

УДК 615.322: 547.972+543.544

ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ ВИДОВ РОДА МОНАРДА

© В.А. Куркин*, А.С. Лапина

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89,
Самара, 443099 (Россия), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Трава растений рода Монарда (*Monarda* L.) чаще всего известна благодаря наличию в своем составе эфирного масла, основными компонентами которого являются тимол и карвакрол. Однако большой интерес представляют и флавоноиды, содержащиеся в сырье данного растения. В литературе сообщается о наличии в траве видов рода *Monarda* L. кверцетина, лютеолина, рутина, гесперидина, нарингенина, однако эти данные носят противоречивый характер. Известно, что при определении содержания суммы флавоноидов пересчет ведется на лютеолин или рутин, имеющие разные спектральные характеристики. В данной статье обсуждаются результаты сравнительного исследования флавоноидного состава некоторых представителей рода Монарда: монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.), монарды двойчатой (*Monarda didyma* L.), монарды хаотической (*Monarda bradburiana* L. Vack.), монарды лимонной (*Monarda citriodora* L.), монарды серединной (*Monarda × medioides* W.H.Duncan) в качестве перспективного источника биологически активных соединений. В результате проведенного сравнительного хроматографического исследования обнаружено наличие флавоноидов с использованием детекции при длине волны 366 нм и после обработки спиртовым раствором алюминия хлорида (AlCl₃). Во всех извлечениях не подтверждено наличие цинарозида, рутина, кверцетина, лютеолина. С использованием колоночной хроматографии на силикагеле L 40/100 из травы монарды дудчатой впервые выделены флавоноидные вещества – изоройолин (7-О-рутинозид апигенина) и линарин (7-О-рутинозид акацетина), имеющие в системе растворителей *n*-бутанол–уксусная кислота–вода (4 : 1 : 2) величины R_f около 0.5 и 0.6 соответственно, а также димидин (7-О-рутинозид изосакурнетина). Определено, что во всех УФ-спектрах извлечений из травы исследуемых видов рода Монарда наблюдается bathochromic сдвиг длинноволновой полосы в присутствии 3% спиртового раствора AlCl₃, что подтверждает наличие флавоноидов. В условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается максимум поглощения в области 392–396 нм, что свидетельствует о целесообразности использования в методике анализа изоройолина, имеющего максимум поглощения при длине волны 394 нм. В результате проведенного исследования разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве Монарды. Определены оптимальные параметры: экстрагент – 60% этиловый спирт, соотношение «сырье–экстрагент» – 1 : 50, время экстракции – 60 мин, аналитическая длина волны при 394 нм. Определено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на изоройолин во всех исследуемых образцах варьирует от 4.53 до 8.73%.

Ключевые слова: монарда, *Monarda*, трава, флавоноиды, изоройолин, линарин, димидин, спектрофотометрия, хроматографический анализ.

Введение

Родина рода Монарда (*Monarda* L.) семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) – Южная Америка и восточная часть Северной Америки. Культивируются растения рода Монарда в европейской части России, на Урале, в Сибири, на Дальнем Востоке, в Средней Азии, Северном Кавказе, в Крыму, Молдове и на Украине [1–3]. В условиях культуры виды рода *Monarda* выращиваются для озеленения и декорирования приусадебных участков, в кулинарии применяются для ароматизации вермутов, консервирования овощей, в качестве пряной приправы, а также как чайный напиток, для парфюмерно-косметического производства – в качестве отдушки для мыла и косметических изделий [1, 4].

В основном представители рода Монарда известны как ценные эфиромасличные растения [5–11].

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии,
e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru
Лапина Анастасия Сергеевна – аспирант,
e-mail: nastylapochka@mail.ru

В зависимости от места и условий произрастания в траве монарды может преобладать тимол или карвакрол, гераниол [7, 12–14]. За счет действующих веществ эфирного масла трава монарды обла-

* Автор, с которым следует вести переписку.

дает высокой бактерицидной, фунгицидной, антигельминтной, иммуномодулирующей, антисеборейной активностью [15–19]. По литературным данным, настои травы монарды проявляют антиоксидантную и противовоспалительную активность [4, 15, 20–22].

Одной из малоизученных групп соединений травы монарды выступают флавоноиды. Результаты хроматографических исследований на кафедре фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института и Никитского ботанического сада свидетельствуют о наличии в монарде дудчатой гесперидина, диосмина, кверцетина, лютеолина и рутина. Определено содержание суммы флавоноидов в спиртовых извлечениях из сырья, полученных с использованием спирта этилового 70%, которое достигает $2.148 \pm 0.00018\%$ в пересчете на лютеолин [23].

Имеется опыт количественного определения суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин [24]. При этом авторы извлечение из монарды дудчатой получали методом трехкратной экстракции спиртом этиловым 70%. Содержание флавоноидов в траве монарды дудчатой достигает $0.48\% \pm 0.01$ в пересчете на рутин [24].

В Башкирском государственном медицинском университете в результате хроматографического анализа водно-спиртовых растворов травы монарды методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) были обнаружены лютеолин, нарингенин, лютеолин-7-глюкозид, гиперозид, рутин, галловая кислота, катехин, хлорогеновая кислота. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин проводили методом дифференциальной спектрофотометрии в соотношении «сырье–экстрагент» – 1 : 30, применяя двойную экстракцию [9, 25].

