили по 0,5 мл розведеної у диметилсульфоксиді ефірної олії 3 видів рослин (концентрація 20 мг/мл) у кожен із "колодязів". Як позитивний контроль використовували внесені в аналогічному об'ємі розведення антибіотика «Гентаміцину» (розчин для ін'єкцій) та антифунгального препарату «Флуконазолу» (розчин для інфузійного введення) у концентраціях 0,05 мг/мл

у диметилсульфоксиді. Як негативний контроль використано диметилсульфоксид (без додавання розведень ефірної олії чи лікарських засобів).

Спочатку висівали у чашку Петрі, заповнену середовищем, тест-штам певного мікроорганізму. Далі лунки ("колодязі") заповнювали досліджуваними розчинами ефірних олій чи препаратами позитивного і негативного контролю у відповідному розведенні та культивували в термостаті (за температури 37 °С). Аналіз результатів проводили через добу шляхом вимірювання діаметру зони затримки росту мікроорганізмів (у мм), який включав також діаметр «колодязя».

Антимікробну активність досліджуваних ефірних олій оцінювали за наступними критеріями. Якщо зона затримки росту мікроорганізму мала діаметр понад 20 мм, то її оцінювали як «високу чутливість» мікроорганізму до внесеного у "колодязь" досліджуваного зразка ефірної олії; якщо 11–20 мм – як «чутливість»; якщо ж діаметр був до 6–10 мм, то його оцінювали як «нечутливість» мікроорганізму до внесеного у «колодязь» зразка.

Розділ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Скринінгові дослідження БАР вторинного синтезу

У результаті проведених скринінгових досліджень з ідентифікації БАР вторинного синтезу в траві трьох видів *Monarda* виявлено декілька груп фенольних і терпенових сполук (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Результати скринінгових досліджень БАР у траві видів роду *Monarda*

Група БАР	Особливості виявлення (якісні реакції)	<i>Monarda didyma</i> (сорт "Скарлет")	<i>Monarda fistulosa</i> (сорт "Фортуна")	<i>Monarda citriodora</i>
Алкалоїди	реактив Драгендорфа	–	–	–
	реактив Вагнера і Бушарда	–	–	–
Кардіостероїди	реакція Лібермана-Бурхарда	–	–	–
Ефірна олія	органолептично	+	+	+
Іридоїди	з реактивом Трим-Хілла	–	–	–
	з реактивом Штала	–	–	–
Тритерпенові сапоніни	пінна проба	+	+	+
	з розчином міді (II) сульфату	+	+	+
Дубильні речовини	з розчином желатину	+	+	+
	із розчином заліза (III) амонію сульфатом	+	+	+
Флавоноїди	з розчином натрію гідроксиду	+	+	+
	з розчином заліза (III) хлориду	+	+	+
	ціанідінова проба	+	+	+
Антраценпохідні	з розчином калію гідроксиду	–	–	–

Примітка: наявність (+) або відсутність (-) певної групи БАР

На основі аналізу результатів фітохімічного скринінгу визначено, що серед БАР вторинного синтезу у сировині монард є терпеноїди (ефірні олії, тритерпеноїди) та фенольні сполуки (водорозчинні поліфеноли, ГКК, флавоноїди), аналізу яких були присвячені подальші фітохімічні дослідження [5, 6, 28, 40].

3.2 Аналіз якісного складу та вмісту терпеноїдів

3.2.1 Отримання і ГХ/МС аналіз ефірної олії

Органолептичний аналіз показав наявність у траві всіх трьох досліджуваних видів роду Монарда летких сполук з ароматним "тимоловим" запахом, що було підтверджено на основі перегонки з водяною парою. Визначено вміст $1,61 \pm 0,05$ % ефірної олії в траві монарди двійчастої, $1,72 \pm 0,05$ % в траві монарди лимонної і $1,84 \pm 0,06$ % – у монарди трубчастої. Ефірні олії мали оранжевий колір різної насиченості.

У результаті проведеного порівняльного ГХ/МС-аналізу визначено основні компоненти ефірних олій трьох видів роду Монарда, отриманих із трави рослин у період масового цвітіння (табл. 3.2). З'ясовано, що основним компонентом ефірних олій усіх трьох видів роду Монарда був ароматичний монотерпеноїд тимол. До мажорних компонентів належали також карвакрол, *n*-тимол, ізотимолметилетер, тимолметилетер, метилкарвакрол, *n*-цимен, монотерпеноїди α -терпінеол і γ -терпінен, які містились в ефірних оліях у різних співвідношеннях (рис. 3.1–3.3). Найвищим вмістом монотерпеноїду 1,8-цинеолу (17,82 %) характеризувалась ефірна олія *M. didyma*. Найбільший вміст ациклічного монотерпеноїду ліналоолу (3,82 %) був у *M. fistulosa*.

Вміст сесквітерпеноїдів (β -каріофілен, гермакрен D) у ефірних оліях монард був порівняно невисоким. Найбільший вміст гермакрону D (2,05 %) і β -каріофілену (1,08 %) виявлено у в ефірній олії *M. didyma*.

Таблиця 3.2

**Основні компоненти ефірних олій трьох видів роду *Монарда*
(період масового цвітіння)**

Компонент	Індекс утримання	Вміст компонента в ефірній олії, %		
		<i>Monarda didyma</i> (сорт "Скарлет")	<i>Monarda fistulosa</i> (сорт "Фортуна")	<i>Monarda citriodora</i>
1-октен-3-ол	981	1,99	3,82	2,21
<i>n</i> -цимен ^x	1025	0,34	1,43	3,02
1,8-цинеол*(евкаліптол)	1032	17,82	1,05	0,12
γ -терпінен ^x	1061	0,47	1,19	1,67
<i>Цис</i> - β -терпінеол ^x	1070	2,03	1,19	–
<i>транс</i> -сабіненгідрат*	1077	–	–	2,0
ліналоол ^x	1100	0,42	3,82	0,35
терпінен-4-ол*	1180	1,18	1,44	0,73
α -терпінеол*	1192	8,26	0,32	0,14
метилкарвакрол*	1205	–	–	2,06
ізотимолметилетер*	1238	5,85	0,98	–
ізотимолметилетер *	1246	1,06	7,52	–
тимол*	1299	47,54	66,31	71,08
карвакрол*	1204	–	–	12,99
<i>n</i> -тимол*	1310	4,82	6,91	–
β -каріофілен ^x	1419	1,08	0,62	0,75
гермакрен D ^x	1484	2,05	0,07	0,11

Примітка. ^x – безкисневі похідні ізопрену, * – кисневмісні похідні ізопрену.

Загалом, у досліджуваних ефірних оліях монард кисневмісні терпеноїди переважали над безкисневими. Вуглеводні нетерпенової природи (1-октен-3-ол та інші) виявлено у мінорних кількостях, що досить позитивно характеризує ці ефірні олії.

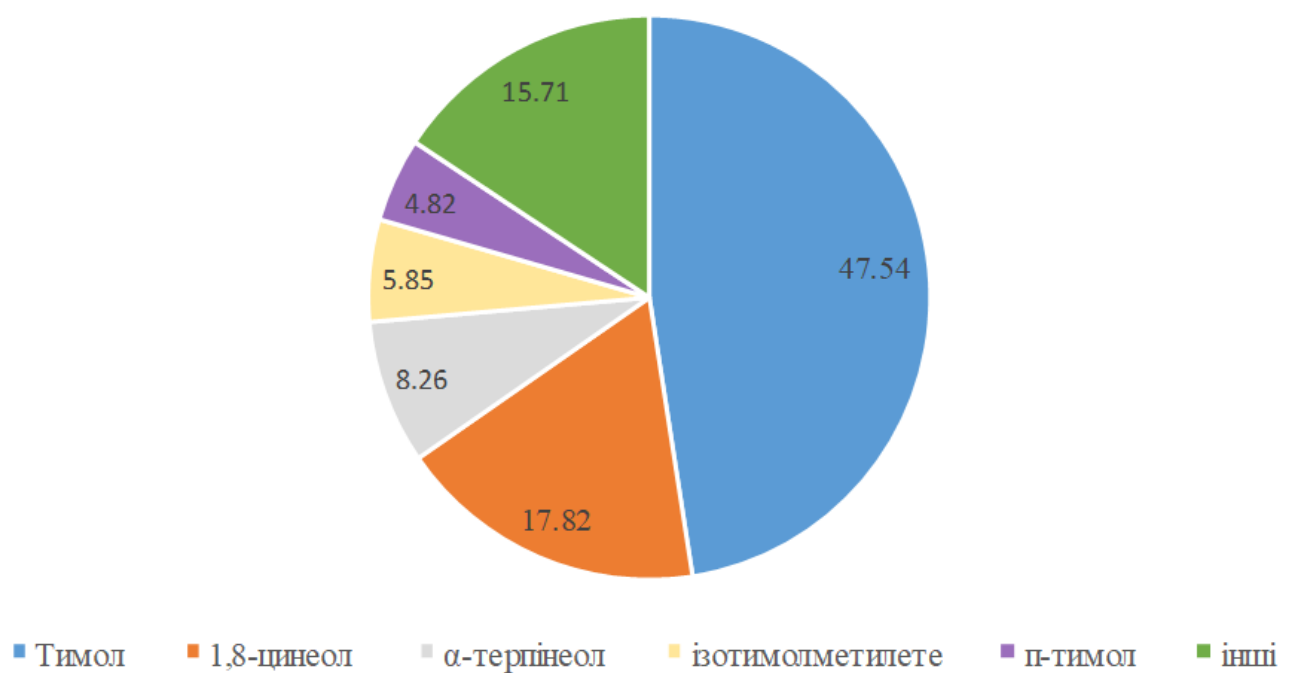


Рис. 3.1. Частка основних компонентів (%) в ефірній олії *Monarda didyma* (сорт "Скарлет")

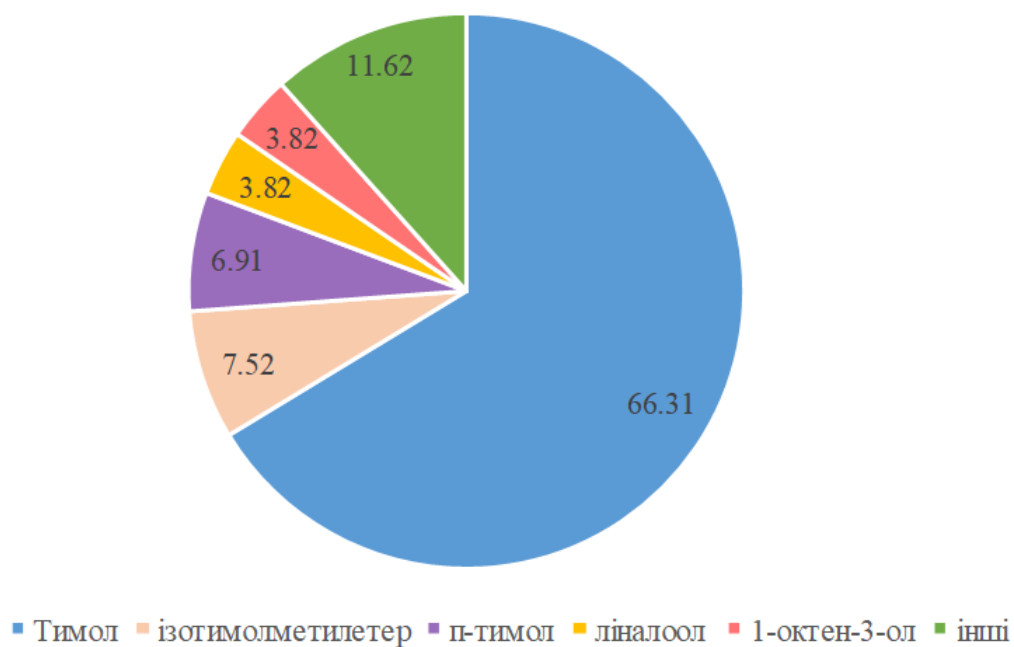


Рис. 3.2. Частка основних компонентів (%) в ефірній олії *Monarda fistulosa* (сорт "Фортуна")

