

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. РАЗУМОВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



Шереметьева Анна Сергеевна

Тимьян Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.): ресурсный потенциал в Саратовской области, анализ химического состава и фармакологической активности извлечений

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
Дурнова Наталья Анатольевна

Саратов – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. <i>THYMUS MARSCHALLIANUS</i> : ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Химический состав <i>Th. marschallianus</i>	18
1.2. Фармакологические свойства <i>Th. marschallianus</i>	27
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
2.1. Объекты исследования	35
2.2. Места произрастания, места сбора и методы сушки травы <i>Th. marschallianus</i>	36
2.3. Методы ресурсной оценки сырьевых запасов <i>Th. marschallianus</i> , произрастающего в Саратовской области.....	37
2.4. Метод макроскопического анализа травы <i>Th. marschallianus</i>	39
2.5. Методы микроскопического анализа травы <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	39
2.6. Методы химического анализа травы <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i> и их извлечений	39
2.7. Методы исследования фармакологической активности извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	48
2.7.1. Оценка безопасности извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	49
2.7.2. Антимикробная активность эфирных масел и извлечений из <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	50
2.7.3. Антирадикальная активность извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	51
2.7.4. Противоопухолевая активность извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	52
2.7.5. Изучение влияния извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i> на поведенческие реакции лабораторных животных	53
ГЛАВА 3. КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ИДЕНТИФИКАЦИИ ИЗМЕЛЬЧЕННОГО СЫРЬЯ <i>TH. MARSCHALLIANUS</i> И <i>TH. SERPYLLUM</i> И ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗВЛЕЧЕНИЙ	57
3.1. Идентификация травы <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	57
3.2. Химический анализ извлечений из травы <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	69
3.3. Содержание и химический состав эфирных масел <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	77
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	93
ГЛАВА 4. СКРИНИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ <i>TH. MARSCHALLIANUS</i> И <i>TH. SERPYLLUM</i>	95
4.1. Оценка безопасности извлечений из травы <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	95

4.2. Исследования антимикробной активности извлечений и эфирных масел из травы <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	95
4.3. Определение антирадикальной активности извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	97
4.4. Исследование противоопухолевой активности извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i>	98
4.5. Изучение влияния извлечений <i>Th. marschallianus</i> и <i>Th. serpyllum</i> на поведенческие реакции лабораторных животных	99
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	101
ГЛАВА 5. РЕСУРСОВЕДЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА СЫРЬЕВЫХ ЗАПАСОВ <i>TH. MARSCHALLIANUS</i> В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ.....	103
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	121
ГЛАВА 6. ПРИМЕНЕНИЕ ИНФРАКРАСНОГО СПОСОБА СУШКИ ДЛЯ ТРАВЫ <i>TH. MARSCHALLIANUS</i>	122
6.1. Сравнительный анализ признаков внешнего вида травы <i>Th. marschallianus</i> , высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами.....	122
6.2. Сравнительная характеристика показателей качества и содержания биологически активных веществ травы <i>Th. marschallianus</i> после сушки воздушно-теневым и инфракрасным способами	123
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	129
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	130
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	131
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	133
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	134
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	136
ПРИЛОЖЕНИЕ А. АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ	157
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ <i>TH. MARSCHALLIANUS</i> И <i>TH. SERPYLLUM</i>	172
ПРИЛОЖЕНИЕ В. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ.....	176
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ <i>TH. MARSCHALLIANUS</i> И <i>TH. SERPYLLUM IN VITRO</i>	182
ПРИЛОЖЕНИЕ Д. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ <i>TH. MARSCHALLIANUS</i> И <i>TH. SERPYLLUM IN VIVO</i>	186

ПРИЛОЖЕНИЕ Е. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗВЛЕЧЕНИЙ *TH. MARSCHALLIANUS* И
TH. SERPYLLUM НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ..... 192

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Расширение номенклатуры официального лекарственного растительного сырья (ЛРС) является одним из актуальных направлений фармакогнозии [68, 85, 92, 108, 186]. Ограниченность ресурсов ЛРС обуславливает актуальность увеличения сырьевой базы официальных растений посредством выявления и использования новых видов, обладающих фармакологической активностью [16, 62, 112]. Расширение базы лекарственных растений (ЛР) за счет дикорастущих видов, произрастающих в регионе, позволит рационально использовать имеющиеся ресурсы, применить этот потенциал для импортозамещения растительного сырья, используемого в фармацевтической промышленности, снизить трудоемкость культивирования официальных видов [18].

Представители рода тимьян (*Thymus* L.), относящиеся к семейству яснотковых (*Lamiaceae*), являются перспективными ЛР [5, 69, 112]. Применение травы тимьянов в лечебной практике обусловлено, прежде всего, наличием эфирных масел (ЭМ) [34]. Тем не менее, в извлечениях (настои, настойки, экстракты и др.) из растительного сырья этих видов в значительном количестве могут содержаться другие биологически активные вещества (БАВ). С помощью экстрагентов различной химической природы получают разные композиции химических соединений, поэтому являются актуальными исследования биологической активности всех получаемых извлечений. Фармакологические эффекты разных извлечений из травы *Th. marschallianus* слабо изучены, однако богатый химический состав с большой вероятностью определяет и широкий спектр их воздействия на организм.

Исследование химического состава и фармакологической активности извлечений из травы *Th. marschallianus* в сравнении с фармакопейным сырьем – травой *Th. serpyllum* является актуальным, т.к. по проявлениям фармакологической активности его извлечения (согласно данным литературы) не уступают или даже превосходят извлечения применяемого в медицине вида, при этом они остаются малоизученными. Так как *Th. marschallianus* является одним из самых распространенных видов рода *Thymus* на территории Саратовской области [38, 60, 79], вероятны его значительные ресурсные запасы, но ресурсы *Th. marschallianus* в регионе не изучены.