В связи с противоречивостью литературных данных целью работы являлось сравнительное изучение флавоноидного состава травы некоторых представителей рода Монарда в качестве перспективного источника биологически активных соединений.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования выступала трава нескольких видов монард: монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.), монарды двойчатой (*Monarda didyma* L.), монарды хаотической (*Monarda bradburiana* L. Bask.), монарды серединной (*Monarda* × *medioides* W.H.Duncan), монарды лимонной (*Monarda citriodora* L.). Образцы были собраны в июле 2018 г. в Ботаническом саду Самарского университета в период массового цветения и высушены до воздушно-сухого состояния. Для проведения анализа получали водно-спиртовые извлечения исследуемого сырья в соотношении 1 : 50 на 60%-ном этиловом спирте для качественной (тонкослойная хроматография) и количественной оценки (спектрофотометрия).

Выделение индивидуальных веществ из травы монарды дудчатой проводили с использованием колонной хроматографии на силикагеле L 40/100 в условиях градиентного элюирования смесью растворителей хлороформ–этанол в различных соотношениях. Для количественного определения флавоноидов в траве исследуемых видов рода Монарда использовали метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на реакции комплексообразования флавоноидов с раствором алюминия хлорида [26]. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena). Расчет суммы флавоноидов осуществляли с использованием удельного показателя поглощения комплекса изороифолина с 3% спиртовым раствором алюминия хлорида.

ТСХ осуществляли с использованием хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ», микропипеткой наносили 0.02 мл водно-спиртовых извлечений исследуемых видов, а также раствор изороифолина. Рядом микропипеткой наносили 0.01 мл растворы свидетелей – стандартный образец (СО) цинарозида (лютеолин-7-глюкозид), рутин (3-О-рутинозид кверцетина), кверцетин, лютеолин. Определение проводили в системе *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2) и хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3). Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 24 ч смесью растворителей, и хроматографировали восходящим способом.

Полученную хроматограмму просматривали при дневном свете, в УФ-свете при $\lambda=254$ нм и $\lambda=366$ нм, а также обрабатывали 3% спиртовым раствором алюминия хлорида ($AlCl_3$) и щелочным раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК).

Содержание суммы флавоноидов в сырье исследуемых видов рода Монарда проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 392 нм в пересчете на изороифолина. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на выделенный флавоноид и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 25 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора изороифолина; m – масса сырья, г; m_0 – масса изороифолина, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

Обсуждение результатов

По результатам проводимых нами хроматографических исследований выявлен ряд особенностей хроматографических профилей изучаемых объектов. Отмечается, что наиболее информативными являются хроматограммы, просматриваемые при длине волны 366 нм до и после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$. В качестве стандартов использовались не только вещества, обнаруживаемые ранее в разных видах монарды, а также изороифолин, выделенный из монарды дудчатой методом колоночной хроматографии.

Флавоноиды **1-3**, выделенные из травы монарды дудчатой, идентифицированы с использованием УФ-, 1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов кислотного гидролиза как изороифолин (7-О-рутинозид апигенина), линарин (7-О-рутинозид акацетина) и дидимин (7-О-рутинозид изосакуранетина) (рис. 1 и 2), которые не были известны для данного вида. Линарин (**2**) и дидимин (**3**) ранее были выделены из травы монарды двойчатой (*Monarda didyma* L.) [27].

Спектральные и физико-химические характеристики выделенных веществ представлены в таблице 1.

Методом ТСХ в присутствии растворов стандартных образцов не подтверждено наличие цинарозида, рутина, кверцетина, лютеолина в извлечениях из образцов изучаемых видов монард. С использованием колоночной хроматографии на силикагеле L 40/100 выделено два флавоноидных вещества – изороифолин (7-О-рутинозид апигенина) и линарин (7-О-рутинозид акацетина), имеющие в системе растворителей *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2) величины Rf около 0.5 и 0.6 соответственно (рис. 3).

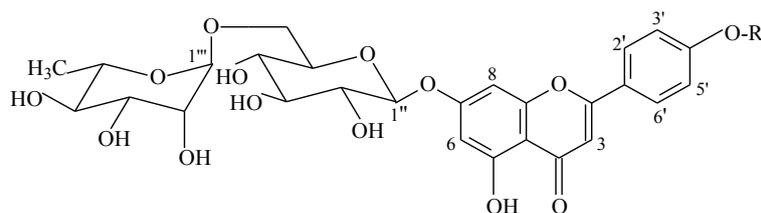


Рис. 1. Флавоноиды, выделенные из травы монарды дудчатой: R=H: Изороифолин (**1**); R=CH₃: Линарин (**2**)

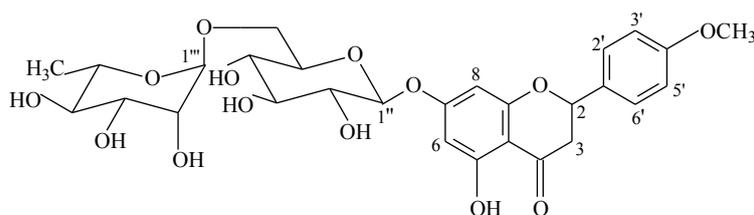


Рис. 2. Флавоноид дидимин (**3**), выделенный из травы монарды дудчатой

Таблица 1. Характеристики веществ, выделенных из травы монарды дудчатой методом колоночной хроматографии