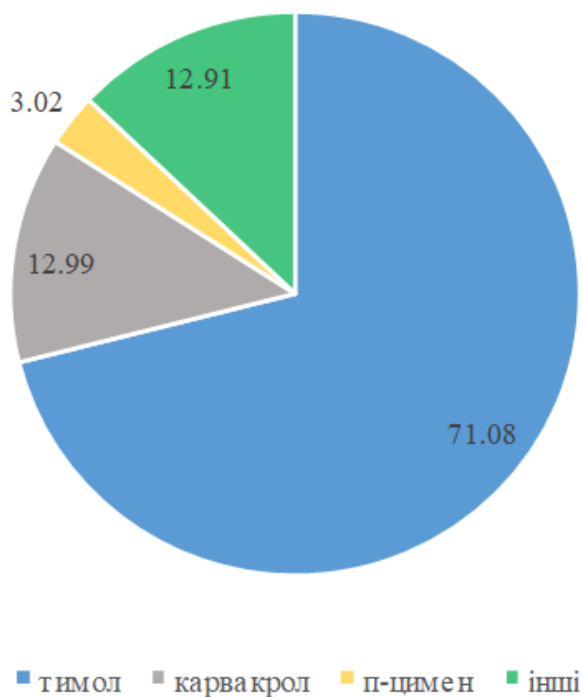


Рис. 3.3. Частка основних компонентів (%) в ефірній олії *Monarda citriodora*

Дослідниками визначено [36], що основні компоненти ефірних олій рослин надають їм унікальних фармакологічних властивостей. Ароматична природа домінуючих компонентів ефірних олій усіх трьох досліджуваних видів роду Монарда – тимолу, *n*-тимолу, карвакролу, метилкарвакролу, *n*-цимену, ізотимолметилетеру, тимолметилетеру – дає змогу припустити їхні вагомні антимікробні властивості.

Методом ГХ/МС виявлено компонентний склад ефірних олій *M. citriodora* різних фаз вегетації рослини (табл. 3.3, рис. 3.4–3.5); цей вид зацікавив нас найбільше – як перспективне джерело тимолу і карвакролу у складі ефірної олії. Накопичення компонентів ефірної олії рослин родини Глухокропівові у різні періоди онтогенезу викликає значний інтерес науковців [12].

В ефірній олії із сировини *M. citriodora*, заготовленої на початку цвітіння, ідентифіковано 28 компонентів; у фазу масового цвітіння визначено 27 сполук.

Таблиця 3.3

**Компонентний склад ефірних олій *M. citriodora*
різних фаз вегетації рослин**

Компонент	Час утримання, хв	Вміст компоненту в ефірній олії, %	
		фаза початку цвітіння	фаза масового цвітіння
α -туйєн ^x	7,38	0,142	–
1-октен-3-ол	9,10	1,782	2,208
октанон-3	9,26	0,248	0,180
мірцен ^x	9,40	1,056	0,391
октанол-3	9,66	0,184	0,114
октаналь	9,89	0,423	0,296
α -феландрен ^x	10,03	0,115	–
α -терпінен ^x	10,40	1,079	0,527
<i>n</i> -цимен ^x	10,68	4,401	3,018
лимонен ^x	10,83	0,266	0,134
1,8-цинеол*	10,97	0,118	0,123
γ -терпінен ^x	11,88	4,289	1,666
<i>транс</i> -сабіненгідрат*	12,33	1,814	2,003
ліналоол ^x	13,31	0,470	0,350
<i>цис</i> -сабіненгідрат*	13,43	0,106	0,330
борнеол*	16,07	0,108	0,234
терпінен-4-ол*	16,29	0,446	0,732
α -терпінеол*	17,01	0,148	0,135
метилкарвакрол*	18,27	5,582	2,061
тимол*	20,00	56,665	71,077
карвакрол*	20,19	18,426	12,992
ацетилтимол*	21,14	0,312	0,122
2,6-диметокси-ацетофенон	21,25	0,681	0,283
карвакрилацетат*	21,57	0,130	0,063
децилацетат	22,47	0,076	0,049
β -каріофілен ^x	22,85	0,791	0,751
гумулен ^x	23,56	0,044	–
гермакрен D ^x	24,03	0,098	0,107
аромадендрен ^x	24,31	–	0,025
δ -кадинен ^x	24,64	–	0,028

Примітка. ^x – безкисневі похідні ізопрену, * – кисневмісні похідні ізопрену.

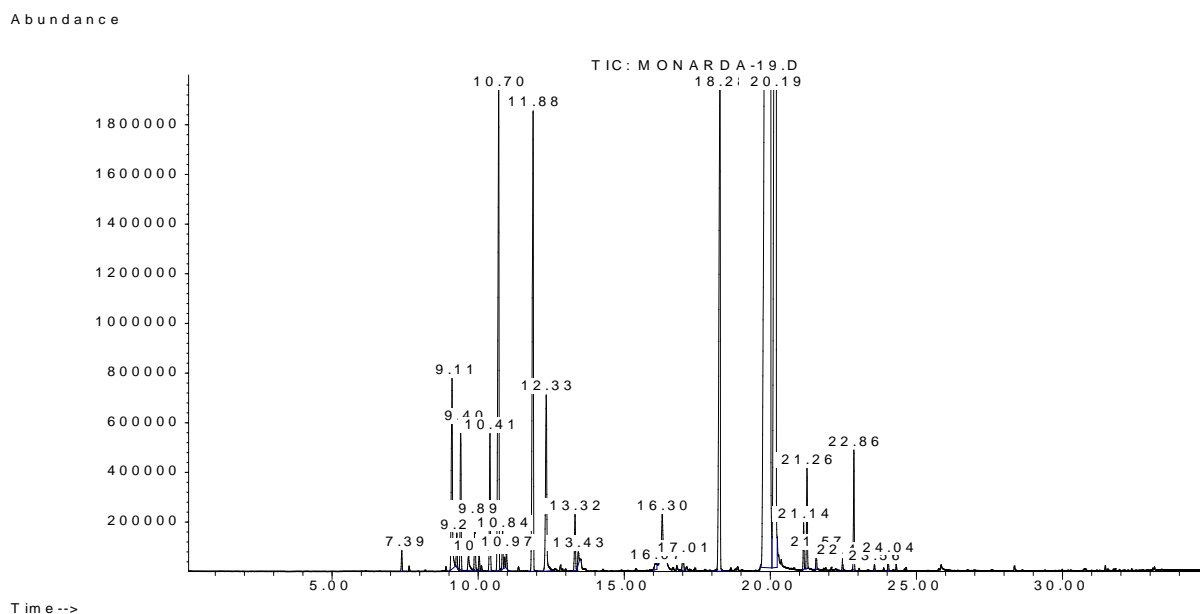


Рис. 3.4. ГХ/МС хроматограма ефірної олії *M. citriodora* (у фазу початку цвітіння рослин)

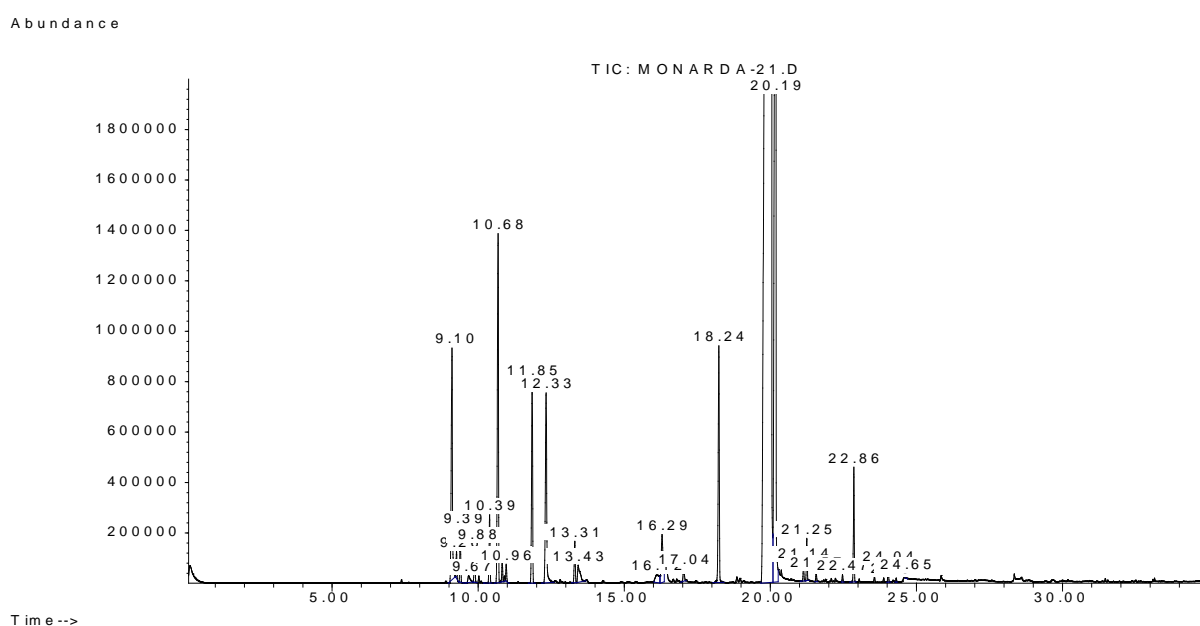


Рис. 3.5. ГХ/МС хроматограма ефірної олії *M. citriodora* (у фазу масового цвітіння рослин)

Домінуючими компонентами ефірних олій *M. citriodora* обох фаз вегетації були ароматичні компоненти – тимол, карвакрол, метилкарвакрол, *n*-цимен, а також монотерпеноїд γ -терпінен (рис. 3.6, 3.7). У цілому, в ефірних оліях рослини обох фаз вегетації кисневмісні монотерпеноїди переважали над безкисневими компонентами.