Одним из важнейших условий применения растительного сырья является установление его подлинности, которое заключается в точном определении видовой принадлежности производящего растения. Однако для видов рода *Thymus* в ряде случаев возможна ошибочная видовая идентификация, особенно измельченного сырья. Разработка системного подхода к

изучению растений, применяемых в народной медицине, тем более к видам, для которых уже накоплены научные данные, позволит добиться существенной экономии средств, времени и усилий специалистов на проведение развернутых фитохимических, доклинических и клинических исследований по сравнению с затратами на исследования ранее не изучавшихся видов [99].

Основываясь на вероятно высокой эффективности извлечений, получаемых из травы *Th. marschallianus*, а также ресурсном потенциале этого вида на территории региона, можно предположить возможность расширения перечня лекарственных растений рода *Thymus* за счёт включения этого вида в базу ЛР.

Степень разработанности темы исследования

Фармакогностическое изучение растений рода *Thymus*, в т.ч. *Th. marschallianus*, проводилось Ю.А. Старчак (2016), а также другими российскими и зарубежными исследователями. Ю.А. Старчак разработана фармакопейная статья предприятия на траву *Th. marschallianus*, в которой описаны внешние признаки сырья, его анатомо-диагностические признаки, изученные с помощью световой микроскопии в видимой области спектра и методы физико-химического анализа, но данное сырье не было включено в ГФ РФ. Ранее проведено исследование химического состава травы *Th. marschallianus*, но химический анализ извлечений, полученных с помощью разных экстрагентов, не был изучен. Представленные в литературе результаты исследования фармакологической активности извлечений из травы *Th. marschallianus* фрагментарны и не систематизированы. Исследования химического состава и фармакологической активности различных экстрактивных композиций является актуальным с целью возможного выявления новых эффектов растительного сырья *Th. marschallianus*. Ресурсоведческие исследования этого вида касались только Карагандинской области [43] и фрагментарно Нижнего Поволжья [54, 72], что указывает на актуальность проведения комплексного изучения ресурсов и объема возможных заготовок сырья *Th. marschallianus* в Саратовской области.

Цель и задачи исследования

Целью работы явилось установление перспективности применения травы тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) в качестве нового вида лекарственного растительного сырья.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести информационно-аналитический поиск литературных данных, отражающих степень изученности химического состава и фармакологической активности эфирных масел, водных и спиртовых извлечений травы *Th. marschallianus*, ресурсов *Th. marschallianus*, влияния инфракрасной сушки на внешние признаки и количественные показатели травы *Th. marschallianus*.

2. Изучить в сравнительном аспекте анатомо-диагностические признаки травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, спектральные характеристики и характеристики зон адсорбции на хроматограммах водно-спиртовых извлечений сырья этих видов и разработать комплексный подход к идентификации сырья.

3. Изучить состав БАВ (фенольных соединений, эфирного масла) водных и спиртовых извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*.

4. Оценить безопасность извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, а также провести скрининг их фармакологической активности – изучить влияние на поведенческие реакции животных, противоопухолевую и антирадикальную активности.

5. Изучить антимикробную активность эфирных масел и извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в отношении стандартных и клинических штаммов микроорганизмов.

6. Оценить ресурсный потенциал *Th. marschallianus*, произрастающего на территории Саратовской области, оценить эксплуатационный запас и объем возможной ежегодной заготовки его травы.

7. Изучить влияние инфракрасного способа сушки на внешние признаки травы *Th. marschallianus*; провести анализ характеристик зон адсорбции на хроматограммах, спектральных характеристик, количественного содержания ЭМ, экстрактивных веществ, суммы флавоноидов, дубильных веществ и сравнить антирадикальную активность *in vitro* образцов травы *Th. marschallianus*, высушенных инфракрасным и воздушно-теневым способами.

Научная новизна

Разработан комплексный подход к идентификации травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*: получены сравнительные данные об особенностях строения и люминесценции листьев, цветков, стеблей *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* с помощью люминесцентной микроскопии, а также спектральные характеристики и характеристики зон адсорбции на хроматограммах.

С использованием физико-химических методов (тонкослойной хроматографии (ТСХ), спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), газожидкостной

хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГЖХ-МС)) проведен анализ в сравнительном аспекте водных, спиртовых извлечений и ЭМ травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Получены спектральные характеристики, данные о количественном содержании суммы флавоноидов и отдельных соединений фенольной природы (цинарозида и розмариновой кислоты).

В экспериментах *in vivo* установлена безопасность водных и спиртовых извлечений травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, а также выявлена их противоопухолевая активность; антидепрессивная, анксиолитическая активности и влияние на когнитивные функции лабораторных животных не установлены. В исследованиях *in vitro* выявлена антирадикальная активность водных и спиртовых извлечений, получены сравнительные данные антимикробного действия в отношении стандартных и впервые – в отношении клинических штаммов микроорганизмов для водных и спиртовых извлечений, а также ЭМ травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Впервые показано избирательное противоопухолевое действие спиртовых извлечений травы *Th. marschallianus* в отношении опухолевых клеток рака почки человека и отсутствие выраженного повреждающего действия на неопухолевые линии клеток человека. Отмечено, что водные извлечения из травы *Th. marschallianus* проявили более выраженную противоопухолевую активность, чем водные извлечения сырья *Th. serpyllum*, т.к. при их введении выявлены морфологические признаки апоптоза клеток опухоли: появление апоптотических телец, карнопикноз и конденсация ядерного хроматина в опухолевых клетках.

Впервые изучены ресурсы *Th. marschallianus* на территории Саратовской области, проведена оценка эксплуатационного запаса и объем возможной ежегодной заготовки его травы.

Проведена комплексная оценка сырья *Th. marschallianus*, высушенного инфракрасным способом: изучены внешние признаки, спектральные характеристики, характеристики зон адсорбции на хроматограммах, содержание ЭМ, экстрактивных веществ, суммы флавоноидов, дубильных веществ, а также определена антирадикальная активность *in vitro*.