№ п/п	Название соединения	Физико-химические характеристики
1	Изороифолин C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	Кристаллическое вещество светло-желтого цвета, T _{пл} 257–260 °С (водный спирт). λ _{max} EtOH 270, 340 нм; +NaOAc 270, 340 нм; +NaOAc+H ₃ BO ₃ 270, 405 нм; +AlCl ₃ 278, 308, 345, 384 нм; +AlCl ₃ +HCl 278, 308, 345, 384 нм; +NaOMe 254, 269, 400 нм.
2	Линарин C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	Кристаллическое вещество белого цвета, T _{пл} 260 °С (разл.) (водный спирт). λ _{max} EtOH 272, 330 нм; +NaOAc 272, 330 нм; +NaOAc+H ₃ BO ₃ 272, 330 нм; +AlCl ₃ 280, 384 нм; +AlCl ₃ +HCl 280, 384 нм; +NaOMe 287, 372 (пл) нм.
3	Дидимин C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	Кристаллическое вещество белого цвета, T _{пл} 260 °С (разл.) (водный спирт). λ _{max} EtOH 226, 284, 325 пл.; +NaOAc 226, 284, 325 пл.; +NaOAc+H ₃ BO ₃ 226, 284, 325 пл.; +AlCl ₃ 285, 385 пл.; +AlCl ₃ +HCl 285, 385 пл.; NaOMe 287, 380 (пл.) нм.

Выделенный из травы монарды дудчатой флавоноид дидимин методом ТСХ не обнаруживается ввиду невысокого содержания.

При сравнительном изучении электронных спектров водно-спиртовых извлечений из травы некоторых видов растений рода Монарда (монарды дудчатой, монарды двойчатой, монарды хаотической, монарды серединной, монарды лимонной) обнаруживаются характерные для флавоноидов, в частности флавонов, 2 максимума поглощения – около 270 нм и 330 нм, что подтверждается bathochromным сдвигом длинноволновой полосы в присутствии $AlCl_3$, а также данными дифференциальных спектров с максимумом поглощения 392–396 нм (рис. 4–13).

Нами было выявлено, что выделенный из травы монарды флавоноид во многом определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из травы монарды, а значит, является диагностически значимым веществом для данного вида сырья. Принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора выделенного флавоноида и водно-спиртового извлечения травы монарды дудчатой находятся в области 394 нм (дифференциальный вариант), целесообразным является определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на выделенный флавоноид при длине волны 394 нм (рис. 14, 15).

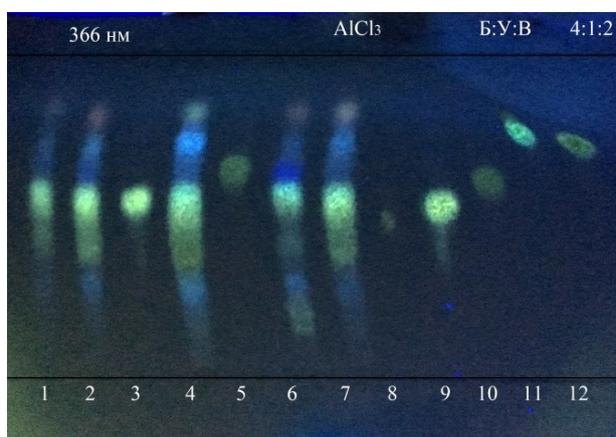


Рис. 3. Хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений травы некоторых видов рода Монарда в системе растворителей *n*-бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 2), детекция в УФ-свете при длине волны 366 нм после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$. Обозначения:

1 – монарда серединная; 2 – монарда хаотическая; 3 – изороиолин; 4 – монарда дудчатая; 5 – цинарозид; 6 – монарда двойчатая; 7 – монарда лимонная; 8 – рутин; 9 – изороиолин; 10 – цинарозид; 11 – кверцетин; 12 – лютеолин

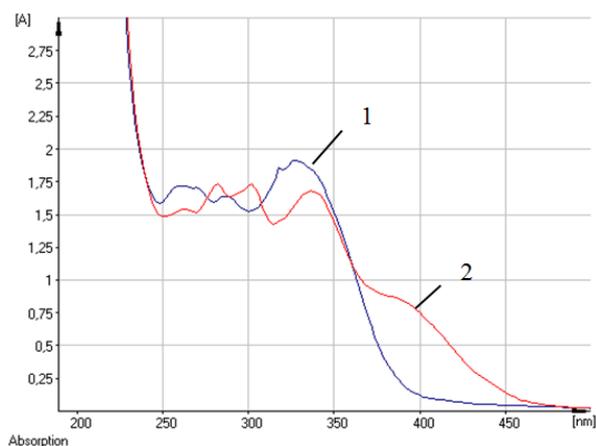


Рис. 4. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы монарды хаотической : 1 – раствор извлечения, 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

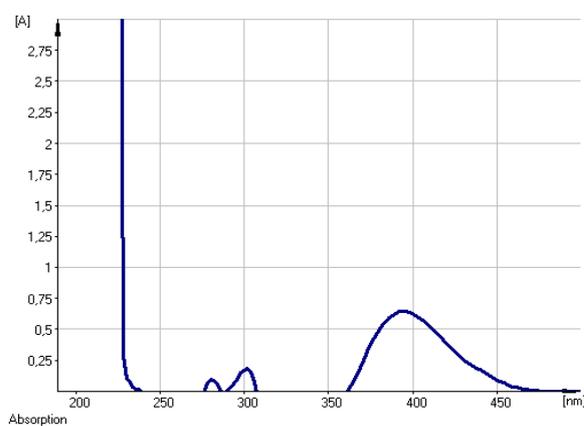


Рис. 5. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы монарды хаотической (дифференциальный вариант)