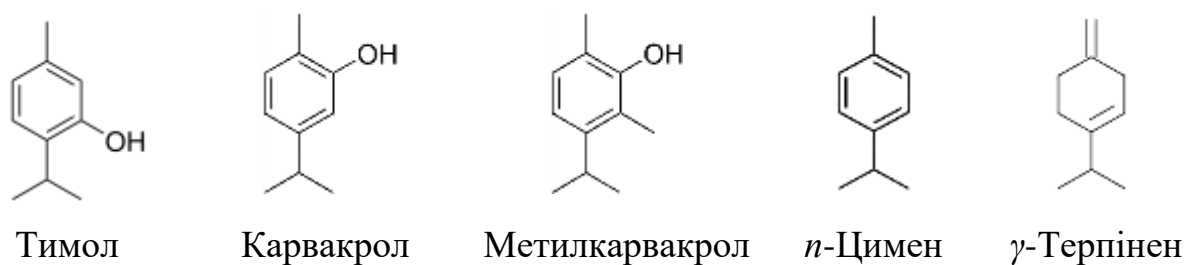


Рис. 3.6. Структурні формули домінуючих компонентів ефірних олій *M. citriodora*

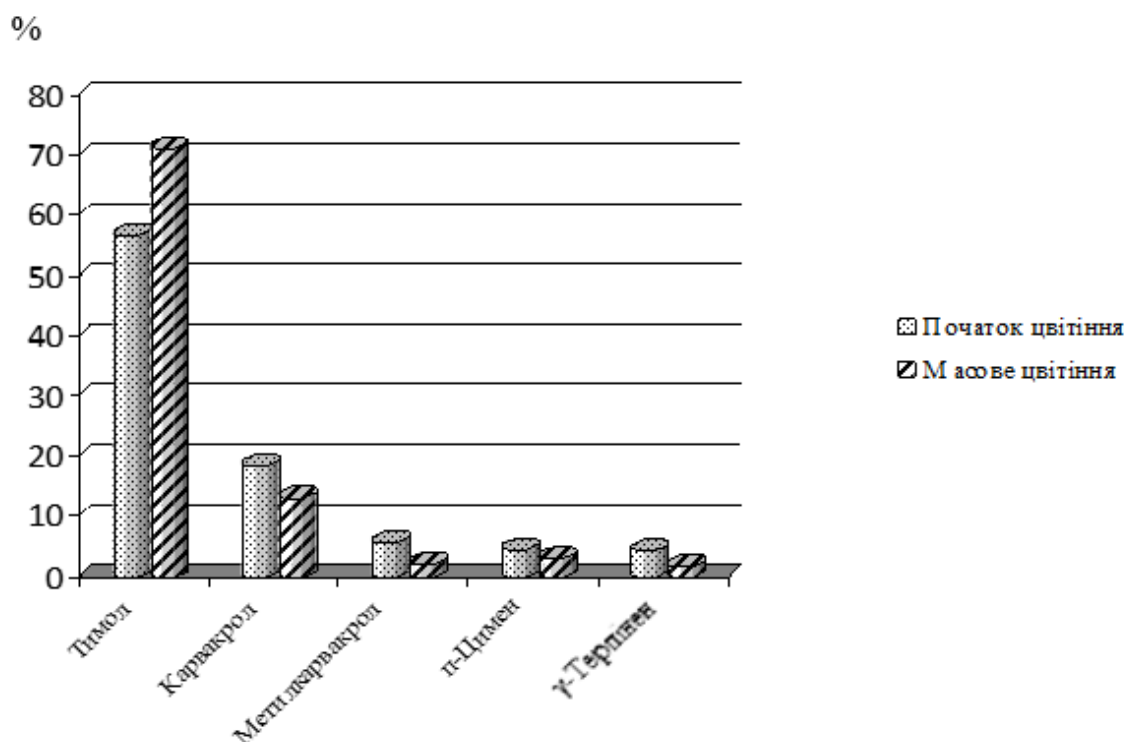


Рис. 3.7. Порівняльний аналіз вмісту домінуючих компонентів ефірної олії *M. citriodora* у залежності від фази вегетації рослин

Сесквітерпеноїди (β -каріофілен, δ -кадинен, гермакрен D та ін.) у складі ефірної олії *M. citriodora* було виявлено у слідових кількостях або ж вони взагалі були відсутні. Октаналь, 1-октен-3-ол, октанол-3, октанон-3 і децилацетат, які не є сполуками терпенової природи, виявлено у міnorних кількостях, що позитивно характеризує ці ефірні олії.

Ароматична структура виявлених домінуючих компонентів ефірних олій *M. citriodora* – тимолу, карвакролу, метилкарвакролу і *n*-цимену – дає можливість припустити їхній значний антимікробний потенціал. Сумарний

вміст таких компонентів-лідерів як тимол і карвакрол був вищим у ефірній олії, заготовленій у фазу масового цвітіння рослин (84,07 %) порівняно із початком цвітіння (75,09 %) (див. табл. 3.3).

Виявлені нами ароматичні монотерпеноїди тимол і карвакрол з доведеними антисептичними властивостями домінують також в ефірних оліях інших видів родини *Lamiaceae* – з родів *Monarda*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymus* та ін. [8, 36, 62, 64]. Тимол і карвакрол як структурні ізомери мають подібні терапевтичні ефекти [48]. Їхній значний антимікробний потенціал пов'язують як із наявністю ароматичного ядра в їхній молекулі, так і ОН-групи [36, 37].

Як визначили різні дослідники [4, 38, 59], компонентний склад ефірних олій рослин залежить як від їхніх спадкових особливостей, так і впливу різних екологічних факторів: висоти над рівнем моря, географічної широти, погодних умов року, впливу мікроорганізмів і тварин, особливостей культивування тощо. Так, встановлено [57], що основними компонентами ефірної олії *M. citriodora* при заготівлі в північно-східному Китаї були тимол (44,6 %) та 1,8-цинеол (23,6 %), тоді як каріофілен (19,15 %) домінував у ефірній олії трави цього виду, яку було заготовлено в Індії [60]. Інші індійські науковці [44] виявили тимольний хемотип *M. citriodora*, де тимол (82 %) істотно превалував над іншими складовими ефірної олії: карвакролом (4,82 %), β -мірценом (3,45%) та ін. Тимол (66,4 %) переважав також в ефірній олії *M. citriodora*, заготовленої в Італії [58].

Вважаємо, що досліджувану нами ефірну олію трави *M. citriodora* вітчизняної заготівлі (Херсонська обл.), незалежно від фази вегетації рослини (початок/масове цвітіння), можна віднести до тимолово-карвакрольного хемотипу.

3.2.2 ТШХ-аналіз терпенових сполук монарди лимонної

Проведений нами ТШХ-аналіз розчину ефірної олії *M. citriodora* (рис. 3.8) (рухома фаза: толуол – етилацетат (95:5), отриманої у період масового цвітіння

рослин, показав наявність тимолу ($R_f=0,43$) як її основного аналітичного і біологічно активного маркера. Вважаємо, що визначений методом ТШХ хроматографічний профіль ефірної олії *M. citriodora* може бути використаний для її подальшої ідентифікації.

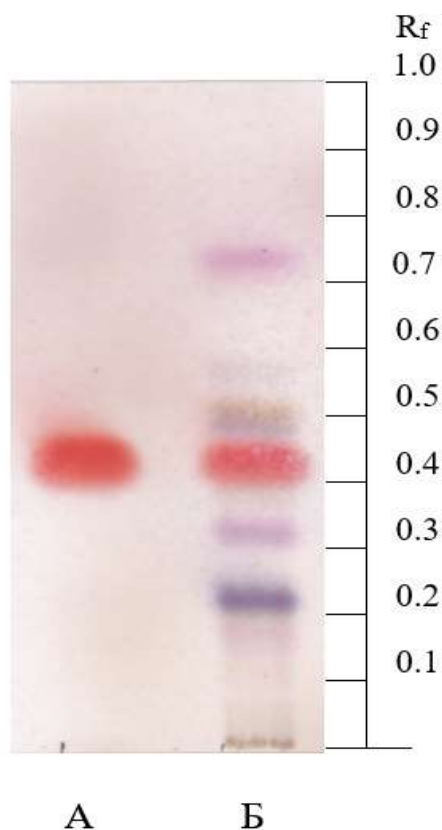


Рис. 3.8. ТШХ хроматограми розчинів СЗ тимолу (А) та ефірної олії *M. citriodora* (Б) після проявлення анісового альдегіду розчином; денне світло. Рухома фаза: толуол – етилацетат (95:5).

У водно-етанольних витягах трави монарди лимонної методом ТШХ серед терпенових сполук встановлено наявність урсолової кислоти і тимолу (рис. 3.9). Відомо, що урсолова кислота належить до компонентів тритерпенової природи та виявляє протизапальні, анальгетичні, антиоксидантні, гепатопротекторні, протипухлинні властивості [70].

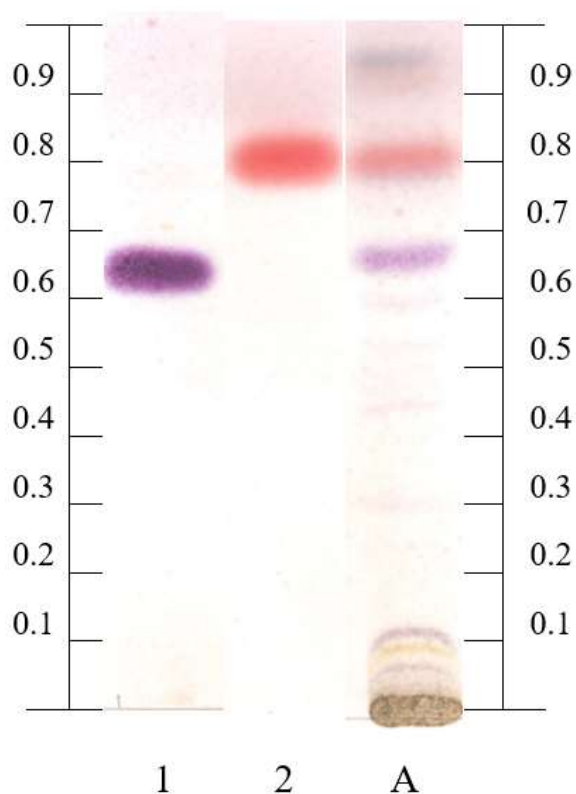


Рис. 3.9. ТШХ хроматограма 70 % етанольного витягу трави монарди лимонної (А) та розчину СЗ урсолової кислоти (1) і тимолу (2) після дериватизації анісового альдегіду розчином (при денному світлі). Рухома фаза: метиленхлорид – метанол (9:1)

3.3 Аналіз якісного складу та вмісту фенольних сполук трави монарди лимонної

Методом ТШХ у водно-етанольних витягах трави монарди лимонної були виявлені ГКК: розмаринова, кофейна і хлорогенова. Найбільш чітко було ідентифіковано блакитні флуоресцентні зони розмаринової кислоти ($R_f=0,75$; рухома фаза: етилацетат – мурашина кислота – вода (15:1:1); дериватизація – 1 % $AlCl_3$, при $\lambda=366$ нм.

