

УДК 615.322; 543.429.23; 543.544.5.068.7; 615.07;615.243

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СУХОГО ЭКСТРАКТА «РОЗМАТИН» ИЗ ТРАВЫ ЗМЕЕГОЛОВНИКА МОЛДАВСКОГО

© *О.П. Шейченко^{1*}, В.И. Шейченко¹, С.В. Горяинов², Е.В. Звездина¹, Е.Н. Курманова¹,
Е.В. Ферубко¹, Е.В. Уютова¹, О.Г. Потанина², Фади Хажжар²*

¹ *Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных
и ароматических растений, ул. Грина, 7, Москва, 117216 (Россия),
e-mail: sheychenko@vilarnii.ru*

² *Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва,
117198 (Россия)*

Змееголовник молдавский (*Dracocephalum moldavica* L.) – однолетнее травянистое растение. В ФГБНУ ВИЛАР выведен новый сорт змееголовника молдавского «Нежность». Из травы змееголовника молдавского разработана технология получения сухого очищенного экстракта, получившего условное название «Розматин».

Методами ЯМР (¹H и ¹³C) и ВЭЖХ-УФ-МС с использованием стандартных образцов и литературных данных установлен химический состав и количественное содержание компонентов сухого экстракта «Розматин». В результате исследований идентифицированы следующие фенольные соединения: розмариновая, кофейная и феруловая кислоты, розмариновая кислота-3-O-β-D-глюкозид, лютеолин-7-O-β-D-глюкуронид, акацетин-7-O-β-D-глюкозид (тилианин), апигенин-7-O-β-D-глюкозид (космосиин), апигенин-7-O-β-D-глюкуронид, апигенин-7-O-β-D-(6"-O-малонил)глюкозид, хризозериол-7-O-β-D-глюкуронид, акацетин-7-O-β-D-глюкуронид, акацетин-7-O-β-D-(6"-малонил)глюкозид, шизотенуин F. Нами выделены и идентифицированы лютеолин-7-O-β-D-глюкуронид и акацетин-7-O-β-D-глюкозид (тилианин). Установлено, что содержание розмариновой кислоты в «Розматине» составляет 56.6%, а суммы флавоноидов – около 27%. Проведено изучение противовоспалительной и гастропротективной активности «Розматина» в дозах 10 мг/кг, 100 мг/кг. Выявлен дозозависимый противовоспалительный эффект с подавлением развития экссудативной фазы воспаления, а также дозозависимое гастропротективное действие «Розматина», существенно превышающее аналогичное действие препарата референта омепразола. Ранее было установлено, что «Розматин» обладает тонизирующим действием на сердечно-сосудистую и нервную системы.

Ключевые слова: *Dracocephalum moldavica* L., змееголовника молдавского трава, сухой экстракт «Розматин», ¹H- и ¹³C-ЯМР, ВЭЖХ-УФ-МС, полифенолы, флавоноиды (флавоны), флавоноидные гликозиды, фенилпропаноиды, розмариновая, кофейная и феруловая кислоты, розмариновая-кислота-3-O-β-D-глюкозид, шизотенуин F, противовоспалительная и гастропротективная активность.

Введение

Растения рода Змееголовник (*Dracocephalum*) семейства Яснотковых (*Lamiaceae*) с древних времен использовали в традиционной медицине в качестве отхаркивающего, ранозаживляющего, противовоспалительного, успокаивающего и болеутоляющего средства при учащенном сердцебиении, головной боли, про-

Шейченко Ольга Петровна – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник отдела химии природных соединений, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

Шейченко Владимир Иванович – кандидат физико-математических наук, ведущий научный сотрудник отдела химии природных соединений, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

Горяинов Сергей Владимирович – заведующий лабораторией масс-спектрометрии высокого разрешения и спектроскопии ЯМР, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

Окончание на С. 254.

студных заболеваний, при лечении ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии [1]. Высокая биологическая активность змееголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.) обусловлена содержанием в его составе биологически активных полифенольных соединений: флавоноидов флавонового типа, флавоноидных гликозидов, таннинов, антоцианов, фенилпропаноидов [1–18],

* Автор, с которым следует вести переписку.

особого внимания среди которых заслуживает розмариновая кислота, обладающая, согласно литературным данным, антиоксидантным, гепатопротекторным, кардиопротекторным, нефропротекторным, иммуномодулирующим, антиаллергическим и противоопухолевым эффектами. Она ингибирует активность ацетилхолинэстеразы, глутатионредуктазы, снижает генотоксическое и цитотоксическое действие ионизирующей радиации [2].

По методике, описанной в патенте [19], из травы змееголовника молдавского был получен сухой экстракт «Розматин», обладающий активирующим, тонизирующим действием на сердечно-сосудистую и нервную системы. Цель данного исследования – установление химического состава и количественного содержания полифенольных соединений «Розматина» с использованием ЯМР- и ВЭЖХ-УФ-МС-методов, а также получение новых знаний о его биологической активности.

Экспериментальная часть

Змееголовник молдавский – однолетнее травянистое растение семейства яснотковых (*Lamiaceae* Lindl.), произрастающее в диком виде на территории Евразии (Египет, Китай, Центральная Азия, Монголия и Гималаи) и культивируемое в Восточной и Центральной Европе (Россия, Болгария, Румыния, Молдавия, Украина, Белоруссия) как эфиромасличное, медоносное и пряно-ароматическое растение [20].

Морфолого-анатомическое изучение травы змееголовника молдавского проведено в ФГБНУ ВИЛАР. Сырье представляет собой цельные или частично измельченные олиственные стебли с бутонами или цветками, куски стеблей, отдельные листья, бутоны, цветки и незрелые семена. Стебли ветвистые, четырехгранные, продольно-желобчатые, слабоопушенные, с рыхлой белой сердцевинкой, в нижней части полые. Листья супротивные, на коротких черешках, тонкие, продолговато-яйцевидные или продолговато-ланцетовидные, по краям зубчатые, при основании усеченные или клиновидно-суженные, опушенные короткими волосками. Бутоны и цветки на коротких цветоножках собраны в ложные мутовчатые соцветия, расположенные в пазухах верхних листьев, в верхней части стебля сближенных, в нижней – расставленных; прицветные листья продолговато-клиновидные, по краям в нижней половине с тонкими остистыми заострениями. Чашечка двугубая; верхняя губа надрезана на три широкояйцевидных шиловидно-заостренных зубца, нижняя с двумя продолговато-ланцетными шиловидно-заостренными зубцами. Венчик двугубый; верхняя губа однолопастная, нижняя – трехлопастная. Тычинок 4, две из которых короче других. Семена яйцевидные, трехгранные. Цвет листьев серовато-зеленый или зеленый; стеблей серовато-зеленый, желтовато-зеленый, зеленовато-фиолетовый или фиолетовый; чашечек серовато-зеленый, зеленый или зеленовато-фиолетовый; венчиков сине-голубой или сине-фиолетовый [21]. Сырье стандартизовалось по содержанию суммы фенольных соединений в пересчете на розмариновую кислоту методом прямой УФ-спектрофотометрии [22]. Предпочтительнее использовать сырье, заготовленное в фазу массового цветения сорта «Нежность», выведенного в ФГБНУ ВИЛАР и выращенного в Подмоскowie [23, 24]. Этот сорт включен в Госреестр по Российской Федерации для зон возделывания культуры [25].

В качестве объекта исследования использовали сухой экстракт змееголовника молдавского травы «Розматин», полученный заявленным способом [19]. Стандартизация экстракта проводилась методом прямой УФ-спектофотометрии в пересчете на розмариновую кислоту [26].