Теоретическая и практическая значимость работы

Предложен комплексный подход к идентификации травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на основе строения и люминесценции листьев, цветков, стеблей *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, а также спектральных характеристик и характеристик зон адсорбции на хроматограммах.

Результаты оценки общетоксического действия и фармакологической активности извлечения из травы *Th. marschallianus* показывают его безопасность и возможность

использования растительного сырья этого вида в качестве источника БАВ, обладающих широким спектром действия.

Научно обоснована возможность применения травы *Th. marschallianus*, являющегося близкородственным видом фармакопейного *Th. serpyllum* и имеющего наибольшее распространение на территории Саратовской области, в качестве лекарственного растительного сырья.

Результаты изучения сырьевых запасов *Th. marschallianus* в Саратовской области обосновывают перспективность заготовки растительного сырья этого вида, массово произрастающего на данной территории.

Проведенный сравнительный анализ внешних признаков, спектральных характеристик, характеристик зон адсорбции на хроматограммах, количественного содержания экстрактивных веществ, суммы флавоноидов и ЭМ травы *Th. marschallianus* при разных видах сушки показывает, что исследуемые параметры сырья при воздушно-теновой сушке не уступают таковым при инфракрасном способе.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование базируется на информационно-аналитическом поиске литературных данных, методологии ресурсоведческих исследований, фармакогностического анализа надземных частей растительного сырья и включало методы макро- и микроскопического анализ травы исследуемых видов (световую и люминесцентную микроскопию).

Для проведения химического анализа использован комплекс физико-химических методов ТСХ, спектрофотометрии, ВЭЖХ, ГЖХ-МС, которые выполнены на поверенном оборудовании.

Для оценки фармакологической активности *in vivo* применялись методы экспериментальных испытаний на лабораторных животных, в которых были использованы сертифицированные приборы и установки. Все эксперименты одобрены этическим комитетом ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского Минздрава России (протокол №8 от 5 марта 2024 г). Оценка фармакологической активности *in vitro* проводилась согласно методикам определения микробиологической, противоопухолевой, антирадикальной и антиокислительной активностей.

Исследования проведены с применением статистических методов анализа данных.

Личный вклад автора

При участии автора диссертационной работы определена тема, поставлены цель и задачи исследования. Автором проведен информационно-аналитический поиск литературных данных по теме диссертационного исследования с использованием российских и зарубежных публикаций. Автору принадлежит основная роль в разработке концепции и дизайнов экспериментальных исследований, проведении экспериментальной работы и сбору первичных данных полевых и лабораторных исследований. Все экспериментальные данные по морфолого-анатомическому изучению травы *Th. marschallianus*, химическому анализу ЭМ, водных и спиртовых извлечений из травы *Th. marschallianus*, скринингу фармакологической активности изучаемых извлечений, ресурсоведческим исследованиям *Th. marschallianus*, обобщение и интерпретация результатов осуществлялись лично автором. Написание научных публикаций по теме диссертационного исследования, глав диссертации и автореферата, участие с результатами исследований в конференциях, внедрение результатов осуществлено автором.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты анатомического строения и люминесценции листьев, цветков, стеблей *Th. marschallianus*, данные по спектральным характеристикам и характеристикам зон адсорбции на хроматограммах травы *Th. marschallianus*.
2. Результаты по изучению состава эфирного масла и содержания БАВ водных и спиртовых извлечений из травы *Th. marschallianus*.
3. Результаты экспериментальных исследований по оценке безопасности извлечений *Th. marschallianus* и скрининга фармакологической активности.
4. Результаты ресурсоведческих исследований и оценки сырьевых запасов *Th. marschallianus* в Саратовской области.
5. Результаты сравнительного исследования внешних признаков и количественного содержания БАВ травы *Th. marschallianus*, высушенной искусственным и воздушно-теневым способами.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Положения диссертационного исследования соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (пунктам 2, 5, 6).

Степень достоверности и апробация результатов

Информационно-аналитический поиск основан на публикациях российских и зарубежных авторов, индексируемых в международных базах данных с пятилетней глубиной поиска. Для изучения вопросов, раскрывающих известность исследуемого объекта, глубину поиска увеличивали. Высокая достоверность результатов исследований обеспечена достаточным объемом и адекватным подбором экспериментального материала (все количественные измерения проведены не менее чем в трехкратной повторности), а также обработкой полученных результатов статистическими методами анализа с использованием доверительного интервала согласно применяемому методу, но не ниже 0,05. В исследованиях, проведенных в рамках диссертационной работы, использованы валидированные методики количественного анализа, сертифицированное оборудование, прошедшее поверку (ВЭЖХ, ГЖХ-МС, спектрофотометр). Первичные данные прошли проверку достоверности первичной документации и личного участия, что подтверждено экспертной оценкой. Работа выполнена на высоком методическом уровне. Использованные автором методы современны, информативны, адекватны цели и задачам исследования.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях: на XIII Всероссийской неделе науки с международным участием, посвященной Национальному дню донора «Week of Russian science (WERUS-2024)» (Саратов, 16–19 апреля 2024 года); на Первой международной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии – 2023» (Москва, 14-16 ноября 2023 года); на I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения профессора К.А. Кузьминой «Биологические науки: традиции, достижения, инновации» (Саратов, 22 марта 2023 года); на IV международном симпозиуме «Innovations in life sciences» (Белгород, 25–27 мая 2022 года); на III Международной научно-практической конференции «Эффективный менеджмент здравоохранения: стратегии инноваций» (Саратов, 29–30 сентября 2022 года); на Международной научной конференции «От биохимии растений к биохимии человека» (Москва, 16–17 июня 2022 года); на 8-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2022» (Воронеж, 31 марта – 02 апреля 2022 года); на Международной научно-практической онлайн-конференции «Экологические и фармакогностические вопросы выращивания лекарственных растений» (Пятигорск, 18–19 марта 2022 года); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания медицинского вуза в Крыму «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (Симферополь, 15 апреля 2021 года); на XXI международной научно-практической конференции студентов и молодых

ученых и VI Форума молодежных научных обществ «Студенческая медицинская наука XXI века. VI форум молодежных научных обществ» (Витебск, 27–28 октября 2021 года); на III Международной научно-практической конференции Российского университета дружбы народов «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» (Москва, 25 ноября 2020 года); на Седьмой научной конференции с международным участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» (Москва, 19 декабря 2019 года).