Методом диференційної спектрофотометрії встановлено вміст суми гідроксикоричних кислот у траві монарди лимонної, у перерахунку на розмаринову кислоту, залежно від концентрації використаного етанолу

(рис. 3.10). Найвищим він був при екстракції сировини 50 % етанолом – $3,49 \pm 0,06$ %.

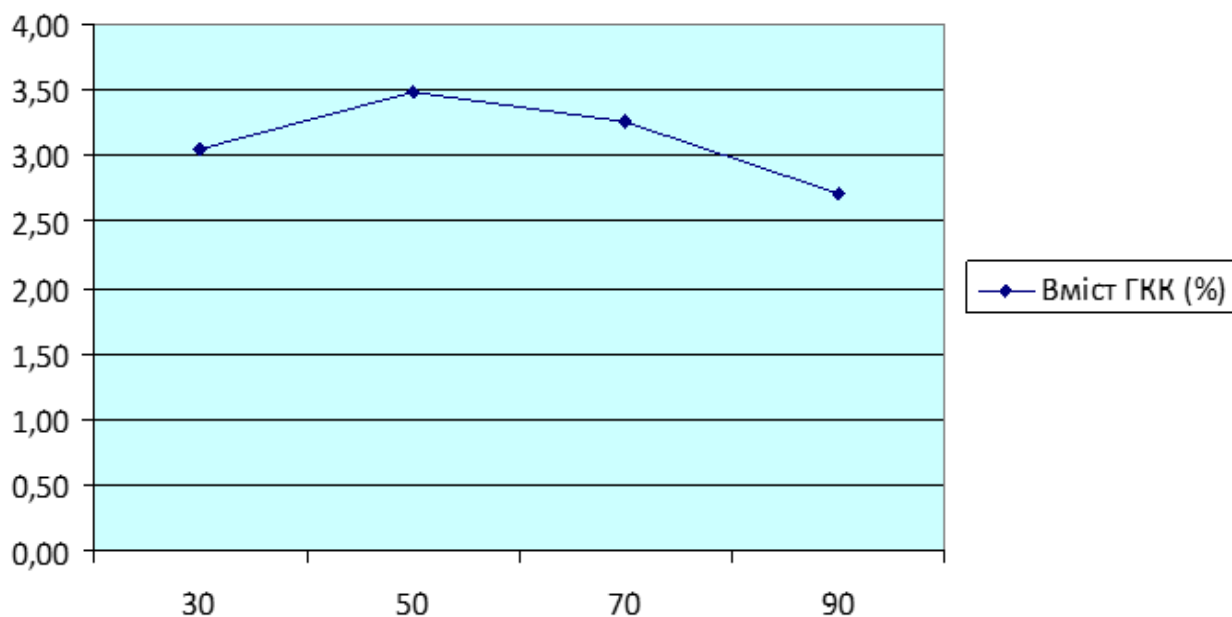


Рис. 3.10. Вміст гідроксикоричних кислот (%) у траві монарди лимонної залежно від використаного екстрагенту (етанол: 30%, 50 %, 70%, 90%)

На основі аналізу отриманих даних для ВЕРХ-аналізу було відібрано 50 % етанольний витяг трави монарди лимонної – завдяки максимальному вмісту суми ГКК (табл. 3.4, рис. 3.11).

Таблиця 3.4

**Результати ВЕРХ-аналізу фенольних сполук у 50 % етанольному
витязі трави монарди лимонної**

Сполука	Час утримання, хв	Вміст, %
Галова кислота	6,9	0,09
Хлорогенова кислота	20,3	0,04
Кофейна кислота	21,8	0,14
Ферулова кислота	31,9	0,28
Гіперозид	32,5	0,41
Апігенін-7-глюкозид	36,7	0,22
Розмаринова кислота	37,8	2,37
Кверцетин	47,2	0,13
Апігенін	52,4	0,08

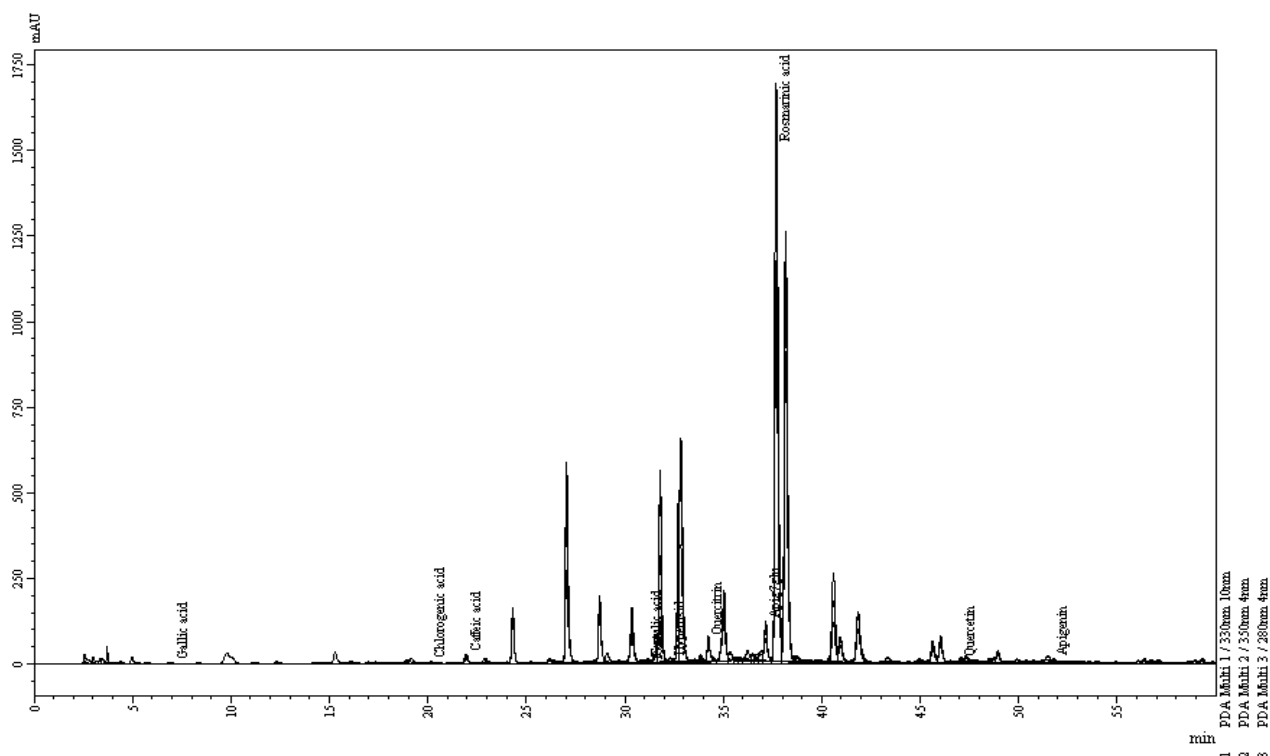


Рис. 3.11. ВЕРХ хроматограма фенольних сполук 50 % етанольного витягу трави монарди лимонної

Відомо, що серед широкого кола екзогенних антиоксидантів поліфеноли становлять один із найефективніших класів сполук антирадикального захисту. У рослинах синтезуються тисячі різних поліфенольних сполук як вторинних метаболітів [72]. З хімічної точки зору, виявлена нами домінуюча сполука фенольної природи – розмаринова кислота (рис. 3.12) – належить до підкласу гідроксикоричних кислот і є складним ефіром 3,4-дигідроксифенілмолочної та кофейної кислот. Загальновизнано, що вона є ефективним антиоксидантом, оскільки може діяти як поглинач вільних радикалів, але розмаринова кислота також має велику кількість інших біологічних властивостей – таких як противірусні, антибактеріальні та протизапальні властивості [34, 65].

Варто відзначити, що на основі використання методу ВЕРХ науковцями було визначено домінування хлорогенової та розмаринової ГКК ($12,19 \times 10^{-2}$ і $11,82 \times 10^{-2}$ %, відповідно) у траві чистецю Зібольда з родини Глухокопйові [16].

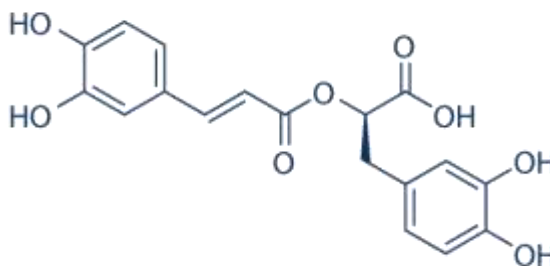


Рис. 3.12. Структурна формула розмаринової кислоти

Сумарний вміст гідроксикоричних кислот у траві монарди лимонної склав $3,49 \pm 0,06$ %. Визначення проведено методом диференційної спектрофотометрії, у перерахунку на розмаринову кислоту, в 50 % етанольному витягу трави рослини. Аналіз проводили у перерахунку на розмаринову кислоту, оскільки аналіз електронних спектрів світлопоглинання водно-етанольного витягу трави рослини показав батохромний зсув максимумів із ділянки $\lambda=327$ нм до $\lambda=505$ нм при додаванні нітритмолібденового реактиву, аналогічно до СЗ розмаринової кислоти (рис. 3.13, 3.14).

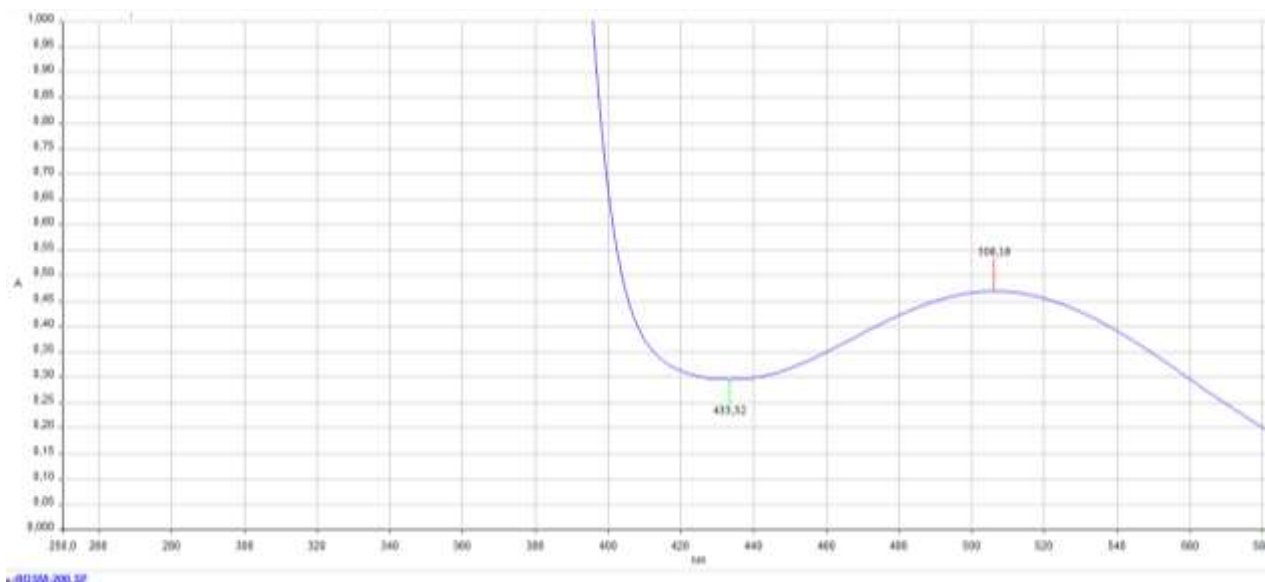


Рис. 3.13. Електронний спектр поглинання розчину СЗ розмаринової кислоти (після додавання нітритмолібденового реактиву)