Звездина Екатерина Владимировна – старший научный сотрудник отдела химии природных соединений, e-mail: catterina@inbox.ru

Курманова Елена Николаевна – научный сотрудник отдела экспериментальной фармакологии, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

Ферубко Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, заведующая отделом экспериментальной фармакологии, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

Уютова Елена Викторовна – научный сотрудник отдела химии природных соединений, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

Потанина Ольга Георгиевна – доктор фармацевтических наук, директор центра научных исследований и разработок, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

Фадн Хажжар – аспирант, e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

В работе использовали стандартные образцы розмариновой (Sigma Aldrich, кат. №536954-5G), хлорогеновой (Sigma Aldrich, кат. 00500590-25MG), кофейной (Sigma Aldrich, кат. 331-39-5) и феруловой кислот (Sigma Aldrich, кат. 537-98-4), лютеолин-7-глюкозида (Sigma Aldrich, кат. 5373-11-5), лютеолина (Sigma Aldrich, кат. 491-70-3), рутина (Sigma Aldrich, кат. 153-18-4), гиперозида (Sigma Aldrich, кат. 482-36-0).

Лютеолин-7-глюкуронид выделен нами и идентифицирован с помощью физико-химических методов анализа: ЯМР-спектрометрия и ВЭЖХ-МС-УФ, использовался как рабочий стандартный образец.

Хроматографический контроль проводили с использованием ТСХ пластин «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системе растворителей: этилацетат – уксусная кислота – вода (40 : 5 : 5), с детектированием в УФ-свете при длине волны 366 нм с последующим опрыскиванием пластин 10% спиртовым раствором алюминия хлорида и прогревании при температуре 105 °С [26].

Получение лютеолин-7-О-β-D-глюкуронида и тилианина проводили из «Розматина» методом колоночной хроматографии.

Выделение лютеолин-7-О-β-D-глюкуронида. «Розматин» в количестве 1.26 г растворяли в 5 мл спирта этилового, смешивали с 10 г полиамида марки «Woelm» и после высушивания наносили на колонку с тем же полиамидом в соотношении 1 : 30 (диаметр колонки 2.5 см). Колонку элюировали последовательно следующими растворителями: этилацетат – гексан (9 : 10) 2 л; этилацетат 1 л; спирт этиловый с 5% хлороформа 300 мл; спирт этиловый с 15% хлороформа 600 мл; 92% спирт этиловый 900 мл; 70% водный спирт этиловый 500 мл. Среди фракций, полученных элюацией 92% и 70% спиртом, отбирали те, которые по данным ТСХ содержали одну зону адсорбции с ярко-желтой флюоресценции с $R_f = 0.53$, их объединяли и упаривали. После перекристаллизации из спирта получали 0.025 г лютеолин-7-О-глюкуронида (т.пл. 242–244 °С, М.м. 462.36 г/моль; $C_{21}H_{18}O_{12}$).

Выделение тилианина. «Розматин» в количестве 1.26 г растворяли в 5 мл спирта этилового и смешивали с 10 г силикагеля L40/100, после высушивания наносили на колонку с этим же силикагелем (уплотняли в хлороформе) в соотношении 1 : 20. Колонку элюировали последовательно смесью хлороформ – этанол в соотношениях 95 : 5; 90 : 10; 80 : 20. Фракции, содержащие доминирующее вещество, объединяли, концентрировали, выпавший осадок отделяли, а затем кристаллизовали из спирта. Таким образом, было получено 0.06 г тилианина (т.пл. 336–338 °С, М.м. 446.4 г/моль; $C_{22}H_{22}O_{10}$) [10].

Идентификацию полученных веществ проводили методами 1H - и ^{13}C -ЯМР, а также ВЭЖХ-МС-УФ.

Спектры ЯМР были получены на спектрометре GEMINI-200 (Varian, США). Время одного накопления (AT) – 1 с. Число накоплений (NT) – 1000 (1H) и 20000 (^{13}C). Для количественных измерений применялась релаксационная задержка (D1) – 2 с. Для сужения сигналов 5-ОН протонов применяли Лоренц-Гауссово преобразование. Химические сдвиги измеряли относительно сигнала растворителя ДМСО- D_6 (δ , м.д.: 1H 2.50; ^{13}C 39.5).

ВЭЖХ-УФ-МС анализ проводили с помощью системы ВЭЖХ Agilent 1290 (Agilent Technologies, Германия), оснащенной насосом, дегазатором и термостатируемым автосэмплером. В качестве детекторов использовали диодную матрицу и tandemный квадрупольный масс-спектрометр Agilent 6430 (QQQ). Объем вводимой в инжектор пробы 10 мкл. Условия ВЭЖХ-разделения: хроматографическая колонка Brownlee SPP C18 2.1 мм×150 мм, 2.7 мкм, подвижная фаза – 0.1% водный раствор муравьиной кислоты (А) и ацетонитрил (В). Скорость подачи элюента – 0.25 мл/мин, градиентный режим: 95% А – 5% В, 5 мин: 95% А – 5% В, 30 мин: 70% А – 30% В, 40 мин: 30% А – 70% В, 45 мин: 10% А – 90% В, 47 мин: 95% А – 5% В, 50 мин: 95% А – 5% В; общее время анализа – 50 мин. УФ-детектирование проводили на длинах волн, характеристичных для полифенолов, 290.0 и 340.0 нм. Регистрацию масс-спектров осуществляли в режиме ионизации электрораспылением (ИЭР) с регистрацией положительных (ИЭР+) и отрицательных (ИЭР-) ионов, поток газа-осушителя – 10 л/мин, температура газа-осушителя – 320 °С, напряжение на фрагменторе – 135 В, на капилляре – 4000 В. Управление сбором и обработкой масс-спектральных данных на всех этапах работы осуществлялось с помощью стандартного программного обеспечения масс-спектрометров фирмы Agilent Technologies («Mass Hunter»). Данная система позволяет полностью автоматизировать настройку масс-детектора, задание и контроль режимных параметров, регистрацию выходных сигналов, обработку экспериментальных данных, включая идентификацию веществ и выдачу результатов анализа.

Идентификацию соединений на хроматограмме «Розматина» осуществляли путем сравнения абсолютных времен удерживания и УФ- и масс-спектров исследуемых веществ с этими же характеристиками известных соединений, используемых в качестве СО в данной работе, а также взятых из опубликованных научных работ, посвященных исследованию подобных образцов методом ВЭЖХ-МС (ВЭЖХ-МС/МС) [4, 7, 11, 12].

Пробоподготовка. 1.0–1.5 мг СО (точная навеска) помещали в стеклянные вials объемом 2 мл, добавляли 1.0 мл метанола и растворяли на УЗ-бане в течение 30 мин. 1.0 мл образца переносили в хроматографическую вialу и исследовали методом масс-спектрометрии с ИЭР для установление масс-спектральных характеристик СО (финальная концентрация растворов СО варьировалась в области 0.10–0.15 мг/мл).

Затем аликвоты СО по 100.0 мкл объединяли и хроматографировали в выбранных условиях ВЭЖХ, устанавливая время выхода каждого компонента.

Навеску образца «Розматина» массой 10.0 мг помещали в пробирку типа «Эппендорф», добавляли 1.0 мл смеси метанол – вода (60 : 40) и проводили экстракцию на УЗ-бане в течение 30 мин. Отмечали полное растворение навески образца в экстрагенте и переносили его в хроматографическую вialу для проведения анализа.