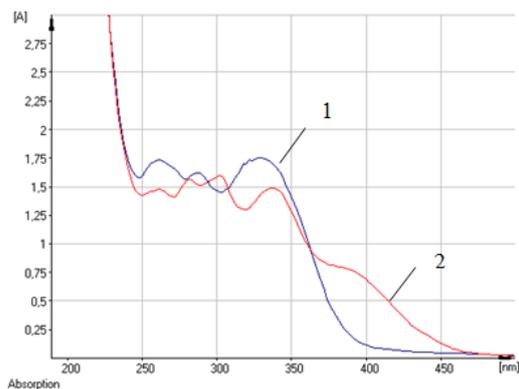


Рис. 6. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы монарды лимонной: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

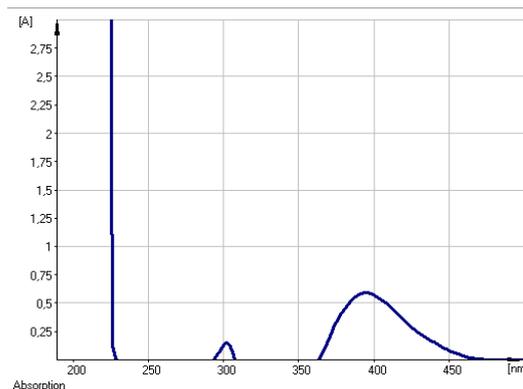


Рис. 7. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы монарды лимонной (дифференциальный вариант)

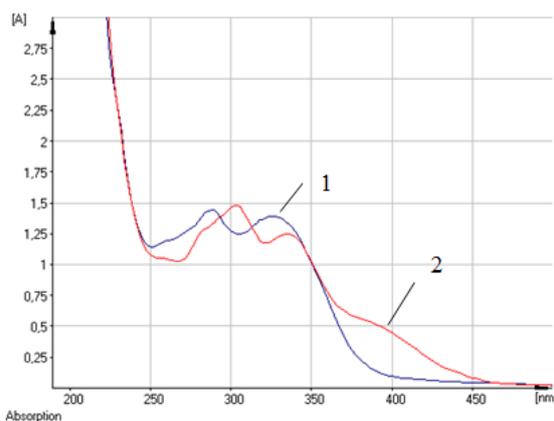


Рис. 8. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы монарды двойчатой: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

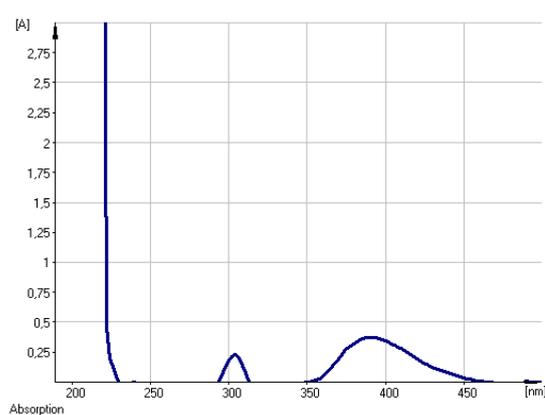


Рис. 9. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы монарды двойчатой (дифференциальный вариант)

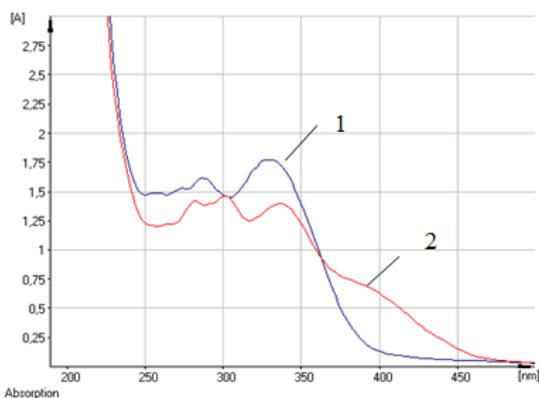


Рис. 10. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы монарды дудчатой: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

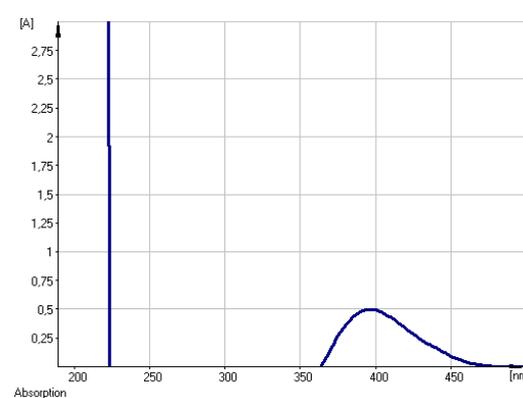


Рис. 11. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы монарды дудчатой (дифференциальный вариант)

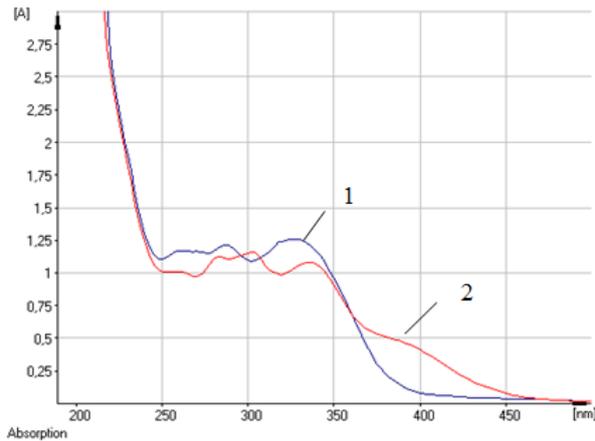


Рис. 12. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы монарды срединной: 1 – раствор извлечения, 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