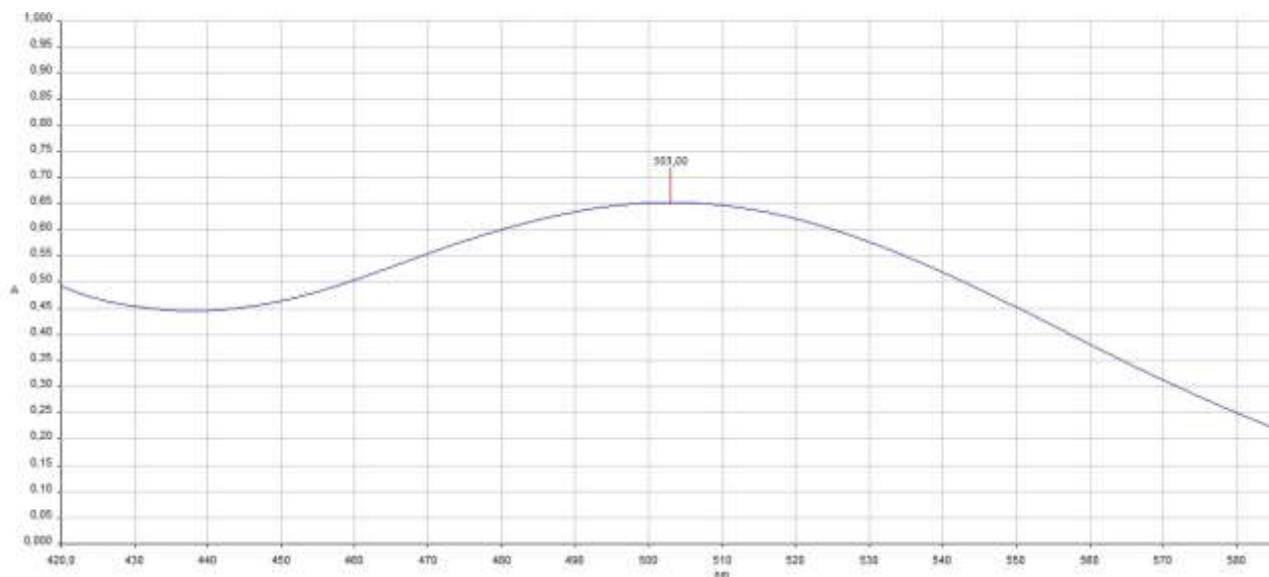


Рис. 3.14. Електронний спектр поглинання 50 % етанольного витягу трави монарди лимонної (після додавання нітритмолібденового реактиву – в умовах кількісного визначення суми ГКК)

Велику групу природних поліфенолів складають флавоноїди, до яких належать флавони, флавоноли, флаванони, флаваноли, ізофлавоноїди тощо [25, 61, 69]. З усіх флавоноїдів похідні флавону – апігенін (4', 5,7-тригідроксифлавонол) та лютеолін (3,4', 5,7-тетрагідроксифлавонол) – належать до найбільш розповсюджених у рослинному світі та добре вивчених фенольних сполук. Завдяки наявності 3-4 гідроксильних груп у молекулах ці флавоноїди здатні ефективно поглинати вільні радикали та діють як антиоксиданти, виявляючи протизапальні, антимуtagenні та противірусні ефекти [60, 69]. У рослинах вони накопичуються переважно у глікозидній формі.

При визначенні сумарного вмісту флавоноїдів проводили аналіз електронних спектрів поглинання досліджуваного 50 % етанольного витягу трави монарди лимонної після додавання до нього 3 % $AlCl_3$. Встановлено наявність характерних максимумів світлопоглинання при $\lambda=398-402$ нм, що відповідало показнику СЗ лютеоліну в аналогічних умовах визначення (рис. 3.15, 3.16), тому визначення проведено у перерахунку на лютеолін. Вміст суми флавоноїдів становив $2,05 \pm 0,08$ %.

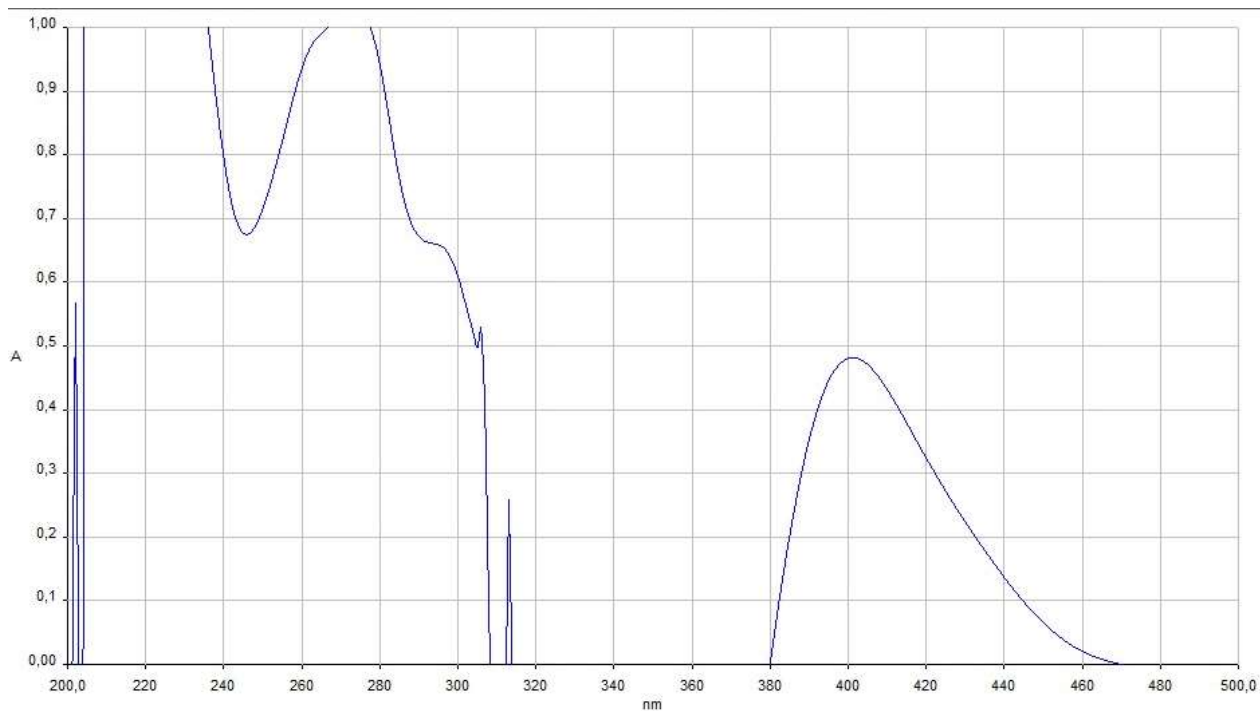


Рис. 3.15. Електронний спектр поглинання розчину лутеоліну (після додавання 3 % AlCl₃)

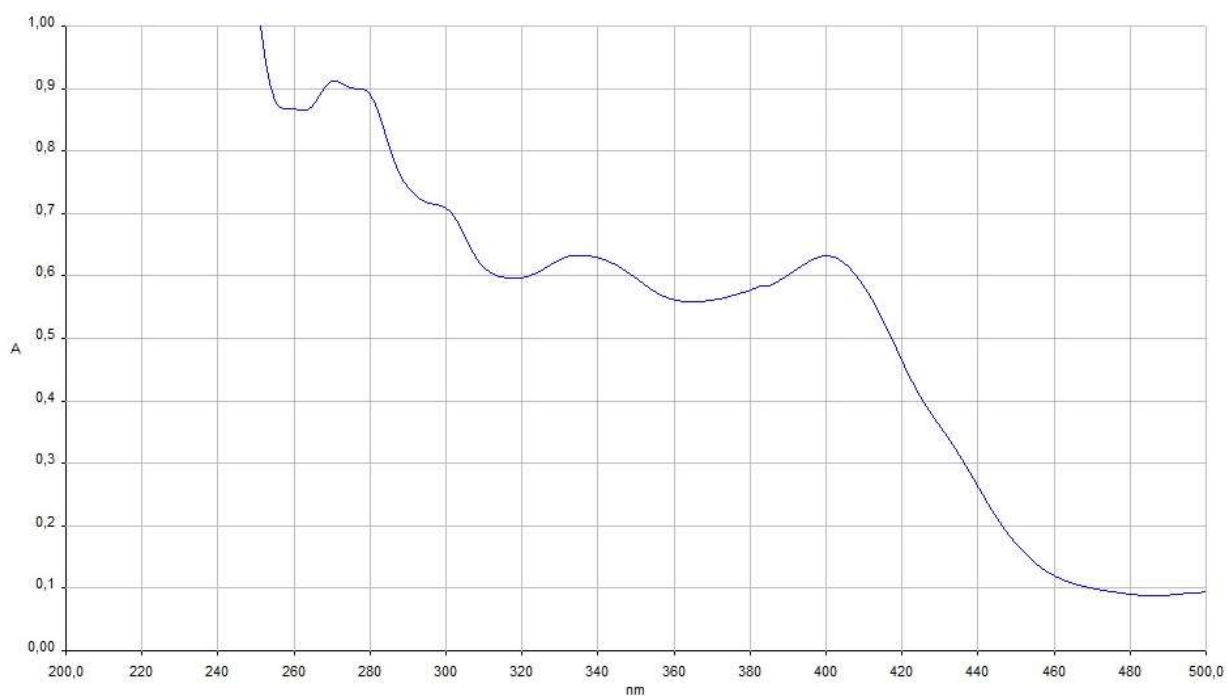


Рис. 3.16. Електронний спектр поглинання розчину 50 % етанольного витягу трави монарди лимонної (після додавання 3 % AlCl₃ в умовах визначення сумарного вмісту флавоноїдів)

У результаті висушування 50 % етанольного витягу трави монарди лимонної отримано сухий екстракт – гігроскопічний світло-коричневий порошок з гіркувато-терпким смаком і приємним ароматом (рис. 3.17).



Рис. 3.17. Сухий екстракт із трави монарди лимонної

Виявлені особливості накопичення флавоноїдів і ГКК у траві і сухому екстракті монарди лимонної при екстрагуванні 50 % етанолом представлено на рис. 3.18.