В работе были использованы 32 белые нелинейные мыши самцы с массой тела 19–20 г, а также 32 нелинейные белые крысы самцы с массой тела 200–220 г.

Эксперименты проводили в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP), приказом МЗ РФ №199 от 2016 г. «Об утверждении правил лабораторной практики», «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2012). Исследования одобрены Биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР. Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБНУ «НЦБТ» ФМБА России (Московская область). Животные содержались в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе.

Оценку влияния «Розматина» на экссудативную стадию воспаления проводили на модели 1% формалинового отека в дозах 10 мг/кг, 100 мг/кг при введении экстракта внутривентриально в течение трех дней до введения формалина и через 1 ч после. Препаратом сравнения являлся индометацин – известное нестероидное противовоспалительное средство (таблетки 25 мг «Софарма», Болгария) в дозе 5 мг/кг, который также вводили внутривентриально по аналогичной схеме. Контрольным животным вводили в эквивалентном объеме дистиллированную воду по аналогичной схеме. Экстракт суспендировали в 1% крахмальном клейстере, таблетки индометацина растирали в ступке и суспендировали в 1% крахмальном клейстере. Формалиновый отек вызывали однократным субплантарным введением под апоневроз задней правой лапки мыши 0.05 мл 1% формалина в качестве флогогенного агента. Через три часа, на пике воспаления, животных подвергали эвтаназии в СО₂ камере и регистрировали прирост объема экссудата ампутированных конечностей мышшей (мг). Величину отека определяли по разнице в массе лапок у контрольных и опытных животных и рассчитывали процент угнетения отека по формуле

$$\% \text{ угнетения отека} = \frac{P_k - P_o}{P_k} \cdot 100,$$

где P_k – разность масс лапок с отеком и без отека у животных контрольной группы; P_o – разность масс лапок с отеком и без отека у животных опытной группы. Экспериментальные данные представлены в таблице 1.

Гастропротективные свойства «Розматина» изучали при его внутривентриальном введении крысам в течение трех дней в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг. Препарат сравнения омепразол в дозе 20 мг/кг вводили также в течение трех дней. Экстракт суспендировали в 1% крахмальном клейстере, омепразол растирали в ступке и также суспендировали в 1% крахмальном клейстере. Для воспроизведения патологического состояния слизистой оболочки желудка использовали однократное введение крысам 96% этилового спирта в дозе 1.0 мл на крысу с последующей эвтаназией крыс в СО₂ камере через 1 ч после введения этилового спирта. «Розматин» и препарат сравнения вводили крысам внутривентриально в водном растворе при помощи зонда в утренние часы, за 1 ч до кормления. После забоя крыс желудок и двенадцатиперстную кишку извлекали. Желудок (по большой кривизне) и двенадцатиперстную кишку разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение 1, миллиметровая шкала) производили подсчет площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса и терапевтический эффект. Полученные данные представлены в таблице 2.

Таблица 1. Противовоспалительный эффект «Розматина» при трехдневном введении мышам

Группы животных N=8	Доза, мг/кг, внутрь	Прирост объема экссудата на пике воспаления, мг	Противовоспалительный эффект, %
1. Контроль. 1% крахмальный клейстер	–	155.57±25.37	–
2. «Розматин»	10	118.0±11.69	24.1
3. «Розматин»	100	102.37±1.9*	34.2
4. Индометацин	5	93.0±1.36*	40.2

Примечание: * – различия статистически достоверны по сравнению с контролем при $p \leq 0.05$.

Таблица 2. Влияние «Розматина» и омепразола на экспериментальные язвы желудка крыс, вызванные введением этанола

Группа животных n = 8	Крысы с яз- вами, %	Средняя площадь язвенной поверхности	Индекс Паулса, отклонение %	Терапевтический эффект (ТЭ)
Контроль	100	18.9±2.1	18.9	–
«Розматин» 10 мг/кг	100	1.94±0.8	1.94 89.7	9.74
«Розматин» 100 мг/кг	75	1.25±0.09*	0.94 93.4	20.1
Омепразол 20 мг/кг	100	8.54±0.63*	8.54 54.8	2.21

Примечание: * – достоверные отклонения ($P < 0.05$).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ статистического анализа Statistica 10.0 (StatSoft, США). Для оценки значимости отличий между выборками с распределением, приближающимся к нормальному, использовался t-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимался равным 0.05. Данные представлены в виде $M \pm m$.

Результаты и обсуждение

На основании полученных ЯМР-спектров «Розматина» и стандартных образцов было установлено, что доминирующим компонентом данного экстракта является розмариновая кислота (эфир кофейной и 3,4-дигидроксибензилмолочной кислот). В ^1H ЯМР спектре «Розматина» к ней относятся наиболее интенсивные сигналы: два дублета ($KCCB = 16.0$ Гц) при 6.23 и 7.46 м.д. соответствуют винильным протонам, мультиплет при 5.01 м.д. – остатку бензилмолочной кислоты (ФМК), сигналы в виде уширенных синглетов при 8.74; 8.80 м.д., а также 9.16 и 9.64 м.д. – к протонам фенольных гидроксильных групп – остаткам ФМК и кофейной кислоты соответственно. Сигнал при 5.29 м.д. относится к ФМК фрагменту соединения – производного розмариновой кислоты. Восемь уширенных синглетов при 12.92; 12.93; 12.94; 12.96; 12.97; 12.98; 12.99; 13.01 м. д. относятся к сигналам Н-5 гидроксильных групп восьми флавоноидов флавонового типа (рис. 1) [27]. Сигналы протонов Н-5 гидроксильных групп других флавоноидов – не флавонового типа – в субстанции «Розматина» отсутствуют, что согласуется с литературными данными флавоноидного состава змееголовника молдавского [5].

Два флавоноидных сигнала при 12.93 и 13.01 м.д., выделены и идентифицированы (^1H ЯМР) как тилианин и лютеолин-7-О- β -D-глюкуронид. В спектре «Розматина» к тилианину относятся сигналы при 12.93; 8.05 и 3.86 м.д. Сигналы при 13.01 м.д. и 10.02 м.д. относятся к лютеолин-7-О- β -D-глюкурониду (рис. 1).

Дублеты при 7.94 и 8.05 м.д. ($KCCB = 8.0$ Гц) относятся к протонам Н-2' и Н-6' гликозидов апигенина и акацетина соответственно. Метоксильная группа акацетина дает сигнал при 3.86 м.д. (3Н). Для гликозидов апигенина сигнал при 10.4 м.д. относится к 4'-ОН протону (в апигенине 10.36 м.д.). В гликозидах лютеолина сигнал 4'-ОН протона проявляется около значения 10.00 м.д. (цинарозид – 10.00; лютеолин-7-О- β -D-глюкуронид – 10.01 м.д.). Сигнал при 10.08 м.д., возможно, относится к 4'-ОН группе гликозида хризозериола [3, 5], смещение которой в слабое поле обусловлено влиянием метоксильной группы в положении 3'. Небольшая интенсивность сигнала при 10.87 м.д., относящегося к 7-ОН группе флавоноидов, свидетельствует о том, что в «Розматине» доминируют глюкозиды.

Согласно [7] в состав змееголовника молдавского входят два флавоноидных гликозида малонилтилианин и малонилапигенин с остатком малоновой кислоты ($-\text{COOCH}_2\text{COOH}$) в положении 6". В ^{13}C ЯМР-спектре «Розматина» имеются сигналы при 41.45 и 41.70 м.д. (соотношение интенсивностей 2 к 3 соответственно), которые согласно расчетным спектрам ^{13}C ЯМР относятся к метиленовой группе малонильного остатка.