Апробация диссертации проведена на заседании кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, протокол № 12 от «24» сентября 2024 г.

Внедрение результатов в практику

Результаты работы были внедрены в учебный процесс кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России. – Акт внедрения № 1118 от 19.02.2024 (ПРИЛОЖЕНИЕ А).

На основе проведенных исследований были разработаны и утверждены:

1. ТУ 01.28.30-002-37799972-2022 «Трава тимьяна Маршалла высушенная», рассмотренные и утвержденные ООО «Здоровое питание». – Акт внедрения № 166 от 09.02.2024 (ПРИЛОЖЕНИЕ А).

2. Проект инструкции по сбору и сушке травы тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) (ПРИЛОЖЕНИЕ А).

3. Дополнительная профессиональная образовательная программа повышения квалификации «Эфирномасличное сырье и эфирные масла в медицине и фармации» внедрена в учебно-производственный план (расписание циклов) реализации дополнительных профессиональных программ повышения квалификации для специалистов с высшим образованием института подготовки кадров высшей квалификации и дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского Минздрава России, который размещен на официальном сайте вуза (<https://sgmu.ru/upload/iblock/cf7/ru0pg0ijbt6qkbub90ahbjpr1jh3wvjm.pdf>) – Акт внедрения № 1118 от 09.02.2024 (ПРИЛОЖЕНИЕ А).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационное исследование соответствует плану и тематике научных работ ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, (Рег. № ААААА 20-

120011590047-2 «Получение и исследование экстрактов растений и установление влияния их химического состава на биологическую активность»). По теме диссертационного исследования был получен внутривузовский грант (Рег. № НИОКТР 121090200092-4, Рег. № INTL-SARGMU-SAMGMI-2021-07) «Эффективность применения эфирных масел растений в этиотропной терапии урогенитальных инфекций у беременных».

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 37 работ, в том числе научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук – 12; статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus – 3, Web of Science – 1; публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций – 14; иных публикации по результатам исследования – 7.

Структура и объем диссертации

Диссертационное исследование изложено на 196 страницах. Общий объем работы, включая приложения, содержит 55 рисунков (из них 8 в приложениях) и 41 таблицу (из них 8 – в приложениях). Диссертация включает введение, обзор литературы (1 глава), описание материалов и методов исследования (1 глава), четыре главы экспериментальных исследований, выводы, список литературы (215 источников, в т.ч. 78 на иностранном языке) и 6 приложений, содержащие акты внедрений.

ГЛАВА 1. *THYMUS MARSCHALLIANUS*: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Тенденции в лекарственном обеспечении в последние десятилетия не исключают использование ЛР и препаратов на их основе [12, 62, 67, 112, 115, 116]. Фитопрепараты имеют широкий ассортимент на фармацевтическом рынке, многие из них отпускаются без рецепта врача, политерапевтичны, давно известны и имеют достаточно много приверженных потребителей [91]. Это объясняет потребность в растительных источниках, но ухудшение экологической ситуации, возрастающее антропогенное влияние, интенсификация сельского хозяйства, развитие промзон ведут к сокращению сырьевой базы ЛР, к изменению видового состава флоры и типов растительности на определенных территориях, что требует проведения региональных исследований по изучению запасов официальных видов ЛР [94]. Заготовка сырья от дикорастущих растений позволяет избежать затрат на обработку земли, посев, защиту от сорняков, а также плодородные земли, не занятые культивируемыми растениями, можно использовать для выращивания сельскохозяйственной продукции [18].

Род *Thymus* – крупный род семейства *Lamiaceae*, являющийся сложным в систематическом отношении, он включает морфологически сходные виды, что затрудняет их видовую идентификацию. При установлении подлинности растительного сырья тимьянов (*Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*), важен системный подход, который заключается в комплексном анализе морфологических и физико-химических особенностей. Ранее были описаны только морфологические признаки, выявленные для травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, как макроскопические (форма стеблей и листьев, характеристика соцветия, характер опушения стебля, листа, цветоножки, чашечки и венчика, наличие черешка, характеристика зубцов верхней губы чашечки), так и микроскопические в видимой области спектра (определены типы и расположение устьичного аппарата, волосков, выростов клеток эпидермы, эфиромасличных железок, кристаллов) (Таблица 1) [33, 111, 112].

Таблица 1 – Сравнительная характеристика анатомо-морфологических признаков цельной травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* [33, 73, 111, 112]

Признак	<i>Th. marschallianus</i>	<i>Th. serpyllum</i>
Внешние признаки		
Стебель	Цилиндрический или неясно четырехгранный, опушен волосками.	
Листья	Почти сидячие, со слабо заметными боковыми жилками.	Сидячие или короткочерешковые, с резко выступающими жилками на нижней стороне листа.
	Ланцетные, по поверхности голые или слабоопушенные, по краю у основания редкие длинные волоски; на всей поверхности листа расположены точечные эфиромасличные железки; цвет листьев зеленый.	
Цветки	Мелкие, собраны в полумутовки, образующие удлинённые и прерывистые соцветия.	Мелкие, одиночные или собраны в полумутовки образующие головчатое соцветие.