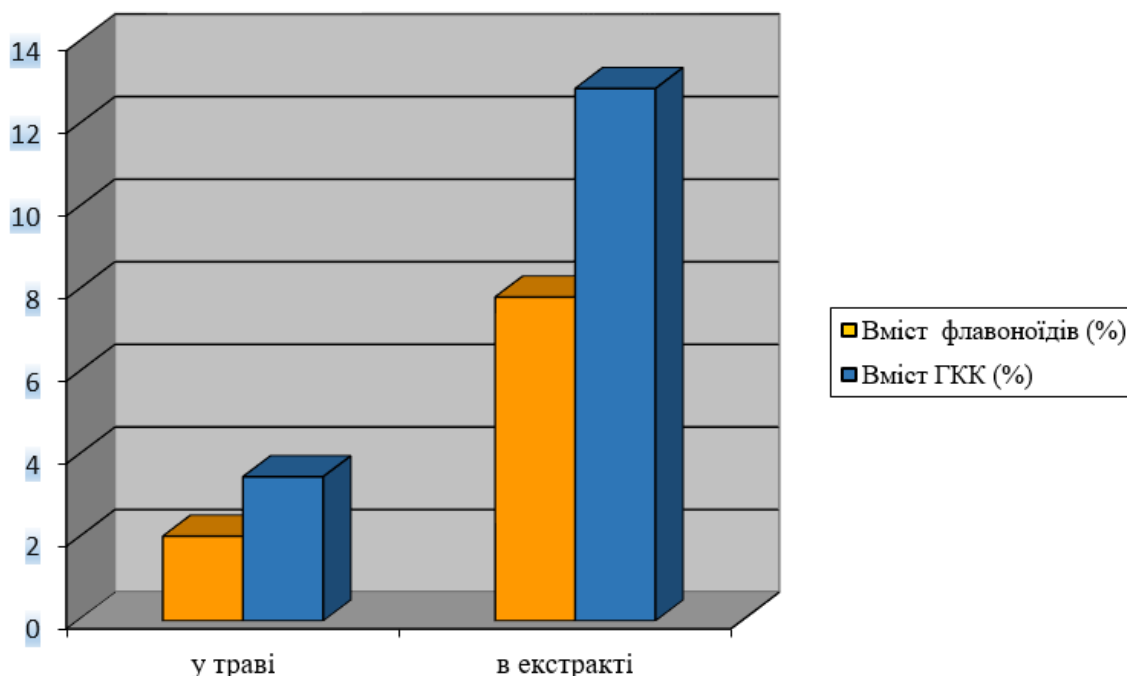


Рис. 3.18. Порівняльні дані вмісту флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у траві та сухому екстракті трави монарди лимонної

Вміст суми флавоноїдів у сухому екстракті трави монарди лимонної, у перерахунку на лютеолін, склав $7,84 \pm 0,16$ %. Вміст суми ГКК, у перерахунку на розмаринову кислоту, в сухому екстракті становив $12,89 \pm 0,21$ %. Таким чином, отриманий сухий екстракт можна вважати перспективним джерелом поліфенолів.

Надземну частину багатьох Глухокропивових, завдяки приємним смаку і запаху, нерідко використовують у вигляді чаїв [41, 46, 50]. Оскільки цілий ряд поліфенолів є гідрофільними сполуками, це дає змогу екстрагувати їх із сировини гарячою водою. Водорозчинні поліфеноли є важливими складовими водних настоїв, які досить часто виготовляють із сировини представників Глухокопивових – таких як меліса, м'ята, материнка, шавлія, чебрець тощо [41, 50].

Вміст суми поліфенолів у траві монарди лимонної, який було визначено за методикою Фоліна-Чокальтеу (при 760 нм), у перерахунку на галової кислоти еквівалент (рис. 3.19), склав $40,54 \pm 0,92$ мг ГКЕ/г трави.

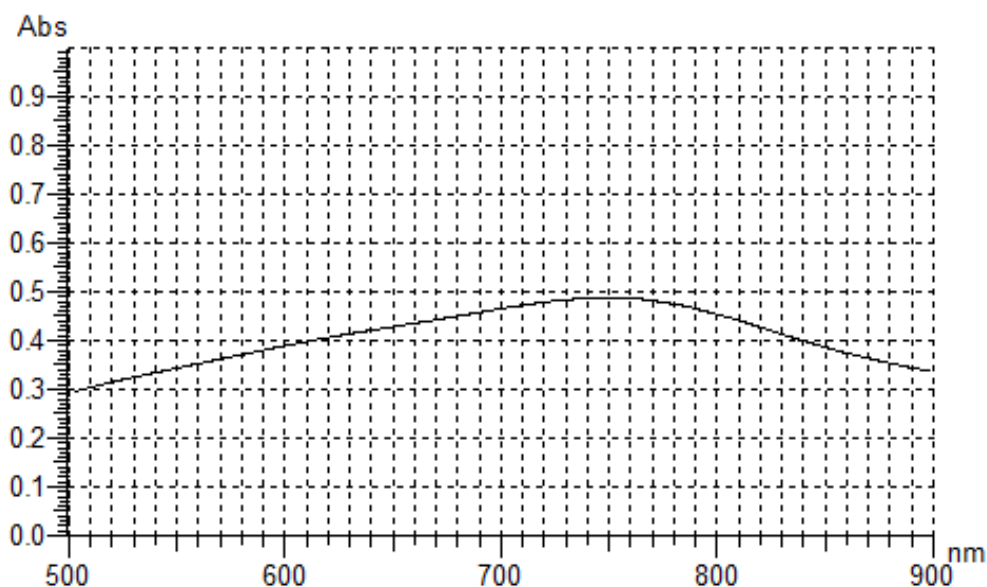


Рис. 3.19. Електронний спектр світлопоглинання водного витягу трави монарди лимонної (методика Фоліна-Чокальтеу)

Встановлений нами досить високий сумарний вміст поліфенолів у настої трави монарди лимонної узгоджується з результатами, отриманими іншими

авторами стосовно сировини офіцинальних видів під родини *Nepetoideae* – *Ocimum basilicum*, *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis* тощо [41]. Поліфеноли розглядають як основні антиоксиданти сировини рослин родини *Lamiaceae* [46].

Дослідниками встановлено аналогічні результати стосовно водорозчинних фенольних сполук *Origanum vulgare* (*Lamiaceae*) [41]: водний витяг трави рослини характеризувався досить значним вмістом суми поліфенолів (у порівнянні з водно-етанольним витягом).

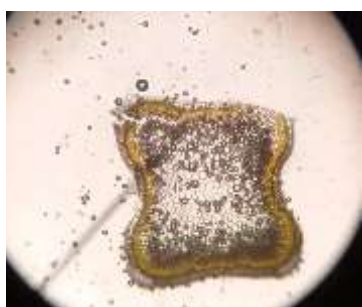
3.3 Морфолого-анатомічний аналіз трави монарди лимонної

Макро- та мікроскопічний аналіз сировини є важливим етапом фармакогностичного вивчення неофіцинальних лікарських рослин, оскільки у природних місцях зростання та в умовах культури існує немало підвидів, сортів, хемотипів і форм рослин, що значно утруднює їхню ідентифікацію [29]. Він є також важливим при встановленні параметрів стандартизації нової рослинної сировини.

Макроскопічний аналіз. Фрагменти розгалужених пагонів до 15 см завдовжки, заготовлені у період масового цвітіння монарди лимонної. Стебла світло-зелені, чотиригранні; листки навхрест-супротивні, вузько-ланцетні, із виразним пилчастим краєм. Верхівки стебел містять переривчасті головчасті суцвіття із 4-6 напівкілець двогубих квіток.

Суцвіття до 5 см у діаметрі, оточені фіолетово-бузковими приквітковими листками. Чашечка трубчаста, до 0,7-0,9 см завдовжки, світло-зелена, злегка двогуба. Віночок до 3 см завдовжки, виразно двогубий, видовжений. Тичинки жовтувато-бурі, андроцей двосильний. Колір стебел і листків світло-зелений; колір квіток – рожево-бузковий. Запах ароматний, "лимонно-тимоловий"; смак пряно-пекучий.

Мікроскопічний аналіз. Анатомічні особливості трави монарди лимонної вивчали методом світлової мікроскопії з фотофіксацією (рис. 3.20, 3.21).



Поперечний переріз
стебла (під суцвіттям)



Поперечний переріз
стебла
(середньої частини)



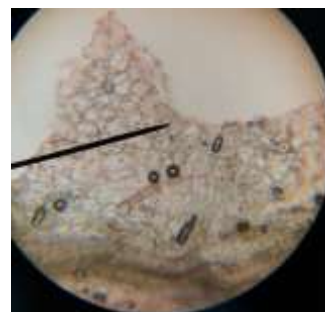
Фрагмент середньої
частини стебла



Фрагмент верхньої
епідерми листка



Верхня епідерма листка



Фрагмент верхньої
епідерми листка



Поперечний переріз
через черешок листка



Фрагмент жилки листка
з криючими трихомами

Рис. 3.20. Мікроскопічні ознаки стебел і листів монарди лимонної

Стебла монарди лимонної на поперечному перерізі із чотирма виступаючими рельєфними ребрами, основу яких складає кутова коленхіма, і сплющеними міжреберними ділянками. У нижній частині стебла мають порожнину всередині, верхні виповнені паренхімою серцевини. По ребрах є 4 добре розвинені ділянки ксилеми, лігніфіковані стінки яких при підфарбовуванні аніліну сульфатом жовтіли. Ділянки флоєми вузькі.

Стебла у верхній частині мають непучкову будову, у середній – перехідну. Корова паренхіма стебел представлена декількома шарами асиміляційної, а також запасуючої паренхіми. Серед трихом епідерми домінували прості виповнені повітрям волоски; зустрічались також поодинокі головчасті волоски; ефіроолійних залозок мало. Листки на поперечному перерізі мають різносторонню (дорсивентральну) будову. Клітини нижньої епідерми паренхімні, з більш звивистими краями, ніж верхньої. Нижня епідерма містить значну кількість продихів діацитного типу; у ній густо розташовані радіальні ефіроолійні залозки з оранжевим вмістом; є також поодинокі головчасті волоски на довгій ніжці; прості волоски густіше локалізовані навколо жилок.

У квітці (див. рис. 3.21) є 5-зубчаста, злегка двогуба чашечка, яка густо опушена простими волосками; є також головчасті волоски; залозок мало. Клітини епідерми чашечки видовжені, з потовщеними оболонками.



Чашечка квітки

Основа трубки
віночкаВерхівка
двогубого віночкаФрагмент
епідерми віночка
квітки
(з трихомами)

Тичинка квітки (різні ракурси)

Порошок сировини

Рис. 3.21. Мікроскопічні ознаки квіток і порошку сировини монарди лимонної

Віночок квітки вкритий видовженими клітинами епідерми із дрібно-звивистими стінками. Серед трихом помітні прості криючі довгі тонкі волоски і видовжені залозисті волоски та залозки. Верхівки пелюсток вкриті головчастими і простими волосками густіше, ніж основа віночка. Пиляки оранжево-бурі, залозистоопушені.

У порошку сировини видно фрагменти епідерми з діацитними продохами, залозками з оранжевим вмістом, головчастими волосками на довгій ніжці та простими 2-3 клітинними волосками. Є фрагменти листків дорсивентральної будови, епідерми з трихомами, шматки стебел, світло-фіолетових віночків квіток, пилкових зерен тощо.