Содержание флавоноидов (флавонов) определялось методом внутреннего стандарта, в качестве которого был использован флаванол фелламуриин ($\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$, Мм 518.5 г/моль). Измерялись площади сигналов 5-ОН протонов «Розматина» (область 12.9 – 13.1 м.д.) и 5-ОН протона фелламурина (синглет 11.84 м.д.). Результат составил 27%, в пересчете на лютеолин-7-О- β -D-глюкуронид (М.м. 462 г/моль), содержание которого в «Розматине» наибольшее среди флавоноидов.

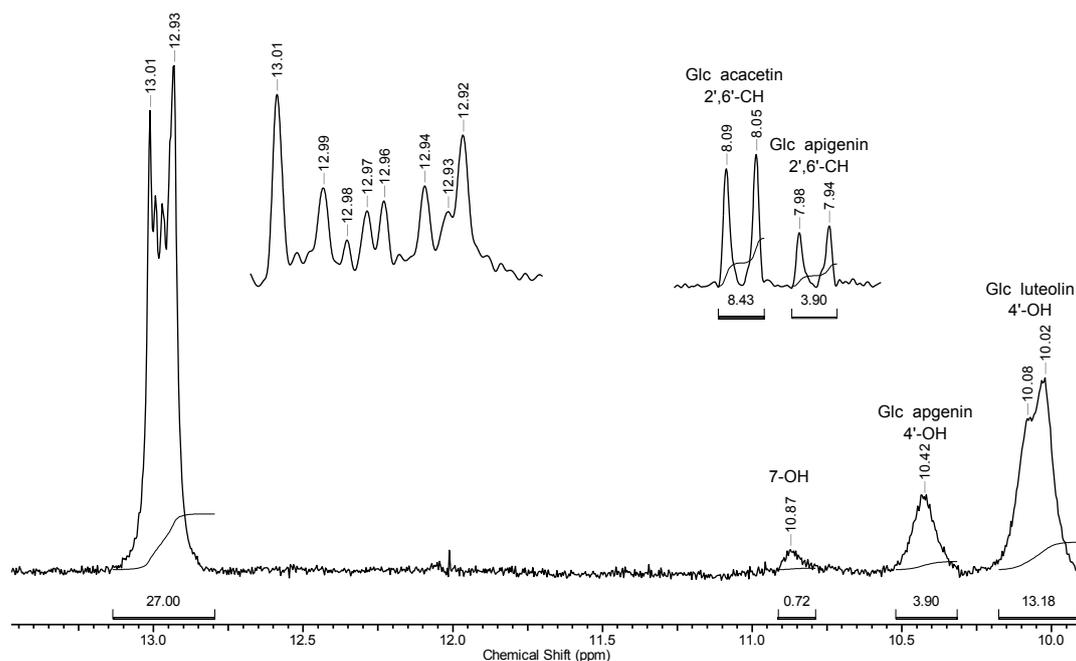


Рис. 1. Фрагмент ^1H ЯМР-спектра (200 МГц, DMSO-D_6) «Розматин»

Отношение интегралов гликозидов апигенина и лютеолина, приведенные на рисунке 1, равны относительному содержанию в «Розматине» соответствующих классов флавоноидов, а также флавоноидов с 7-ОН группой в перечете на лютеолин-7-О- β -D-глюкуронид. На рисунке 1 приведены также сигналы СН-2',6' протонов гликозидов апигенина и акацетина (дублеты при 7.94 и 8.05 м.д. (КССВ = 8.0 Гц) соответственно. Значение интеграла для гликозидов апигенина установлено таким же, как и для 4'-ОН протона апигенина (3.90). Это позволяет установить содержание гликозидов акацетина, не содержащих ОН группы в кольце В флавоноидов.

Анализ «Розматина» методом ВЭЖХ-МС-УФ позволил определить в составе данной субстанции 14 полифенольных соединений, проявляющихся на УФ-хроматограмме при длине волны 340 нм, 7 из них также проявлялись при длине волны 290 нм (рис. 2). 4 соединения, такие как розмариновая, кофейная и феруловая кислоты и лютеолин-7-глюкуронид, удалось идентифицировать с помощью стандартных образцов, остальные 9 идентифицированы ориентировочно по литературным данным [4, 7, 9, 11, 12]. 5 других соединений, используемых в работе в качестве стандартных образцов, (хлорогеновая кислота, лютеолин и его гликозид, рутин, гиперозид) в составе «Розматина» обнаружены не были. Полученные данные сведены в таблицу 3. Структурные формулы идентифицированных соединений приведены на рисунке 3 (нумерация формул на рисунке соответствует последовательности выхода соединений с ВЭЖХ колонки).

Масс-спектры ИЭР исследованных стандартных образцов, как правило, содержат пики протонированных $[\text{M}+\text{H}]^+$ или депротонированных $[\text{M}-\text{H}]^-$ молекулярных ионов (в зависимости от режима регистрации спектров), удобные для определения молекулярной массы соединений. В ряде случаев в спектрах ИЭР+ присутствуют дополнительные сигналы аддуктов с щелочными металлами (натрием и калием), пики димеров состава $[2\text{M}+\text{H}]^+$ и характеристичные фрагментные ионы, пригодные для первичного структурного сопоставления. Наличие подобных фрагментных ионов можно отметить и в спектрах ИЭР-. В качестве иллюстрации на рисунке 4 приведен масс-спектр СО лютеолина-7-глюкуронида (М.м. 462.36 г/моль; $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$), выделенного из «Розматина».

Результаты количественного анализа полифенольных соединений, идентифицированных в «Розматине», приведены в таблице 3. Основными компонентами «Розматина» являются розмариновая кислота, относительное содержание которой составляет 56.6%, лютеолин-7-глюкуронид (7.7%) и тилианин (5.7%). Суммарное содержание флавоноидов – около 27%.