Продолжение Таблицы 1

Чашечка	Двугубая, колокольчатая, опушенная; зубчики верхней губы чашечки остроугольные, по краю реснитчатые.	
	Цвет чашечки – светло-зеленый, зубцов – темно зеленый, иногда они пурпуровые.	Цвет чашечки красновато-коричневый.
Венчик	Двугубый.	
	Цвет венчика бледно-лиловый или светло-розовый.	Цвет венчика розовато-фиолетовый, ярко-розовый.
Запах	Ароматный.	
Вкус	У водного извлечения – горьковато-пряный.	
Микроскопические признаки		
Стебель	Клетки эпидермы на ребрах прямоугольные, в межреберье – округло-прямоугольные. Устьичный аппарат диацитного типа. Эфирномасличные железки состоят из 8 выделительных клеток, расположенных радиально, в месте прикрепления клетки эпидермы образуют розетку.	
	Волоски: – простые одноклеточные, колпачковидной формы, с бородавчатой кутикулой, у основания которых может находиться цистолит; – простые 1-2-х клеточные со слегка бородавчатой кутикулой; – простые 3-6-ти клеточные со слегка бородавчатой поверхностью с зернистым содержимым (преимущественно на ребрах); – головчатые на одноклеточной ножке с овальной головкой.	Волоски: – простые, 2-5-клеточные коленчатоизогнутые с бородавчатой кутикулой; – сосочковидные выросты эпидермы; – головчатые на одноклеточной ножке с овальной головкой.
	В поперечном сечении имеет непучковое строение. Под эпидермой находится колленхима, далее клетки паренхимы. Клетки эндодермы расположены по окружности. Флоэма состоит из мелких клеток. Радиальные ряды сосудов ксилемы чередуются со склерифицированной паренхимой. В центре стебля формируется полость.	
Лист	Клетки верхней и нижней эпидермы извилистые. Устьичный аппарат диацитного типа. Эфирномасличные железки состоят из 8-и выделительных клеток, расположенных радиально, в месте прикрепления клетки эпидермы образуют розетку.	
	Волоски: – простые одноклеточные бородавчатые, расположенные под углом по отношению к поверхности листа (у края и основания листа); – простые 2-5-ти клеточные, покрытые слабобородавчатой кутикулой, клеточные стенки которых слегка утолщены; – простые толстостенные одноклеточные с заостренной верхушкой и бородавчатой поверхностью.	Волоски: – простые бородавчатые крупные многоклеточные (у основания листа); – простые 2-3-клеточные с бородавчатой поверхностью, коленчатоизогнутые (выше по краю листовой пластинки); – головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на одноклеточной ножке (по всей поверхности листа); – сосочковидные выросты эпидермы на верхней стороне и по краю листа.

Продолжение Таблицы 1

Чашечка	Клетки эпидермы листочков чашечки извилистые. Устьичный аппарат диацитного типа. Эфирномасличные железки состоят из 8 выделительных клеток, расположенных радиально, в месте прикрепления клетки эпидермы образуют розетку.	
	<p>Волоски:</p> <ul style="list-style-type: none"> – простые многоклеточные щетинистые с заостренной верхушкой, клеточные стенки которых утолщены (по краю зубцов чашечки); – простые многоклеточные с гладкой кутикулой и заостренной верхушкой, клеточные стенки которых утолщены (в основании зубцов и вдоль жилки чашечки); – простые многоклеточные тонкостенные с тупой закругленной верхушкой (в основании); – головчатые волоски на одно- или двухклеточной ножке. 	<p>Волоски:</p> <ul style="list-style-type: none"> – простые 2-5-клеточные с бородавчатой кутикулой; – сосочковидные выросты эпидермы; – головчатые с овальной одноклеточной головкой на одноклеточной ножке.
Венчик	Эпидерма трубки прямостенная. Эфирномасличные железки состоят из 8 выделительных клеток, расположенных радиально, в месте прикрепления клетки эпидермы образуют розетку.	
	<p>В трубке встречаются призматические кристаллы.</p> <p>Волоски:</p> <ul style="list-style-type: none"> – простые одноклеточные колпачковидной формы с бородавчатой кутикулой и заостренной верхушкой; – простые многоклеточные с бородавчатой кутикулой и заостренной верхушкой; – головчатые волоски с округлой одноклеточной головкой, на одноклеточной или многоклеточной ножке; – сосочковидные выросты. 	<p>Волоски:</p> <ul style="list-style-type: none"> – простые 2-5-клеточные с заостренной верхушкой; – головчатые волоски с округлой одноклеточной головкой, на одноклеточной или многоклеточной ножке; – сосочковидные выросты.

Для установления подлинности сырья морфологически сходных видов, в т.ч. измельченного, микроскопического анализа может быть недостаточно. Проблема идентификации официальных, а также новых перспективных видов растений, особенно при наличии близкородственных примесных видов, характерна для многих семейств и родов, в т.ч. для *Thymus*. Схожесть морфологических и анатомических признаков обуславливает необходимость использования дополнительных современных методов анализа, позволяющих всесторонне выявлять характерные особенности видов. Обязательным этапом фармакогностического анализа является микроскопический метод, в котором одним из способов диагностики растительного сырья является люминесцентная микроскопия,

позволяющая выявить особенности строения тканей [59]. Кроме того характеристики спектров поглощения и характеристики зон адсорбции на хроматограммах извлечений [64] являются значимыми показателями подлинности. Эти характеристики в настоящее время для травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в литературе не описаны.

Одним из важных условий заготовки растительного сырья является установление его подлинности на этапе сбора. Следует отметить, что для видов рода *Thymus*, в ряде случаев, возможна ошибочная видовая идентификация. Так, для Саратовской области ранее были указаны сведения о произрастании *Th. serpyllum* и *Th. vulgaris* [39], но в более поздних изданиях [38, 60] имеются данные об ошибочности этой информации. Ресурсоведческие исследования *Th. marschallianus* были проведены только в Карагандинской области [43] и (частично) в Нижнем Поволжье [54, 72], но давность экспедиционных материалов и фрагментарность исследований в различных регионах не позволяют оценить достоверность данных о расположении зарослей, а также эксплуатационном запасе и возможном объеме ежегодной заготовки сырья.