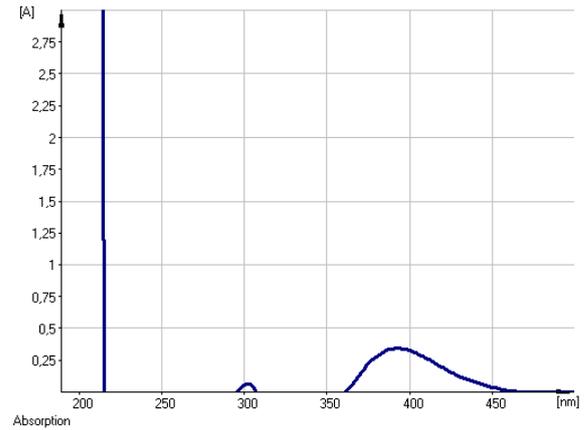


Рис. 13. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы монарды срединной (дифференциальный вариант)

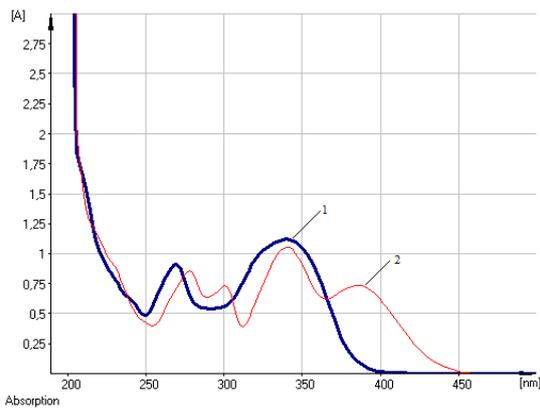


Рис. 14. Электронные спектры спиртовых растворов изоройфолина: 1 – исходный раствор, 2 – раствор с добавлением алюминия хлорида

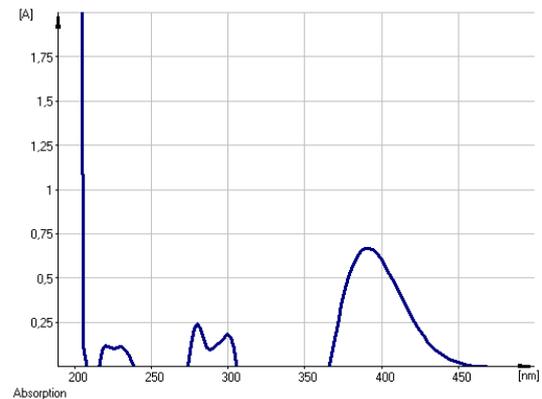


Рис. 15. Электронный спектр раствора изоройфолина (дифференциальный вариант)

В ходе разработки методики нами определено, что важными параметрами являются: 60% этиловый спирт, соотношение «сырье–экстрагент» – 1 : 50, время экстракции – 60 мин, аналитическая длина волны при 394 нм.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве монарды. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 60% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до ± 0.01 . Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 394 нм через 40 мин после приготовления. В качестве раствора сравнения раствор, полученный следующим образом: 1 мл извлечения (1 : 50) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора спиртом этиловым 96% до метки.

Примечание. Приготовление раствора выделенного вещества. Около 0.0040 г (точная навеска) изороифолина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70% этиловым спиртом до метки (раствор А изороифолина). 5 мл раствора А изороифолина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор Б изороифолина). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 394 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 5 мл раствора А изороифолина помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б изороифолина).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на изороифолин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 25 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора изороифолина; m – масса сырья, г; m_0 – масса СО изороифолина, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца изороифолина целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения – 195.

$$x = \frac{D \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 195 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 195 – удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) изороифолина при 394 нм; W – потеря в массе при высушивании, %.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве монарды представлены в таблице 2. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в траве монарды с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 4.65\%$ (табл. 2).

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов травы монарды дудчатой и выделенного вещества с алюминием хлоридом. Линейность методики определяли для серии растворов изороифолина (с концентрациями в диапазоне от 0.01272 до 0.03816 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0.99986.

Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора выделенного вещества с известной концентрацией (25%, 50% и 75%) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 97%.

Содержание суммы флавоноидов в траве исследуемых видов рода Монарда, определенное методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 394 нм, представлено в таблице 3.

Таблица 2. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в траве монарды

f	\bar{X}	S	P, %	t (P,f)	$\pm X$	E, %
10	6.38	0.1332	95	2.23	± 0.11	± 4.65

Таблица 3. Содержание суммы флавоноидов в исследуемых видах рода Монарда

Образец сырья	Оптическая плотность, D	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на изороифолин и а.с.с., %
Трава монарды дудчатой	0.4996	6.36 \pm 0.11
Трава монарды серединной	0.3431	4.53 \pm 0.06
Трава монарды хаотической	0.6472	8.73 \pm 0.10
Трава монарды двойчатой	0.3715	5.06 \pm 0.08
Трава монарды лимонной	0.5906	7.80 \pm 0.09

Содержание суммы флавоноидов для исследуемых образцов варьирует от 4.53 до 8.73% (в пересчете на изоройолин). Определено, что наибольшее содержание суммы флавоноидов обнаруживается в траве монарды хаотической (табл. 3).

Выводы

1. Проведенное сравнительное хроматографическое исследование позволило выявить наличие флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях из травы. Однако при этом не обнаружены рутин, цинарозид, лютеолин, кверцетин, описанные в литературе для видов рода *Monarda*: дудчатой, двойчатой, лимонной, серединной, хаотической.