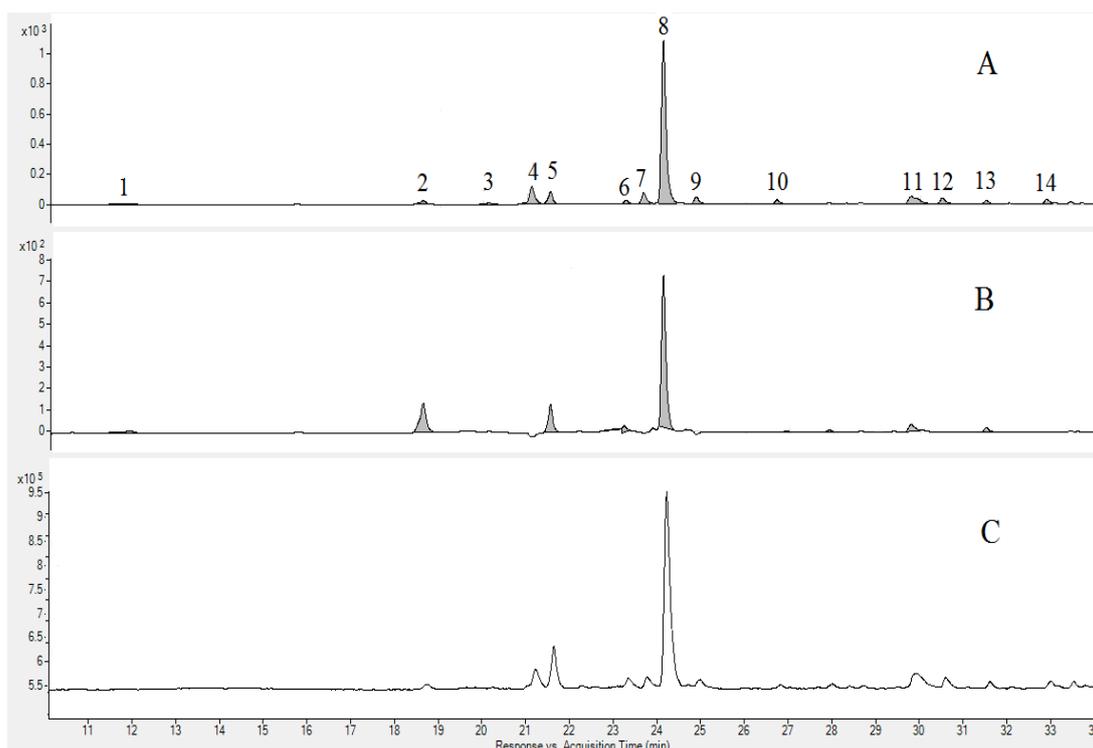


Рис. 2. УФ-хроматограммы «Розматина» при длине волны 340 нм (А) и 290 нм (В), а также хроматограмма по полному ионному току образца (регистрация отрицательных ионов) (С)

Таблица 3. Компонентный состав «Розматина», установленный методом ВЭЖХ-УФ-МС

№	Соединение	Время выхода, мин	Структурная формула	m/z, регистрация положительных ионов	m/z, регистрация отрицательных ионов	Молярная масса, г/моль	Содержание, %
1	Кофейная кислота	11.75	$C_9H_8O_4$	181, 163	179, 135	180	1.1
2	Неидентифицированное соединение	18.51	—	303, 147	581, 255, 163	—	1.9
3	Феруловая кислота	20.00	$C_{10}H_{10}O_4$	195, 177	193	194	0.8
4	Лютеолин-7-глюкуронид	20.99	$C_{27}H_{26}O_{17}$	463, 287	923, 461, 285	462	7.7
5	Розмариновая кислота-3-O-β-D-глюкозид	21.42	$C_{24}H_{26}O_{13}$	523, 540, 545, 561	1043, 521	522	10.7
6	Апигенин-7-глюкозид	23.11	$C_{21}H_{20}O_{10}$	433, 271	431, 269	432	1.4
7	Апигенин-7-глюкуронид	23.52	$C_{21}H_{18}O_{11}$	447, 271	891, 445, 269	446	4.3
8	Розмариновая кислота	23.96	$C_{18}H_{16}O_8$	743, 383, 163	719, 359	360	56.6
9	Хризозеириол-7-глюкуронид	24.71	$C_{22}H_{20}O_{12}$	477, 301	951, 445, 299	476	2.5
10	Апигенин-7-(6"-O-β-D-малонил)глюкозид	26.54	$C_{21}H_{20}O_{10}$	519, 271	1035, 517, 269	518	1.4
11	Акацетин-7-O-глюкозид (тилианин)	29.61	$C_{22}H_{22}O_{10}$	741, 521, 323, 285	717, 519, 283	446	5.7
12	Акацетин-7-O-глюкуронид	30.31	$C_{22}H_{20}O_{11}$	461, 285	919, 459, 283	460	2.2
13	Шизотенуин F	31.32	$C_{28}H_{24}O_{12}$	575, 355	551, 359	552	1.5
14	Акацетин-7-O-(6"-O-β-D-малонил)глюкозид	32.73	$C_{25}H_{24}O_{13}$	533, 285	1063, 531, 283	532	2.2

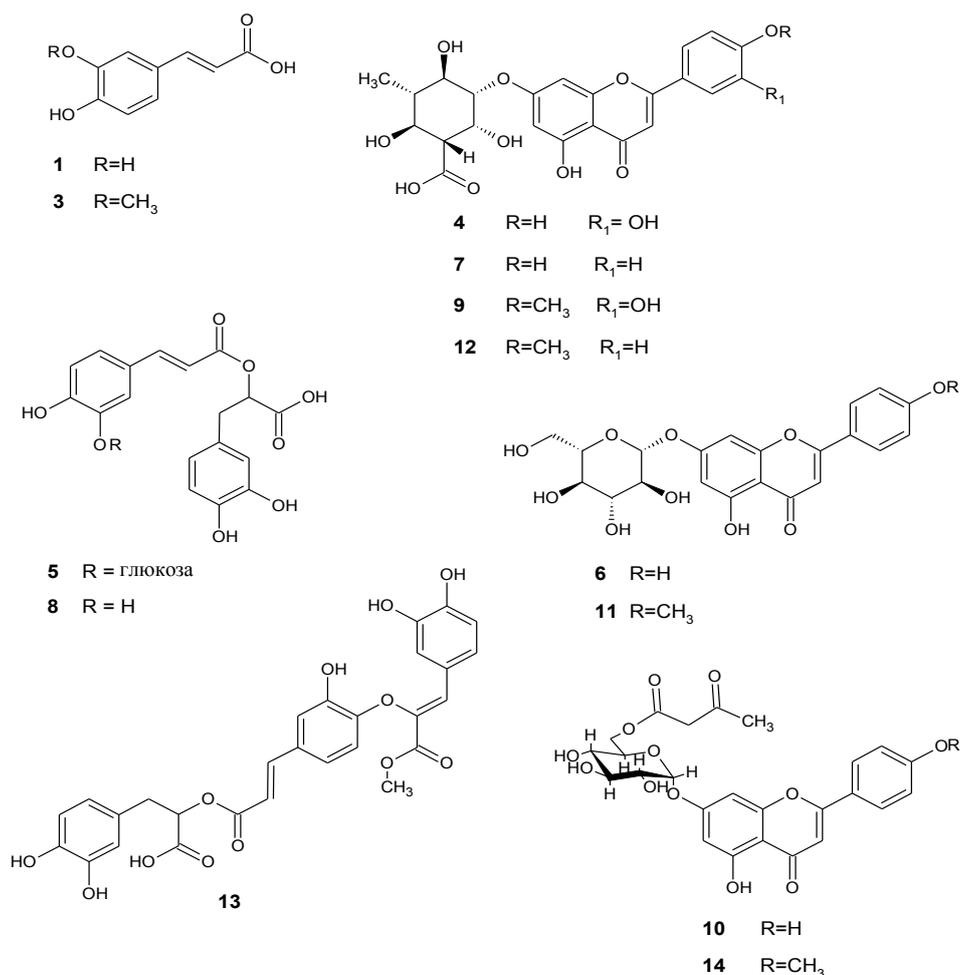


Рис. 3. Структурные формулы идентифицированных соединений «Розматин»: 1, 3, 8 – кофейная, феруловая и розмариновая кислоты, 4, 7, 9, 12 – глюкурониды лютеолина, апигенина, хриззоэриола и акацетина, 5, 6, 11 – глюкозиды розмариновой кислоты, апигенина и акацетина, 10, 14 – малонил-глюкозиды апигенина и акацетина, 13 – шизотенуин F