Сушка – этап заготовительного процесса растительного сырья, обеспечивающий сохранность БАВ и увеличивающий срок его хранения. Свежесобранное растительное сырье содержит сухие вещества и 60-80% воды, которая является средой для биохимических процессов, при этом под действием ферментов происходит разрушение БАВ, что может приводить к снижению или полному исчезновению фармакологической активности данного сырья [113, 114]. Кроме того, в свежесобранном растительном сырье продолжают физические процессы (сорбции и десорбции паров воды и газов, кристаллизации сахара, деформации и нарушения целостности клеточных структур), которые возникают под действием температуры, влажности воздуха, газового состава, света, механических воздействий. Биологические процессы могут быть вызваны развитием микроорганизмов и плесневых грибов из-за влаги на поверхности растительного сырья, а внутриклеточная и межклеточная влага является благоприятной средой для развития гнилостных микроорганизмов, что приводит к нарушению показателей микробиологической чистоты [93, 113, 114]. Удаление влаги в процессе сушки до 20% позволяет снизить скорость внутриклеточных биохимических реакций, активность ферментов и жизнедеятельность микроорганизмов, а при 10-14% практически их прекратить [113, 114], поэтому сушку применяют как средство консервирования. В процессе сушки сырья должна обеспечиваться сохранность не только морфологических признаков, но и БАВ. Сушка инфракрасными лучами является современным и перспективным способом, обеспечивающим высокий уровень сохранности БАВ растительного сырья [40] за счет способности молекул воды поглощать инфракрасное излучение определенного спектра. При этом ткани обезвоживаемого сырья в данном диапазоне не поглощают излучение, что позволяет осуществлять сушку при

невысоких температурах [113]. Оптимальный способ сушки должен основываться на экспериментальных данных о его влиянии на качество растительного сырья. Для *Th. marschallianus* аналогичные исследования ранее не проводились.

1.1. Химический состав *Th. marschallianus*

В настоящее время траву *Th. marschallianus* применяют только в народной медицине в виде настоя [4, 37, 38, 61, 62, 112], но уже выявлен определенный спектр фармакологической активности извлечений из сырья *Th. marschallianus* (антимикробные, антиоксидантные, отхаркивающие, противовоспалительные свойства) [110, 112, 208], который обеспечивают БАВ различной химической природы, ранее идентифицированные в траве этого вида – ЭМ, полисахариды, тритерпеновые соединения, минеральные элементы, аминокислоты, карбоновые кислоты, фенольные соединения: фенолоксиклоты, оксикоричные кислоты, флавоноиды, кумарины, дубильные вещества [21, 22, 23, 24, 26, 112] (Таблица 2).

Исследования ЭМ представителей рода *Thymus* [29, 37, 62, 112] показали, что, как на межвидовом, так и на внутривидовом уровнях им свойственен полиморфизм компонентного состава [26]. Ароматические монотерпены являются преобладающими компонентами ЭМ *Th. marschallianus*. Так, например, в химическом составе ЭМ *Th. marschallianus*, произрастающего в Волгоградской области, преобладающим компонентом является тимол (49-55%), на фоне меньшего содержания п-цимена (7-9%) [72], а в ЭМ *Th. marschallianus*, собранного в Казахстане, содержание тимола варьировало в пределах 42,47-70,91%, п-цимена – 6,39-15,71% и выявлено незначительное количество карвакрола [176]. В исследовании [37] отмечено, что в ЭМ *Th. marschallianus*, собранного на территории Саратовской области, доминирующим соединением также является тимол (54,61%) при сопутствующем содержании п-цимена (20,99%) и небольшого количества карвакрола (2,92%). Согласно другому исследованию [112] ЭМ *Th. marschallianus* содержит преобладающее количество карвакрола, которому сопутствуют борнеол, тимол, β -бисаболен и незначительно п-цимена. В исследованиях зарубежных авторов также отмечается, что основными компонентами этого ЭМ являются ароматические монотерпены – тимол и карвакрол, содержание которых достигает 46-54% [144, 156, 177].

Фенолкарбоновые кислоты в надземной части *Th. marschallianus* в основном представлены кофейной (58,39 мг/кг), розмариновой (5740,66 мг/кг) и феруловой кислотами (303,10 мг/кг) [112].

Среди флавоноидов в надземной части *Th. marschallianus* преобладающим является лютеолин-7-глюкозид (цинарозид), содержание которого составило 964,97 мг/кг [42, 112]. Кроме цинарозида в химическом составе травы *Th. marschallianus* также выявлены

скутеллареин и скутелларин [112]. Идентификацию в данном исследовании проводили сравнением ИК-спектров и дифференциальных УФ-спектров со стандартными образцами исследуемых соединений. В другом исследовании [56] в надземной части *Th. marschallianus* по результатам тонкослойной хроматографии идентифицированы рутин и кверцетин. Сумма флавоноидов в сухом сырье *Th. marschallianus*, собранном на территории Волгоградской области, в пересчете на цинарозид составила 1,98% [112]. При изучении количественного содержания флавоноидов *Th. marschallianus*, собранного в республике Северная Осетия, сумму флавоноидов определяли в пересчете на кверцетин, и она составила 0,30% [42].

В сырье *Th. marschallianus* содержатся дубильные вещества в основном конденсированной группы. В литературе описано, что при количественном определении дубильных веществ с помощью перманганатометрического метода их содержание составило 14,00%, а с помощью комплексонометрического метода – 8,50%. Такое расхождение результатов количественного определения обусловлено разной избирательностью используемых методов анализа к дубильным и сопутствующим веществам. Авторы исследования утверждают, что определение содержания дубильных веществ в растительном сырье с помощью комплексонометрии более объективно [112].