При аналізі показників якості трави монарди лимонної визначено, що вміст золи загальної у сировині склав 10,87 %; вміст золи, нерозчинної в 10 % розчині HCl – 1,95 %. Вміст частин трави, що потемніла або побуріла – 4,5 %.

3.5 Дослідження антимікробної активності ефірних олій в умовах *in vitro*

На основі вивчення антибактеріальної та антигрибкової дії ефірних олій трьох видів роду Монарда методом "колодязів" (табл. 3.5, рис. 3.22). Встановлено, що в усіх досліджуваних видів вони мали високий антимікробний потенціал.

Досліджувані ефірні олії проявили бактерицидну дію щодо Грам-позитивного патогенного мікроорганізму *Staphylococcus aureus*, який мав високу чутливість до внесених у «колодязь» досліджуваних зразків, оскільки діаметр затримки росту цієї бактерії перевищував 25 мм. Ефірні олії *M. citriodora* і *M. fistulosa* виявили бактеріостатичну дію щодо Грам-негативної паличкоподібної бактерії *Escherichia coli*, тоді як *M. didyma* виявила бактерицидний ефект щодо цього мікроорганізму (діаметр затримки росту склав більше 20 мм).

**Результати вивчення антимікробного впливу ефірних олій видів
роду Монарда методом "колодязів"**

№	Вид рослини	Діаметр затримки росту мікроорганізму, мм		
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653
1	<i>Monarda citriodora</i>	18,1	28,7	23,4
2	<i>Monarda didyma</i>	20,4	31,5	28,5
3	<i>Monarda fistulosa</i>	17,2	33,9	26,6
4	Диметилсульфоксид (негативний контроль)	—	—	—

Примітка: "—" – не спостерігалось затримки росту мікроорганізму.



Escherichia coli



Staphylococcus aureus



Candida albicans

Рис. 3.22. Результати вивчення впливу досліджуваних ефірних олій монард на життєдіяльність патогенних мікроорганізмів. Умовні позначення: 1 – *M. citriodora*; 2 – *M. didyma*; 3 – *M. fistulosa*.

Ефірні олії всіх трьох видів Монард мали фунгіцидну дію по відношенню до патогенного грибка *Candida albicans*, який проявив до них досить високу чутливість.

Варто відзначити, що високу чутливість до ефірної олії *M. fistulosa*, у складі якої переважали тимол (42,01 %) і *n*-цимен (15,45 %), дослідниками встановлено для *Staphylococcus aureus* і грибка *Candida albicans* [30]. Для ефірної олії *M. punctata*, у якій було 75,2 % тимолу, теж виявлено потужний антибактеріальний ефект стосовно впливу на поширену опортуністичну інфекцію – *Staphylococcus aureus* [31].

Науковцями доведено, що ефірна олія *M. didyma*, в якій було більше ніж 55 % тимолу, досить ефективно інгібувала фітопатогенні грибки *Rhizoctonia solani* та *Botrytis cinerea* [38]. Ефірна олія *Agastache aurantiaca* (родина *Lamiaceae*) також виявила значну антибактеріальну активність завдяки домінуванню ароматичних компонентів [1].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, за останні десятиліття у більшості поширених патогенних мікроорганізмів (*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* тощо) виробилась значна стійкість до одного чи декількох відомих антимікробних лікарських засобів [75]. Більшість штамів *Escherichia coli* нешкідливі, хоча деякі можуть викликати важкі форми харчового отруєння, оскільки продукують шигатоксин [74]. *Staphylococcus aureus* викликає гнійні зараження шкіри та слизових оболонок, а саме карбункули, фурункули, а також пневмонію тощо.

Кандидомікози належать до поширених уrogenітальних грибкових інфекцій [2, 42, 47]. Попередження формування біоплівки, спричинених патогенними бактеріями та *Candida albicans* [42, 45], за допомогою ефірної олії видів роду Чебрець визначено більш ефективним, ніж їх усунення після завершення формування [45].

Науковцями визначено, що тимолвмісні ефірні олії *Satureja montana* і *Origanum vulgare* (родина *Lamiaceae*) інгібували ріст і активність *Candida albicans* більш ефективно, ніж "Клотримазол" [67]. Ефірні олії цих видів мали

руйнівний вплив як на стінку грибової клітини, так і на її мембранні структури. Антимікробний ефект ефірних олій видів родини Глухокропивові науковці пояснюють явищем синергізму у зв'язку з наявністю декількох компонентів ароматичної будови у їхньому складі [39].

ВИСНОВКИ

1. Проведено порівняльне дослідження вмісту, компонентного складу та антимікробної активності ефірних олій, отриманих із трави трьох видів роду Монарда (*Monarda*): *M. didyma* (сорт "Скарлет"), *M. fistulosa* (сорт "Фортуна") та *M. citriodora*. На основі ГХ/МС-аналізу становлено, що основним компонентом ефірних олій усіх трьох видів був ароматичний монотерпеноїд тимол, вміст якого був найвищим у *M. citriodora* (71,08 %). Ефірні олії усіх досліджуваних видів виявили високий рівень антимікробної активності – насамперед, щодо *Staphylococcus aureus*, оскільки діаметр затримки росту цієї патогенної бактерії при використанні "методу колодязів" перевищував 25 мм.

2. При проведенні скринінгових досліджень у траві монард, крім ефірної олії, ідентифіковано такі групи БАР вторинного синтезу: тритерпенові сапоніни, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини.

3. Методом ГХ/МС проведено порівняльний аналіз компонентного складу ефірних олій *M. citriodora* як виду із максимальним вмістом тимолу в дві різні фази вегетації – на початку та у період масового цвітіння. Встановлено тимольно-карвакрольний хемотип ефірної олії *M. citriodora*. Запропоновано використовувати ТШХ-аналіз ефірної олії рослини як експрес-метод її ідентифікації.

4. Методами ТШХ і ВЕРХ у траві *M. citriodora* ідентифіковано флавоноїди та гідроксикоричні кислоти. На основі ВЕРХ-аналізу визначено, що розмаринова кислота (2,37 %) була домінуючою поліфенольною сполукою сировини рослини. Методом спектрофотометрії встановлено сумарний вміст флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у траві *M. citriodora* та в сухому екстракті, отриманому з використанням 50 % етанолу. Визначено вміст суми поліфенолів у водному витязі трави рослини.

5. На основі макро- та мікроскопічного аналізу трави *M. citriodora* встановлено основні діагностичні морфолого-анатомічні ознаки її стебел, листків, квіток і суцвіть.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антибактериальная активность эфирного масла *Agastache aurantiaca* / Н. А. Коваленко, Г. Н. Супиченко, Т. И. Ахрамович и др. *Химия растит.сырья*. 2018. № 2. С. 63–70.
2. Воробець Н. М., Рівіс О. Ю. Актуальність та перспективи використання лікарських рослин для лікування кандидозу ротової порожнини. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Вип. 1(135). С.22–32.
3. Вронська Л. В. Застосування тонкошарової хроматографії для ідентифікації трави меліси лікарської. *Фармацевтичний часопис*. 2011. № 4. С. 64–67.
4. Высочина Г.И. Род *Monarda* L. (*Lamiaceae*): химический состав, биологическая активность и практическое применение (Обзор). *Химия в интересах устойчивого развития*. 2020. № 28(2). Р. 107–123.
5. Гвоздик Н. Аналіз флавоноїдів у сухому екстракті трави *Monarda citriodora* Cerv. ex Lag. *Матеріали XXIV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених* (Тернопіль, 13-15 квітня 2020 р.). Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. С. 143.
6. Гвоздик Н. Фармакогностичне вивчення трави монарди лимонної. *Матеріали XXV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*. (Тернопіль, 12-14 квітня 2020 р.). Тернопіль: Укрмедкнига, 2021. С. 189–190.
7. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: ДП «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2015. Т. 1. 1128 с.
8. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: ДП «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2014. Т. 3. 732 с.
9. Державний реєстр лікарських засобів України (2021) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua>

10. Зарівна Н.О., Вронська Л.В., Подплетня О.А. Обґрунтування вибору активних маркерів для стандартизації препаратів на основі трави чебрецю. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 2. С. 56–60.
11. Исследование иммуномодулирующей активности эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L) / О.М. Науменко, Е.Т. Жилиякова, О.О. Новиков и др. *Науч. вед. Белгородского гос. ун-та*. 2012. № 21 (140). С. 154–158.
12. Качественный состав летучих соединений *Agastache foeniculum* в онтогенезе / Е.Ю. Коновалова, И.А. Гуртовенко, Т.К. Шураева и др. *Рецепт*. 2017. Т. 20 (6). С. 544–550.
13. Компонентный состав эфирного масла травы *Monarda fistulosa* L. из коллекции Никитского ботанического сада / А.С. Никитина, А.М. Алиев, С.А. Феськов, Н.В. Никитина. *Химия растит. сырья*. 2018. № 2. С. 44–51.
14. Красюк Е.В., Пупыкина К.А. Качественный анализ и разработка методики количественного определения флавоноидов в видах монарды, интродуцируемых в республике Башкортостан. *Мед. вестник Башкортостана*. 2016. Вып. 11. № 5 (65). С. 73–77.
15. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А. М. Гродзинський. К.: Вид-во "Укр. енциклопедія" ім. М.П. Бажана, 1992. 544 с.
16. Марчишин С.М., Гусак Л.В., Бердей Т.С. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю Зібольда. *Мед. та клін. хімія*. 2016. Т. 18. № 3. С. 13–16.
17. Мащенко З.Е. Фитохимическое исследование и стандартизация тимолсодержащих растений семейства Яснотковых. Автореф. дис. канд. фарм. наук. 15.00.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия. Пермь, 2004. 24 с.
18. Методика проведення експертизи сортів рослин групи лікарських та ефіроолійних на відмінність, однорідність і стабільність (Наказ МАПІ України 16 грудня 2016 р., № 547). Київ, 2016. С. 431–465.