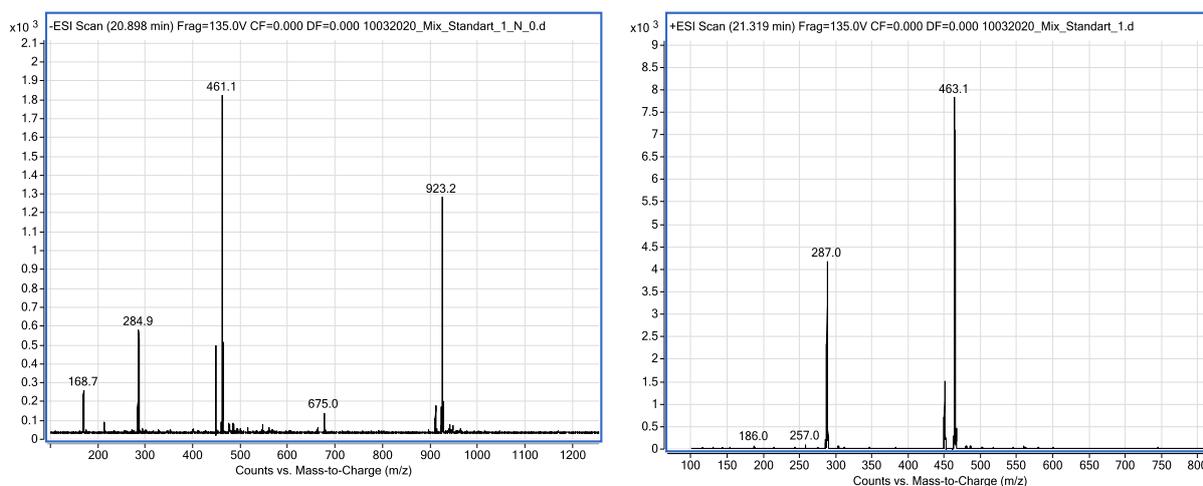


Рис. 4. Масс-спектр ИЭР лютеолина-7-глюкуронида: регистрация отрицательных ионов (слева), регистрация положительных ионов (справа)

Результаты проведенных исследований по установлению противовоспалительного и гастропротективного действия «Розматина» представлены в таблицах 1 и 2. Как видно из таблицы 1, экстракт при трехдневном введении обладал дозозависимым противовоспалительным эффектом. Он уменьшал 1% формалиновый отек в дозе 10 мг/кг на 24.1% и в дозе 100 мг/кг на 34.2%, по сравнению с контрольной группой животных, но уступал противовоспалительному эффекту индометацина, который уменьшал 1% формалиновый отек на 40.2%. Согласно данным из таблицы 2, в условиях этаноловой экспериментальной модели язвы желудка при введении «Розматина» в дозе 10 мг/кг был выявлен гастропротективный эффект экстракта – уменьшение площади язвенных дефектов на 89.7%, ТЭ=9.74 ($p < 0.05$ по сравнению с контролем). При увеличении дозы экстракта до 100 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращалась на 93.4%, ТЭ=20.1 ($p < 0.05$ по сравнению с контролем). При введении препарата референта омепразола в дозе 20 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращалась на 54.8%, ТЭ=2.21.

Таким образом, методами ЯМР и ВЭЖХ-УФ-МС в составе «Розматин» были идентифицированы следующие полифенолы: фенолпропаноиды – розмариновая, кофейная и феруловая кислоты, шизотенуин F, глюкозид розмариновой кислоты, флавоноиды (флавоны) – лютеолин-7-О-β-D-глюкуронид, космосин, апигенин-7-О-β-D-глюкуронид, хризозриол-7-О-β-D-глюкуронид, апигенин-7-О-β-D-(6"-О-малонил) глюкозид, акацетин-7-О-β-D-глюкуронид, акацетин-7-О-β-D-(6"-малонил) глюкозид, тилианин. Содержание розмариновой кислоты в «Розматине» составляет около 56.6%, суммы флавоноидов – около 27%. В результате исследований биологической активности «Розматина» было установлено, что он обладает дозозависимым противовоспалительным эффектом, подавляя развитие экссудативной фазы воспаления, а также достоверным дозозависимым гастропротективным действием, существенно превышающим аналогичное действие препарата референта омепразола.

Выводы

Из сухого экстракта «Розматин» получены и идентифицированы лютеолин-7-О-β-D-глюкуронид и 7-О-β-D-глюкопиранозид акацетина (тилианин). Методами ЯМР (^1H и ^{13}C) и ВЭЖХ-УФ-МС установлен химический состав сухого экстракта «Розматин». В «Розматине» содержатся следующие полифенолы: фенолпропаноиды – розмариновая, кофейная и феруловая кислоты, шизотенуин F, розмариновая кислота-3-О-β-D-глюкозид, флавоноиды (флавоны) – лютеолин-7-О-β-D-глюкуронид, апигенин-7-О-β-D-глюкозид (космосин), апигенин-7-О-β-D-глюкуронид, хризозриол-7-О-β-D-глюкуронид, апигенин-7-О-β-D-(6"-О-малонил) глюкозид, акацетин-7-глюкуронид, акацетин-7-О-β-D-(6"-малонил) глюкозид, 7-О-β-D-глюкопиранозид акацетина (тилианин). Содержание розмариновой кислоты в «Розматине» составляет около 56,6 %, суммы флавоноидов – около 27%.

На модели формалинового отека установлено, что «Розматин» обладает дозозависимым противовоспалительным эффектом, подавляя развитие экссудативной фазы воспаления. На экспериментальной модели язвы желудка крыс, вызванной введением этанола, выявлено достоверное дозозависимое гастропротективное действие «Розматина».

Список литературы

1. Zeng Q., Jin H.-Z., Qin J.-J., Fu J.-J., Hu X.-J., Liu J.-H., Yan L., Zhang W.-D. Chemical Constituents of Plants from the Genus *Dracocephalum* // *Chemistry & Biodiversity*. 2010. Vol. 7(8). Pp. 1911–1929. DOI: 10.1002/cbdv.200900188.
2. Буданцев А.Л., Лесиовская Е.Е. Розмариновая кислота: источники и биологическая активность // *Растительные ресурсы*. 2012. Т. 48(3). С. 453–468.
3. Yang S., Wang L., Guo X., Lou H., Ren D. A new flavonoid glycoside and other constituents from *Dracocephalum moldavica* // *Natural Product Research*. 2013. Vol. 27(3). Pp. 201–207. DOI: 10.1080/14786419.2012.666746.
4. Yang L.-N., Xing J.-G., He C.-H., Wu T. The phenolic compounds from *Dracocephalum moldavica* L. // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2014. Vol. 54. Pp. 19–22. DOI: 10.1016/j.bse.2013.12.009.
5. Sultan A., Aisa H.A., Eshbakova K.A. Flavonoids from *Dracocephalum moldavica* // *Chem. Nat. Compd*. 2008. Vol. 44. Pp. 366–367.
6. Dastmalchi K., Damien Dorman H.J., Müberra K., Hiltunen R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a watersoluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract // *LWT Food Sci Technol*. 2007. Vol. 40. Pp. 239–248. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.09.019.
7. Martínez-Vázquez M., Estrada-Reyes R., Martínez-Laurraquío A., López-Rubalcava C., Heinze G. Neuropharmacological study of *Dracocephalum moldavica* L. (Lamiaceae) in mice: Sedative effect and chemical analysis of an aqueous extract // *Journal of Ethnopharmacology*. 2012. Vol. 141. Pp. 908–917. DOI: 10.1016/j.jep.2012.03.028.
8. Wu C., Liu H., Rong X., Liu J., Ding W., Cheng X., Xing J., Wang C. Phytochemical composition profile and space-time accumulation of secondary metabolites for *Dracocephalum moldavica* Linn. via UPLC–Q/TOF–MS and HPLC–DAD method // *Biomed. Chromatography*. 2020. Vol. 34. Pp. 4865–4879. DOI: 10.1002/bmc.4865.