Изучение жирокислотного состава травы *Th. marschallianus* показало преобладающее содержание среди насыщенных кислот пальмитиновой (1488,50 мг/кг), тетракозановой (177,20 мг/кг) и бегеновой кислот (167,34 мг/кг); ненасыщенные кислоты представлены преимущественно линоленовой (554,59 мг/кг), линолевой (434,15 мг/кг), олеиновой (252,37 мг/кг), арахидоновой (138,56 мг/кг) и стеариновой (132,53 мг/кг) кислотами [112].

Другой группой биологически активных соединений, содержащихся в траве *Th. marschallianus*, являются тритерпеновые соединения. Хроматографический анализ водно-спиртовых и водных извлечений, полученных из сырья, позволил идентифицировать урсоловую и олеаноловую кислоты [112]. Пектиновые вещества составляют немалую долю от содержания всех химических соединений надземной части *Th. marschallianus* (их выход составил 17,78%) [23, 112]. В настоящее время изучен аминокислотный состав травы *Th. marschallianus*. В результате хроматографического анализа было выявлено 15 аминокислот, содержание которых составило 0,97 мг/100 мг, из них семь незаменимых – лейцин, изолейцин, лизин, валин, метионин, треонин, фенилаланин [24, 112].

В сырье *Th. marschallianus* наибольшая концентрация биоэлементов наблюдается для натрия, калия, кальция и кремния. При этом в наименьшем количестве находятся такие элементы как свинец, молибден, кобальт, кадмий, ртуть и мышьяк [24, 112].

Таблица 2 – Химические соединения в составе травы *Th. marschallianus* по данным литературы [21, 22, 23, 24, 26, 48, 112]

Химические соединения	<i>Th. serpyllum</i>	Содержание химических соединений	<i>Th. marschallianus</i>	Содержание химических соединений
Эфирные масла	Хемотип 1- α -терпинеол	0,56%	Хемотип карвакрола, борнеола, тимола, β -бисаболена	1,72%
	α -терпинен	14,36 мг/кг	-	-
	α -терпинеол	3381,06 мг/кг	-	-
	γ -терпинен	4,73 мг/кг	γ -терпинен	79,3 мг/кг
	-	-	пара-цимен	42,3 мг/кг
	лимонен	50,26 мг/кг	-	-
	линалоол	2285,7 мг/кг	линалоол	236,1 мг/кг
	камфора	61,36 мг/кг	-	-
	борнеол	338,48 мг/кг	борнеол	2521,0 мг/кг
	тимол	828,04 мг/кг	тимол	2195,3 мг/кг
	-	-	метилтимол	76,1 мг/кг
	нерилацетат	12,95 мг/кг	-	-
	неролидол	254,33 мг/кг	-	-
	геранилацетат	321,90 мг/кг	-	-
	гераниол	578,87 мг/кг	-	-
	β -бурбонен	42,79 мг/кг	β -бурбонен	120,7 мг/кг
	-	-	β -кубебен	333,8 мг/кг
	α -кубебен	10,20 мг/кг	α -кубебен	74,3 мг/кг
	-	-	α -кариофиллен	1540,9 мг/кг
	кариофиленоксид	8,00 мг/кг	кариофиленоксид	408,3 мг/кг
	транс-кариофиллен	136,17 мг/кг	-	-
	гермакрен D	108,62 мг/кг	гермакрен D	341,6 мг/кг
	гермакрен B	93,93 мг/кг	-	-
	A-фарнезен	23,24 мг/кг	-	-
фарнезол	75,81 мг/кг	-	-	
-	-	гексагидрофарнезилацетат	44,8 мг/кг мг/кг	
-	-	цис-3-гексен-1-ол	114,9 мг/кг	

Продолжение Таблицы 2

-	-	1-октен-3-ол	741,3 мг/кг
1,8-цинеол	12,68 мг/кг	1,8-цинеол	216,1 мг/кг
-	-	транс-сабиненгидрат	635,6 мг/кг
-	-	метилкарвакрол	256,9 мг/кг
карвакрол	487,78 мг/кг	карвакрол	38980,9 мг/кг
-	-	эвгенол	609,7 мг/кг
гумулен	4,17 мг/кг	-	-
В-бисаболен	336,52 мг/кг	β-бисаболен	2559,7 мг/кг
-	-	цис-α-бисаболен	368,3 мг/кг
-	-	А-мууролен	153,7 мг/кг
-	-	γ-кадинен	156,6 мг/кг
δ-кадинен	10,95 мг/кг	δ-кадинен	620,7 мг/кг
спатуенол	611,27 мг/кг	спатуенол	698,1 мг/кг
изоспатуенол	37,21 мг/кг	-	-
β-мирцен	39,31 мг/кг	-	-
транс-оцимен	14,04 мг/кг	-	-
цис-оцимен	27,26 мг/кг	-	-
фитол	7,48 мг/кг	-	-
пентакозан	2,12 мг/кг	пентакозан	40,0 мг/кг
гептакозан	5,66 мг/кг	гептакозан	48,6 мг/кг
сквален	167,95 мг/кг	сквален	357,4 мг/кг
нонакозан	12,42 мг/кг	нонакозан	87,2 мг/кг
трикозан	3,16 мг/кг	-	-
гексакозан	4,79 мг/кг	-	-
транс-линалоол 3,6-оксид	80,66 мг/кг	-	-
цис-линалоол оксид	27,41 мг/кг	-	-
нераль	1041,87 мг/кг	-	-
нерол	432,32 мг/кг	-	-
гераниаль	1137,01 мг/кг	-	-
α-терпенил ацетат	1160,93 мг/кг	-	-
α-бисаболен	40,34 мг/кг	-	-