19. Мінарченко В.М., Бутко А.Ю. Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів рослинного походження. *Фармац. журнал.* 2017. №1. С. 30–36.
20. Определитель высших растений Украины / Д.Н. Доброчаева, М.И. Котов, Ю.Н. Прокудин и др. К.: Фітосоціоцентр, 1999. 548 с.
21. Оценка антимикробной активности липосомированных экстрактов некоторых видов растений для обработки воздуха помещений / С.В. Ивашов, Е.Г. Михайлова, Т.Х. Борзенкова и др. *Растит. ресурсы.* 2012. №48 (1). С. 127–138.
22. Практикум по фармакогнозии: Учеб. пособие для студ. вузов / В.Н. Ковалев, Н.В. Попова, В.С. Кисличенко и др. Под общ. ред. В.Н. Ковалева. Харьков: Изд-во НФаУ, 2004. С. 191-213.
23. Савичук Н.О. Роль і місце ополіскувачів у профілактиці стоматологічних захворювань. *Современная стоматология.* 2014. № 1. С.13-16.
24. Свиденко Л.В., Работягов В.Д., Бойко М.Ф. Формоутворення у видів *Monarda fistulosa* L. і *Monarda citriodora* L. в умовах півдня України. *Чорноморськ. бот. журнал.* 2013. 9 (3): 359-364.
25. Фармакогнозія: базовий підручник для студ. вищих фарм. навч. закладів IV рівня акредитації / В.С. Кисличенко, І.О. Журавель, С.М. Марчишин та ін. Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2015. 736 с
26. Федотов С.В. Эфирные масла монард видов *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* Cervantes ex Lag., их хемотипы и биологическая активность. *Сб. науч. трудов ГНБС.* 2015. Т. 141.
27. Фуклева Л. А., Мазулін О. В. Фітохімічне вивчення ефірної олії тим'яну кримського (*Thymus tauricus* L.) флори України. *Запорожский мед. журнал.* 2009. Т. 11, № 4. С. 124–125.
28. Хроматографічний аналіз ефірних олій із трави монарди лимонної різних фаз вегетації / М.І. Шанайда, Л.В. Свиденко, Н.В. Гвоздик, Н.І. Гудзь. *Фармацевтичний часопис.* 2021. №1. С. 23–32.

29. Шанайда М.І., Сіра Л.М., Машталер В.В. Мікроскопічний аналіз трави *Monarda fistulosa* L. (*Lamiaceae*). *Фармац. журнал*. 2016. № 5. С. 76–85.
30. Шанайда М.І., Покришко О.В. Антимікробна активність ефірних олій культивованих представників родини *Lamiaceae* Juss. *Annals of Mechnikov Institute*. 2014. N 4. P. 66–69.
31. Antibacterial activity and mechanism of action of *Monarda punctata* essential oil and its main components against common bacterial pathogens in respiratory tract / H. Li, T. Yang, F.-Y. Li et al. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2014. Vol. 7 (11). P. 7389–7398.
32. Antimicrobial activity of five essential oils from *Lamiaceae* against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* / Kot B., Wierzchowska K., Piechota M. et al. *Nat. Prod. Res.* 2019. Vol. 33(24). P. 3587–3591.
33. Application of deep eutectic solvents for the extraction of rutin and rosmarinic acid from *Satureja montana* L. and evaluation of the extracts antiradical activity / M. Jakovljević, J. Vladić, S. Vidović et al. *Plants*. 2020. 9 (2), 153, 26.
34. Assessment of rosmarinic acid content in six *Lamiaceae* species extracts and their antioxidant and antimicrobial potential / D. Benedec, I. Hanganu, I. Oniga, et al. *PJPS*. 2015. 28 (6). P. 2297–2303.
35. Bioassay-guided investigation of two *Monarda* essential oils as repellents of yellow fever Mosquito *Aedes Aegypti* / N. Tabanca, U. Bernier, A. Abbas et al. *J. Agric. Food Chem.* 2013. 6. P. 8573–8578.
36. Biological activities of essential oils: from plant chemoecology to traditional healing systems / J.Sharifi-Rad, A.Sureda, G.Tenore et al. *Molecules*. 2017. N 22, 70.
37. Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. / M.Y. Memar, P. Raei, N. Alizadeh et al. *Reviews in Medical Microbiology*. 2017. Vol. 28 (2). P. 63–68.
38. Chemical composition, antifungal and *in vitro* antioxidant properties of *Monarda didyma* L. essential oil / D. Fraternali, L. Giamperi, A. Bucchini et al. *J. Ess. Oil Res.* 2006. Vol. 18. P. 581–585.

39. Chemical composition and antimicrobial effectiveness of *Ocimum gratissimum* L. essential oil against multidrug-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* / R.S. Melo, A.M. Albuquerque Azevedo, A.M. Gomes Pereira et al. *Molecules*. 2019. 24(21), 3864.
40. Comparative analysis of essential oils of the *Monarda* L. species cultivated in Ukraine / N. Hudz, M. Białoń, M. Shanaida, N. Hvozdyk, L. Svydenko, P. P. Wiczorek. *Contemporary pharmacy: issues, challenges and expectation: International Conference (23.10.2020, Kaunas, Lithuania)*. P. 74.
41. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds / N. Martins, L. Barros, C. Santos-Buelga et al. *Food Chemistry*. 158: 73–80.
42. Developing natural products as potential anti-biofilm agents / Lan Lu, Wei Hu, Zeru Tian et al. *Chin Med*. 2019. 14: 11.
43. Development of high-performance thin layer chromatography method for identification of phenolic compounds and quantification of rosmarinic acid content in some species of the *Lamiaceae* family / M. Shanaida, I. Jasicka-Misiak, E. Makowicz et al. *J. Pharm. Bioall. Sci*. 2020. 12. P. 139–145.
44. 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 and Chemical Toxicology*. 2013. Vol. 62. P. 246–254.
45. Effect of Clove and Thyme Essential Oils on *Candida* Biofilm Formation and the Oil Distribution in Yeast Cells / K. Rajkowska, P. Nowicka-Krawczyk, A. Kunicka-Styczynska et al. *Molecules*. 2019, 24, 1954; doi:10.3390/molecules24101954
46. El Tawab A.M.A., Shahin N.N., Abdel Mohsen M.M. Protective effect of *Satureja montana* extract on cyclophosphamide-induced testicular injury in rats. 2014. *Chem. Biol. Interact*. 2014. N 224. P. 196–205.

47. *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. extracts from different plant parts: phenolic composition, antioxidant, and anti-inflammatory activities / L. Pudziuelyte, M. Liaudanskas, A. Jekabsone et al. 2020. *Molecules* 25(5): 1153.
48. Essential oils from *Monarda fistulosa*: chemical composition and activation of transient receptor potential A1 (TRPA1) channels / M. Ghosh, I.A. Schepetkin, G. Özek et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25(21), 4873.
49. European Pharmacopoeia. 9th Ed. 2016. 9.0. Strasbourg, France. <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-9th-edition>
50. Gougoulis N., Mashev N. Antioxidant activity and polyphenols content of some herbal teas of *Lamiaceae* family from Greece and Bulgaria. *Oxid Commun*. 2015. 38 (1). P. 25–31.
51. Hepatoprotective effect of *Rosmarinus officinalis* and rosmarinic acid on acetaminophen-induced liver damage / R. Lucarini, W.A. Bernardes, M.G. Tozatti et al. *Emir. J. Food Agric*. 2014. Vol. 26 (10). P. 878–884.
52. Hvozdyk N., Bunchak K., Klyzub S. et al. Chromatographic analysis of the herbal preparations obtained from the *Monarda*, *Satureja* and *Thymus* species (*Lamiaceae* Family). *Здобутки клінічної та експериментальної медицини: збірник тез підсумк. LXIV наук.-практ. конф. (Тернопіль, 11 черв. 2021 р.)*.
53. Introduction to phytochemicals: secondary metabolites from plants with active principles for pharmacological importance / By N. Mendoza and E.M. Escamilla Silva. 2018. DOI: 10.5772/intechopen.78226
54. Karpiński T. M. Essential oils of *Lamiaceae* family plants as antifungals. *Biomolecules*. 2020. Vol. 10(1): 103.
55. Lawson S.K., Satyal P., Setzer W.N. The volatile phytochemistry of *Monarda* Species Growing in South Alabama. *Plants (Basel, Switzerland)*. 2021. 10(3), 482. <https://doi.org/10.3390/plants10030482>.
56. Lee J. H., Kim Y.G., Lee J. Carvacrol-rich oregano oil and thymol-rich thyme red oil inhibit biofilm formation and the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol*. 2017. Vol. 123 (6). P. 1420–1428.

57. Lu Z.G., Li X.H., Li W. Chemical composition of antibacterial activity of essential oil from *Monarda citriodora* flowers. *Advanced Materials Research*. 2011. Vol. 183. P. 920–923.
58. *Monarda citriodora* hydrolate vs essential oil comparison in several anti-microbial applications / M. Di Vito, G. Bellardi, F. Mondello et al. *Industrial Crops and Products*. 2019. Vol. 128. P. 206–212.
59. Morphological and phytochemical screening of some *Thymus* ecotypes (*Thymus* spp.) native to Iran in order to select elite genotypes / S. Mohammadi, L. Tabrizi, M. Shokrpour et al. *J. of Applied Botany and Food Quality*. 2020. Vol. 93. P. 186–196.
60. Nanoencapsulated *Monarda citriodora* Cerv. ex Lag. essential oil as potential antifungal and antiaflatoxigenic agent against deterioration of stored functional foods / Deepika, A. Singh, A. K. Chaudhar et al. *Journal of Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 57(8). P. 2863–2876.
61. Park C.M., Song Y-S. Luteolin and luteolin-7-*O*-glucoside inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through modulation of NF- κ B/AP-1/PI3K-Akt signaling cascades in RAW 264.7 cells. *Nutr. Res. Pract.* (2013). N 7 (6). P. 423–429.
62. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development / M. F. Nagoor Meeran, H. Javed, H. Al Taei et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2017. Vol. 8: 380.
63. Polyphenols and pharmacological screening of a *Monarda fistulosa* L. dry extract based on a hydrodistilled residue by-product / M. Shanaida, N. Hudz, I. Jasicka-Misiak, P.P. Wieczorek. *Frontiers in Pharmacology*. 2021. 12:563436. doi: 10.3389/fphar.2021.563436
64. Phytochemical evaluation of tinctures and essential oil obtained from *Satureja montana* herb / N. Hudz, E. Makowicz, M. Shanaida et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25(20): 4763.

65. Rosmarinic acid: modes of action, medicinal values and health benefits / A. Alagawany, M.E. Abd El-Hac, M.R.Farag et al. *Anim Health Res Rev.* 2017. 18(2). P. 167–176.
66. Seasonal variation in chemistry and biological activity of *Monarda fistulosa* / T. Thompson, P. Kiehne, J. Maroko et al. *Planta Med.* 2013. Vol. 79. P. 11–17.
67. Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents? / E. Bona, S. Cantamessa, M. Pavan et al. *Journal of Applied Microbiology.* 2016. N 121. P. 1530-1545.
68. The Plant List. Режим доступа: <http://www.theplantlist.org>
69. The therapeutic potential of apigenin / B.Salehi, A.Venditti, M.Sharifi-Rad et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20(6), 1305; <https://doi.org/10.3390/ijms20061305>
70. Triterpenic acids in Giant Hyssop (*Lophanthus anisatus* Benth.) herb / V. V. Chumakova, O. I. Popova, A. B. Dmitriyev, T. D. Mezenova. *Pharmacy.* 2013. N 4. P. 35–39.
71. Tzima K., Brunton N. P., Rai D. K. Qualitative and quantitative analysis of polyphenols in *Lamiaceae* plants: a review. *Plants.* 2018. Vol. 7 (2). P. 25–35.
72. Verma N., Shukla S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* 2015. Vol. 2. P. 105–113.
73. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=monarda>
74. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
75. https://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/en/
76. <https://uk.wikipedia.org/wiki/Монарда>