9. Li Q., Liu Y., Han L., Liu J., Liu W., Feng F., Zhang J., Xie N. Chemical constituents and quality control of two *Dracocephalum* species based on high-performance liquid chromatographic fingerprints coupled with tandem mass spectrometry and chemometrics // *Journal of Separation Science*. 2016. Vol. 39(21). Pp. 4071–4085. DOI: 10.1002/jssc.201600645.
10. Jiang H., Zeng L., Dong X., Guo S., Xing J., Li Z., Liu R. Tiliarin extracted from *Dracocephalum moldavica* L. induces intrinsic apoptosis and drives inflammatory microenvironment response on pharyngeal squamous carcinoma cells via regulating tlr4 signaling pathways // *Frontiers in pharmacology*. 2020. Vol. 11. Pp. 1–13. DOI: 10.3389/fphar.2020.00205.
11. Selenge E., Murata T., Tanaka S., Sasaki K., Batkhuu J., Yoshizaki F. Monoterpene glycosides, phenylpropanoids, and acacetin glycosides from *Dracocephalum foetidum* // *Phytochemistry*. 2014. Vol. 101. Pp. 91–100. DOI: 10.1016/j.phytochem.2014.02.007.
12. Zhang J.-L., Yan R.-J., Yu N., Zhang X., Chen D.-J., Wu T., Xin J.-G. A new caffeic acid tetramer from the *Dracocephalum moldavica* L. // *Natural Product Research*. 2017. Vol. 32(3). Pp. 370–373. DOI: 10.1080/14786419.2017.1359168.
13. Zúñiga M.I.J., Mariles A.J. H., Flores J.L.C., Herrera J.A.M., Sotelo M.G.R., Montes G.I.C., Gómez y Gómez Y.M. Antidepressant-Like Effects of *Dracocephalum moldavica* L. in Mouse Models of Immobility Tests // *Pharmacognosy Journal*. 2019. Vol. 11(5). Pp. 976–983. DOI: 10.5530/pj.2019.11.154.
14. Jiang J., Yuan X., Wang T., Chen H., Zhao H., Yan X., Wang Z., Sun X., Qiusheng Z. Antioxidative and Cardioprotective Effects of Total Flavonoids Extracted from *Dracocephalum moldavica* L. Against Acute Ischemia/Reperfusion-Induced Myocardial Injury in Isolated Rat Heart // *Cardiovascular Toxicology*. 2014. Vol. 14. Pp. 74–82. DOI: 10.1007/s12012-013-9221-3.
15. Tan M., He C.-h., Jiang W., Zeng C., Yu N., Huang W., Gao Z.-g., Xing J.-g. Development of solid lipid nanoparticles containing total flavonoid extract from *Dracocephalum moldavica* L. and their therapeutic effect against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats // *Int. J. Nanomedicine*. 2017. Vol. 12. Pp. 3253–3265. DOI: 10.2147/IJN.S131893.
16. Najafi M., Ghasemian E., Fathiazad F., Garjani A. Effects of Total Extract of *Dracocephalum moldavica* on Ischemia/Reperfusion Induced Arrhythmias and Infarct Size in the Isolated Rat Heart // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2009. Vol. 11 (4). Pp. 229–235. DOI: 10.22038/IJBMS.2009.5186.
17. Akanda M.R., Uddin M.N., Kim I.-S., Ahn D., Tae H.-J., Park B.-Y. The biological and pharmacological roles of polyphenol flavonoid tiliarin // *European Journal of Pharmacology*. 2019. Vol. 842. Pp. 291–297. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.10.044.
18. Maimaitiyiming D., Hu G., Aikemu A., Hui S.-W., Zhang X. The treatment of Uygur medicine *Dracocephalum moldavica* L on chronic mountain sickness rat model // *Pharmacogn Mag*. 2014. Vol. 10(40). Pp. 477–482. DOI: 10.4103/0973-1296.141817.
19. Патент №2696867 (РФ). Способ получения лекарственных субстанций из змееголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.) / О.П. Шейченко, В.В. Ануфриева, В.И. Шейченко, О.Н. Толкачев, М.М. Ильин, Е.В. Звездина, Л.Б. Стрелкова, Е.В. Ферубко, И.А. Мартынич, Е.Н. Курманова, М.И. Панина, В.П. Панин, В.Ю. Масляков. – 2019.
20. Попова О.И., Никитина А.С. Змееголовник молдавский и иссоп лекарственный: современный взгляд на растения: монография. Волгоград, 2014. 224 с.
21. Коняева Е.А., Алентьева О.Г. Морфолого-анатомическое изучение травы змееголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.), интродуцированного в ФГБНУ ВИЛАР // *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2019. №4 (26). С. 4–11.
22. Звездина Е.В., Шейченко О.П. Исследования по стандартизации травы змееголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.) // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2019. №4. С. 7–12.
23. Патент №9895 (РФ). Змееголовник молдавский *Dracocephalum moldavica* L. Сорт «Нежность» / Л.В. Бабаенко, В.В. Воробьев, М.Ю. Грязнов, О.М. Савченко, С.А. Тоцкая, Ф.М. Хазиева. – 2017.
24. Тоцкая С.А., Грязнов М.Ю. Некоторые особенности выращивания нового сорта змееголовника молдавского селекции ФГБНУ ВИЛАР // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018. №9. С. 43–47.
25. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорты растений. М., 2019.
26. Звездина Е.В., Шейченко О.П., Бузова А.Е. Разработка методик стандартизации субстанции «Розматин» из травы змееголовника молдавского // *Фармация*. 2020. Т. 69. №6. С. 25–30.
27. Шейченко В.И., Шейченко О.П., Ануфриева В.В., Толкачев О.Н. Изучение состава фенольного компонента метаболома растений методом ЯМР // *Химико-фармацевтический журнал*. 2016. №50(2). С. 16–22.

Поступила в редакцию 25 января 2021 г.

После переработки 20 мая 2021 г.

Принята к публикации 24 мая 2021 г.

Для цитирования: Шейченко О.П., Шейченко В.И., Горяинов С.В., Звездина Е.В., Курманова Е.Н., Ферубко Е.В., Уютова Е.В., Потанина О.Г., Хажжар Фади. Химический состав и биологическая активность сухого экстракта «Розматин» из травы змееголовника молдавского // *Химия растительного сырья*. 2021. №3. С. 253–264. DOI: 10.14258/jcprgm.2021039161.

Sheychenko O.P.^{1*}, Sheychenko V.I.¹, Goryainov S.V.², Zvezdina E.V.¹, Kurmanova E.N.¹, Ferubko E.V.¹, Uytova E.V.¹, Potanina O.G.², Khazhzhari Fadi² CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE DRY EXTRACT "ROSMATIN" FROM THE HERB OF *DRACOCEPHALUM MOLDAVICA* L.

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, ul. Grina, 7, Moscow, 117216 (Russia), e-mail: sheychenko@vilarnii.ru

² Peoples' Friendship University of Russia, ul. Miklukho-Maklaya, 6, Moscow, 117198 (Russia)

Moldavian Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) is an annual herb. In FGBNU VILAR a new variety of Moldavian Dragonhead «Nezhnost» has been developed. From the herb of the Moldavian Dragonhead, a technology has been developed for obtaining a dry purified extract, which has received the code name «Rozmatin».