2. С использованием колоночной хроматографии из травы монарды дудчатой впервые выделены изоройолин (7-О-рутинозид апигенина), линарин (7-О-рутинозид акацетина) и дидимин (7-О-рутинозид изосакуранетина), идентифицированные на основании данных УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результатов кислотного гидролиза. Соединения линарин и дидимин ранее выделялись из рода Монарда, а именно из монарды двойчатой (*Monarda didyma* L.).

3. Во всех электронных спектрах исследуемых образцов при добавлении спиртового раствора AlCl₃ обнаруживается батохромный сдвиг длинноволновой полосы, что свидетельствует о вкладе флавоноидов в кривую поглощения УФ-спектров. В условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается максимум поглощения в области 392–396 нм. Это дает основание применять методику определения содержания суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 394 нм в пересчете на изоройолин для всех исследуемых видов рода Монарды.

4. На основании сравнительного исследования электронных спектров водно-спиртовых извлечений травы Монарда разработана методика количественного определения суммы флавоноидов, заключающаяся в использовании 60% спирта этилового, экстракции в течение 60 мин в соотношении «сырье–экстрагент» – 1 : 50 при аналитической длине волны 394 нм.

5. Определено, что содержание суммы флавоноидов для исследуемых образцов варьирует от 4.53 до 8.73%.

6. Таким образом, род Монарда является перспективным источником лекарственного растительного сырья и может служить источником биологически активных соединений – флавоноидов.

Список литературы

1. Анищенко И.Е. Нетрадиционные пряно-ароматические растения семейства *Lamiaceae* в Башкортостане // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. №6. С. 35–38.
2. Машенко З.Е. Фитохимическое исследование и стандартизация тимолсодержащих растений семейства Яснотковых: дис. ... канд. фарм. наук. Пермь, 2004. 119 с.
3. Linnaei C. Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. Holmiae: L. Salvius, 1753. Vol. 1. 560 p. DOI: 10.5962/bhl.title.11179.
4. Харченко В.А., Беспалько Л.В., Гинс В.К., Гинс М.С., Байков А.А. Монарда – ценный источник биологически активных соединений // Овощи России. 2015. №1(26). С. 31–35.
5. Анищенко Е.И., Пупыкина К.А., Красюк Е.В., Жигунов О.Ю. Компонентный состав эфирных масел некоторых представителей рода *Monarda* L., интродуцированных в Республике Башкортостан // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. №3. С. 71–76.
6. Логвиненко Л.А., Хлыпенко Л.А., Марко Н.В. Ароматические растения семейства *Lamiaceae* для фитотерапии // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4. №4. С. 34–47. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-4-34-47.
7. Корчашкина Н.В. Биологические особенности роста и развития видов рода Монарда (*Monarda* L.) в условиях нечерноземной зоны Российской Федерации: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2009. 23 с.
8. Красюк Е.В., Пупыкина К.А. Сезонная динамика накопления эфирных масел в видах монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан // Евразийский Союз Ученых. 2015. №3(12). С. 154–155.
9. Красюк Е.В., Пупыкина К.А., Анищенко И.Е. Характеристика фенольных соединений видов монарды, интродуцированных в Республике Башкортостан // Башкирский химический журнал. 2015. Т. 22. №3. С. 79–83.
10. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Самара, 2016. 1279 с.
11. Опарин Р.В., Покровский Л.М., Высочина Г.И., Ткачев А.В. Исследование химического состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. и *Monarda didyma* L., культивируемых в условиях Западной Сибири // Химия растительного сырья. 2000. №3. С. 19–24.

12. Дмитриева В.Л., Дмитриев Л.Б. Изучение состава эфирных масел эфиромасличных растений нечерноземной зоны России // Известия ТСХА. 2011. №3. С. 106–119.
13. Федотов С.В. Эфирные масла монард видов *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* Cervantes Ex Lag., их хемотипы и биологическая активность // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 2015. №141. С. 131–147.
14. Хлыпенко Л.А., Логвиненко Л.А., Шевчук О.М., Феськов С.А., Марко Н.В. Малораспространенные ароматические растения как источник эфирных масел широкого спектра действия // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 2015. №141. С. 110–117.
15. Науменко Е.Н., Жилыкова Е.Т., Новиков О.О., Кричковская Л.В., Тимошенко Е.Ю., Ступаков А.Г. Исследование иммуномодулирующей активности эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2012. №21-1(140). С. 154–158.
16. Жилыкова Е.Т., Новиков О.О., Науменко Е.Н., Кричковская Л.В., Полухина Т.С., Тимошенко Е.Ю., Новикова М.Ю., Литвинов С.А. Исследование низкомолекулярных биологически активных соединений растительного происхождения как перспективных агентов для профилактики и лечения себореи // Кубанский научный медицинский вестник. 2010. №8(122). С. 68–72.
17. Заславская А.А., Дмитрук В.И., Злобинец А.С. Использование ароматерапии для лечения и профилактики острых респираторных заболеваний у детей // Актуальная инфектология. 2017. Т. 5. №2. С. 101–111.
18. Николаевский В.В. Ароматерапия: справочник. М.: Медицина, 2000. 336 с.
19. Жилыкова Е.Т., Новиков О.О., Науменко Е.Н., Кузьмичева О.А., Бочарова К.А., Титарева Л.В. Исследование антимикробной и противовоспалительной активности новой лекарственной формы с маслом монарды // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2013. №25(168). Вып. 24/1. С. 198–201.
20. Красюк Е.В., Макарова Н.Н., Петрова И.В., Пупыкина К.А., Валеева Л.А. Оценка фармакологической активности видов монарды, интродуцированной в Республике Башкортостан // Медицинский вестник Башкортостана. 2015. Т. 10. №5(59). С. 67–70.
21. Беспалько Л.В., Байков А.А., Гинс М.С., Гинс В.К. Содержание антиоксидантов в листьях монарды лимонной в зависимости от яруса их расположения на растении // Материалы XI международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». Пушино, 2015. С. 114–118.
22. Беспалько Л.В., Байков А.А., Гинс В.К., Харченко В.А., Ушакова И.Т. Антиоксидантная активность водных экстрактов монарды дудчатой // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. 2017. С. 88–95.
23. Богданова М.Н., Феськов С.А. Исследование флавоноидов травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.), интродуцированной в Никитском ботаническом саду // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. Волгоград, 2017. С. 787.
24. Саргсян Е.Э., Никитина А.С., Степанюк С.Н. Изучение флавоноидов травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) // Беликовские чтения. Пятигорск, 2015. С. 128–129.
25. Красюк Е.В., Пупыкина К.А. Качественный анализ и разработка методики количественного определения флавоноидов в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан // Медицинский вестник Башкортостана. 2016. Т. 11. №5(65). С. 73–77.
26. Шагалиева Н.Р. Экспериментальное обоснование методик качественного и количественного анализа нового комплексного лекарственного фитопрепарата для челюстно-лицевой хирургии и стоматологии // Аспирантский вестник Поволжья. 2011. №5–6. С. 276–279.
27. Wagner H., Hörhammer L., Aurnhammer G., Farkas L. Strukturaufklärung von didymin, einem isosakuranetin-rutinosid aus *Monarda didyma* L. // Tetrahedron Letters. 1967. Vol. 8. N19. Pp. 1837–1839.

Поступила в редакцию 27 июня 2019 г.

После переработки 11 декабря 2019 г.

Принята к публикации 31 января 2020 г.

Для цитирования: Куркин В.А., Лапина А.С. Обоснование методик качественного и количественного определения флавоноидов в траве видов рода Монарда // Химия растительного сырья. 2020. №2. С. 159–169. DOI: 10.14258/jcprm.2020026082.

Kurkin V.A.*, Lapina A.S. JUSTIFICATION OF THE METHODS FOR THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN THE GRASS OF SPECIES OF THE GENUS MONARDA

Samara State Medical University, ul. Chapayevskaya, 89, Samara, 443099 (Russia), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

The herb of plants of the genus *Monarda* L. is most often known for its essential oil the main components of which are thymol and carvacrol. However flavonoids contained in the raw materials of this plant are of great interest. The literature reports on the presence in the herb of species of the genus *Monarda* L. quercetin, luteolin, rutin, hesperidin, naringinin; however, these data are contradictory. It is known that when determining the content of the amount of flavonoids, recalculation is carried out in different cases for luteolin or rutin, which have different spectrum characteristics. This paper discusses the results of a comparative study of the flavonoid composition of some species of the genus *Monarda*: *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda bradburiana* L. Back., *Monarda citriodora* L., *Monarda* × *medioides* W.H.Duncan as a promising source of biologically active compounds. As a result of a comparative chromatographic study, the presence of flavonoids was detected upon detection at a wavelength of 366 nm and after treatment with an alcohol solution of aluminum chloride. In all treatments, the presence of cynaroside, rutin, quercetin, luteolin is not confirmed. Using column chromatography on silica gel L 40/100, from the herb of *Monarda fistulosa* the flavonoid substances for the first time were isolated – isorhoifolin (7-O-rutinoside of apigenin) and linarin (7-O-rutinoside of acacetin), which have *n*-butanol–acetic acid–water (4 : 1 : 2) in the solvent system R_f values are about 0.5 and 0.6, respectively, and also dimyidin (7-O-rutinoside of sakuranetin). It was determined that in all UV spectra of extracts from herb of studied species of the genus *Monarda* of the species, a bathochromic shift of the long-wavelength band is observed in the presence of 3% alcoholic solution aluminum chloride, which confirms the presence of flavonoids. Under the conditions of differential spectrophotometry, an absorption maximum is observed in the region of 392–396 nm, which indicates the feasibility of using isorhoifolin in the analysis technique with an absorption maximum at a wavelength of 394 nm. As a result of the work a method of quantitative determination of the amount of flavonoids of the herb of the *Monarda* has been developed. The optimal parameters were determined: 60% ethyl alcohol, the ratio of "raw material to extractant" – 1 : 50, extraction time – 60 minutes, analytical wavelength at 394 nm. It was determined that the content of the total of flavonoids calculated on isorhoifolin in all samples studied varies from 4.53% to 8.73%.

Keywords: *Monarda*, herb, flavonoids, isorhoifolin, linarin, didymin, spectrophotometry, chromatographic analysis.