By NMR (¹H and ¹³C) and HPLC-DAD-MS using standard samples and literature data, the qualitative and quantitative composition of the dry extract "Rozmatin" from the herb of the *Dracocephalum moldavica* was established. Rosmarinic, caffeic and ferulic acids, rosmarinic acid 3-O-glucoside, luteolin-7-O-β-D-glucuronide, acacetin-7-O-β-D-glucopyranoside (tilianin), apigenin-7-O-β-D-glucoside (Cosmosiin), apigenin-7-O-β-D-glucuronide, chrysoeryol-7-O-β-D-glucuronide, apigenin-7-O-β-D-(6"-O-malonyl) glucoside, acacetin-7-O-β-D-glucuronide, acacetin-7-O-β-D-(6"-malonyl) glucoside, schizotenuin F were identified. It was found that the content of rosmarinic acid in "Rozmatin" is 56.6%, the amount of flavonoids - about 27%. The study of anti-inflammatory and gastroprotective activity of "Rozmatin" in doses of 10 mg/kg, 100 mg/kg was carried out. A dose-dependent anti-inflammatory effect with suppression of the development of the exudative phase of inflammation, as well as a dose-dependent gastroprotective effect of "Rozmatin", significantly exceeding the similar effect of the referent drug omeprazole, was revealed. Earlier it was found that "Rozmatin" has a tonic effect on the cardiovascular and nervous systems.

Keywords: *Dracocephalum moldavica* L., Rozmatin dry extract, ¹H- and ¹³C-NMR, HPLC-DAD-MS, polyphenols, flavonoids (flavones), rosmarinic acid, anti-inflammatory and gastroprotective activity.

References

1. Zeng Q., Jin H.-Z., Qin J.-J., Fu J.-J., Hu X.-J., Liu J.-H., Yan L., Zhang W.-D. *Chemistry & Biodiversity*, 2010, vol. 7(8), pp. 1911–1929. DOI: 10.1002/cbdv.200900188.
2. Budantsev A.L., Lesiovskaya Ye.Ye. *Rastitel'nyye resursy*, 2012, vol. 48(3), pp. 453–468. (in Russ.).
3. Yang S., Wang L., Guo X., Lou H., Ren D. *Natural Product Research*, 2013, vol. 27(3), pp. 201–207. DOI: 10.1080/14786419.2012.666746.
4. Yang L.-N., Xing J.-G., He C.-H., Wu T. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2014, vol. 54, pp. 19–22. DOI: 10.1016/j.bse.2013.12.009.
5. Sultan A., Aisa H.A., Eshbakova K.A. *Chem. Nat. Compd.*, 2008, vol. 44, pp. 366–367.
6. Dastmalchi K., Damien Dorman H.J., Müberra K., Hiltunen R. *LWT Food Sci Technol.*, 2007, vol.40, pp. 239–248. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.09.019.
7. Martínez-Vázquez M., Estrada-Reyes R., Martínez-Laurabaquio A., López-Rubalcava C., Heinze G. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, vol. 141, pp. 908–917. DOI: 10.1016/j.jep.2012.03.028.
8. Wu C., Liu H., Rong X., Liu J., Ding W., Cheng X., Xing J., Wang C. *Biomed. Chromatography*, 2020, vol. 34, pp. 4865–4879. DOI: 10.1002/bmc.4865.
9. Li Q., Liu Y., Han L., Liu J., Liu W., Feng F., Zhang J., Xie N. *Journal of Separation Science*, 2016, vol. 39(21), pp. 4071–4085. DOI: 10.1002/jssc.201600645.
10. Jiang H., Zeng L., Dong X., Guo S., Xing J., Li Z., Liu R. *Frontiers in pharmacology*, 2020, vol. 11, pp. 1–13. DOI: 10.3389/fphar.2020.00205.
11. Selenge E., Murata T., Tanaka S., Sasaki K., Batkhuu J., Yoshizaki F. *Phytochemistry*, 2014, vol. 101, pp. 91–100. DOI: 10.1016/j.phytochem.2014.02.007.
12. Zhang J.-L., Yan R.-J., Yu N., Zhang X., Chen D.-J., Wu T., Xin J.-G. *Natural Product Research*, 2017, vol. 32(3), pp. 370–373. DOI: 10.1080/14786419.2017.1359168.
13. Zúñiga M.I.J., Mariles A.J. H., Flores J.L.C., Herrera J.A.M., Sotelo M.G.R., Montes G.I.C., Gómez y Gómez Y.M. *Pharmacognosy Journal*, 2019, vol. 11(5), pp. 976–983. DOI: 10.5530/pj.2019.11.154.
14. Jiang J., Yuan X., Wang T., Chen H., Zhao H., Yan X., Wang Z., Sun X., Qiusheng Z. *Cardiovascular Toxicology*, 2014, vol. 14, pp. 74–82. DOI: 10.1007/s12012-013-9221-3.
15. Tan M., He C.-h., Jiang W., Zeng C., Yu N., Huang W., Gao Z.-g., Xing J.-g. *Int. J. Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 3253–3265. DOI: 10.2147/IJN.S131893.
16. Najafi M., Ghasemian E., Fathiazad F., Garjani A. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2009, vol. 11 (4), pp. 229–235. DOI: 10.22038/IJBMS.2009.5186.
17. Akanda M.R., Uddin M.N., Kim I.-S., Ahn D., Tae H.-J., Park B.-Y. *European Journal of Pharmacology*, 2019, vol. 842, pp. 291–297. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.10.044.
18. Maimaitiyiming D., Hu G., Aikemu A., Hui S.-W., Zhang X. *Pharmacogn Mag.*, 2014, vol. 10(40), pp. 477–482. DOI: 10.4103/0973-1296.141817.
19. Patent 2696867 (RU). 2019. (in Russ.).
20. Popova O.I., Nikitina A.S. *Zmeyegolovnik moldavskiy i issop lekarstvennyy: sovremenny vzglyad na rasteniyu: monografiya*. [Moldavian snakehead and medicinal hyssop: a modern view of plants: monograph]. Volgograd, 2014, 224 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

21. Konyayeva Ye.A., Alent'yeva O.G. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv*, 2019, no. 4 (26), pp. 4–11. (in Russ.).
22. Zvezdina Ye.V., Sheychenko O.P. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2019, no. 4, pp. 7–12. (in Russ.).
23. Patent 9895 (RU). 2017. (in Russ.).
24. Totskaya S.A., Gryaznov M.Yu. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2018, no. 9, pp. 43–47. (in Russ.).
25. *Gosudarstvennyy reyestr selektsionnykh dostizheniy, dopushchennykh k ispol'zovaniyu. Vol. 1. Sorta rasteniy*. [State Register of Breeding Achievements Approved for Use. Vol. 1. Plant varieties]. Moscow, 2019. (in Russ.).
26. Zvezdina Ye.V., Sheychenko O.P., Burova A.Ye. *Farmatsiya*, 2020, vol. 69, no. 6, pp. 25–30. (in Russ.).
27. Sheychenko V.I., Sheychenko O.P., Anufriyeva V.V., Tolkachev O.N. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2016, no. 50(2), pp. 16–22. (in Russ.).

Received January 25, 2021

Revised May 20, 2021

Accepted May 24, 2021

For citing: Sheychenko O.P., Sheychenko V.I., Goryainov S.V., Zvezdina E.V., Kurmanova E.N., Ferubko E.V., Uytova E.V., Potanina O.G., Khazhzhari Fadi. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 253–264. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021039161.