References

1. Anishchenko I.Ye. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2009, no. 6, pp. 35–38. (in Russ.).
2. Mashchenko Z.Ye. *Fitokhimicheskoye issledovaniye i standartizatsiya timolsoderzhashchikh rasteniy semeystva Yasnotkovykh: dis. ... kand. farm. nauk.* [Phytochemical research and standardization of thymol-containing plants of the Yasnotkov family: dis. ... cand. Pharm. of sciences]. Perm, 2004, pp. 119. (in Russ.).
3. Linnaeus C. *Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas.* Holmiae: L. Salvius, 1753, vol. 1, 560 p. DOI: 10.5962/bhl.title.11179.
4. Kharchenko V.A., Beshpal'ko L.V., Gins V.K., Gins M.S., Baykov A.A. *Ovoshchi Rossii*, 2015, no. 1(26), pp. 31–35. (in Russ.).
5. Anishchenko Ye.I., Pupykina K.A., Krasnyuk Ye.V., Zhigunov O.Yu. *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN*, 2017, no. 3, pp. 71–76. (in Russ.).
6. Logvinenko L.A., Khlypenko L.A., Marko N.V. *Farmatsiya i farmakologiya*, 2016, vol. 4, no. 4, pp. 34–47. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-4-34-47. (in Russ.).
7. Korchashkina N.V. *Biologicheskiye osobennosti rosta i razvitiya vidov roda Monarda (Monarda L.) v usloviyakh nechernozemnoy zony Rossiyskoy Federatsii: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk.* [Biological features of the growth and development of species of the genus *Monarda* (*Monarda* L.) in the non-chernozem zone of the Russian Federation: author. dis. ... cand. biological sciences]. M., 2009, 23 p. (in Russ.).
8. Krasnyuk Ye.V., Pupykina K.A. *Yevraziyskiy Soyuz Uchenykh*, 2015, no. 3(12), pp. 154–155. (in Russ.).
9. Krasnyuk Ye.V., Pupykina K.A., Anishchenko I. Ye. *Bashkirskiy khimicheskii zhurnal*. 2015, vol. 22, no. 3, pp. 79–83.
10. Kurkin V.A. *Farmakognosiya: Uchebnyk dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov)*. [Pharmacognosy: Textbook for students of pharmaceutical universities (faculties)]. Samara, 2016, 1279 p. (in Russ.).
11. Oparin R.V., Pokrovskiy L.M., Vysochina G.I., Tkachev A.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2000, no. 3, pp. 19–24. (in Russ.).
12. Dmitriyeva V.L., Dmitriyev L.B. *Izvestiya TSKHA*, 2011, no. 3, pp. 106–119. (in Russ.).
13. Fedotov S.V. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*, 2015, no. 141, pp. 131–147. (in Russ.).
14. Khlypenko L.A., Logvinenko L.A., Shevchuk O.M., Fes'kov S.A., Marko N.V. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*, 2015, no. 141, pp. 110–117. (in Russ.).
15. Naumenko Ye.N., Zhilyakova Ye.T., Novikov O.O., Krichkovskaya L.V., Timoshenko Ye.Yu., Stupakov A.G. *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Yestestvennyye nauki*, 2012, no. 21–1(140), pp. 154–158. (in Russ.).
16. Zhilyakova Ye.T., Novikov O.O., Naumenko Ye.N., Krichkovskaya L.V., Polukhina T.S., Timoshenko Ye.Yu., Novikova M.Yu., Litvinov S.A. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik*, 2010, no. 8(122), pp. 68–72. (in Russ.).
17. Zaslavskaya A.A., Dmitruk V.I., Zlobinets A.S. *Aktual'naya infektologiya*, 2017, vol. 5, no. 2, pp. 101–111. (in Russ.).
18. Nikolayevskiy V.V. *Aromaterapiya: Spravochnik*. [Aromatherapy: A Guide]. Moscow, 2000, 336 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

19. Zhilyakova Ye.T., Novikov O.O., Naumenko Ye.N., Kuz'micheva O.A., Bocharova K.A., Titareva L.V. *Nauchnyye vedomosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya*, 2013, no. 25(168), pp. 198–201. (in Russ.).
20. Krazyuk Ye.V., Makarova N.N., Petrova I.V., Pupykina K.A., Valeyeva L.A. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*, 2015, vol. 10, no. 5(59), pp. 67–70. (in Russ.).
21. Bepal'ko L.V., Baykov A.A., Gins M.S., Gins V.K. *Materialy XI mezhdunarodnogo simpoziuma «Novyye i netraditsionnyye rasteniya i perspektivy ikh ispol'zovaniya»*. [Materials of the XI international symposium "New and unconventional plants and prospects for their use"]. Pushchino, 2015, pp. 114–118. (in Russ.).
22. Bepal'ko L.V., Baykov A.A., Gins V.K., Kharchenko V.A., Ushakova I.T. *Novyye i netraditsionnyye rasteniya i perspektivy ikh ispol'zovaniya*. 2017, pp. 88–95. (in Russ.).
23. Bogdanova M.N., Fes'kov S.A. *Aktual'nyye problemy eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny*. [Actual problems of experimental and clinical medicine]. Volgograd, 2017, pp. 787. (in Russ.).
24. Sargsyan Ye.E., Nikitina A.S., Stepanyuk S.N. *Belikovskiy chteniya*. [Belikov readings]. Pyatigorsk, 2015, pp. 128–129. (in Russ.).
25. Krazyuk Ye.V., Pupykina K.A. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*, 2016, vol. 11, no. 5(65), pp. 73–77. (in Russ.).
26. Shagaliyeva N.R. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*, 2011, no. 5–6, pp. 276–279. (in Russ.).
27. Wagner H., Hörhammer L., Aurnhammer G., Farkas L. *Tetrahedron Letters*, 1967, vol. 8, no. 19, pp. 1837–1839.

Received June 27, 2019

Revised December 11, 2019

Accepted January 31, 2020

For citing: Kurkin V.A., Lapina A.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 2, pp. 159–169. (in Russ.).
DOI: 10.14258/jcprm.2020026082.