Продолжение Таблицы 2

	γ-гурьюнен	17,78 мг/кг	-	-
	α-кадинол	5,95 мг/кг	-	-
	муорол	17,43 мг/кг	-	-
	аромадендреноксид	5,18 мг/кг	-	-
	транс-α-бисаболенэпоксид	8,17 мг/кг	-	-
	изоаромадендренэпоксид	9,87 мг/кг	-	-
	цис-α-бисаболенэпоксид	33,84 мг/кг	-	-
	кумол	3,74 мг/кг	-	-
	α-терпинолен	22,19 мг/кг	-	-
	лимонен оксид	19,66 мг/кг	-	-
	нерол оксид	26,82 мг/кг	-	-
	эндоборнилацетат	53,84 мг/кг	-	-
	хризантенон	5,33 мг/кг	-	-
	вербенон	30,53 мг/кг	-	-
	зингеберен	6,64 мг/кг	-	-
	сесквифеландрен	12,39 мг/кг	-	-
	ланцеол	52,22 мг/кг	-	-
	леден оксид	33,62 мг/кг	-	-
Фенольные соединения фенолкарбоновые кислоты: фенолоксиды		4,86%		4,51%
	Ванилиновая кислота	323,56 мг/кг	Ванилиновая кислота	173,20 мг/кг
	p-оксибензойная кислота	83,68 мг/кг	p-оксибензойная кислота	43,20 мг/кг
	Галловая кислота	248,20 мг/кг	-	-
	Сиреневая кислота	90,12 мг/кг	Сиреневая кислота	134,63 мг/кг
	Гентизиновая кислота	65,24 мг/кг	Гентизиновая кислота	97,17 мг/кг
	Салициловая кислота	199,60 мг/кг	Салициловая кислота	194,63 мг/кг
	Фенилуксусная кислота	31,93 мг/кг	Фенилуксусная кислота	21,50 мг/кг

Продолжение Таблицы 2

оксикоричные кислоты	Розмариновая кислота	2246,23 мг/кг	Розмариновая кислота	5740,66 мг/кг
	Кофейная кислота	77,86 мг/кг	Кофейная кислота	58,39 мг/кг
	p-кумаровая кислота	85,62 мг/кг	p-кумаровая кислота	40,15 мг/кг
	Феруловая кислота	326,53 мг/кг	Феруловая кислота	303,10 мг/кг
	Изоферуловая кислота	59,86 мг/кг	-	-
флавоноиды		0,98%		1,56%
	-	-	Норнепетин	203,62 мг/кг
	-	-	Гиполеатин	280,68 мг/кг
	-	-	Хризозеиол	195,86 мг/кг
	Цинарозид	1050,64 мг/кг	Цинарозид	964,97 мг/кг
	Скутелларин	64,85 мг/кг	Скутелларин	964,97 мг/кг
	-	-	Скутелляреин	-
	-	-	Байкалеин	-
	Апигенин	-	Апигенин	-
	Лютеолин	-	Лютеолин	-
	-	-	Космосеин	-
кумарины	Умбеллиферон	-	-	-
	Скополетин	-	-	-
дубильные вещества	сумма	16,02%	сумма	14,00%
Сапонины тритерпеновые	сумма	1,85%	сумма	2,10%
	Олеаноловая кислота		Олеаноловая кислота	
	Урсоловая кислота		Урсоловая кислота	
Жирокислотный состав	-	-	α -фурановая	30,74 мг/кг
	Капроновая	29,85 мг/кг	Капроновая	28,09 мг/кг
	Лауриновая	45,15 мг/кг	Лауриновая	48,42 мг/кг
	Миристиновая	194,24 мг/кг	Миристиновая	123,79 мг/кг
	Пальмитиновая	4344,75 мг/кг	Пальмитиновая	1488,50 мг/кг
	Пальмитолеиновая	219,11 мг/кг	Пальмитолеиновая	64,35 мг/кг
	Гептадекановая (маргариновая)	64,52 мг/кг	Гептадекановая (маргариновая)	31,62 мг/кг
	Стеариновая	409,20 мг/кг	Стеариновая	132,53 мг/кг
	Олеиновая	803,14 мг/кг	Олеиновая	252,37 мг/кг

Продолжение Таблицы 2

	Линолевая	1695,58 мг/кг	Линолевая	434,15 мг/кг
	Линоленовая	2089,92 мг/кг	Линоленовая	554,59 мг/кг
	Арахидоновая	249,89 мг/кг	Арахидоновая	138,56 мг/кг
	2-оксипальмитиновая	122,61 мг/кг	-	-
	Бегеновая	382,17 мг/кг	Бегеновая	167,34 мг/кг
	Трикозановая	63,98 мг/кг	-	-
	Тетракозановая	270,50 мг/кг	Тетракозановая	177,20 мг/кг
	Пентадекановая	73,90 мг/кг	Пентадекановая	13,50 мг/кг
Углеводы полисахариды водорастворимые		5,55 %		5,65%
пектиновые вещества	сумма	10,25%	сумма	17,78%
Аминокислоты	Сумма свободных:	0,58 мг/100г	Сумма свободных:	0,97 мг/100г
	Аланин	0,03	Аланин	0,16
	Аргинин	0,05	Аргинин	0,08
	Аспарагиновая кислота	0,03	Аспарагиновая кислота	0,05
	Валин	0,03	Валин	0,05
	Гистидин	0,02	Гистидин	0,03
	Глицин	0,04	Глицин	0,05
	Цистин	0,13	Цистин	0,23
	Лейцин	0,06	Лейцин	0,08
	Лизин	0,06	Лизин	0,05
	Метионин	0,01	Метионин	0,01
	Изолейцин	0,01	Изолейцин	0,01
	Тирозин	0,03	Тирозин	0,05
	Треонин	0,03	Треонин	0,04
	Серин	0,02	Серин	0,04
	Фенилаланин	0,03	Фенилаланин	0,04
	Сумма связанных:	2,10мг/100г	Сумма связанных:	2,21мг/100г
	Аланин	0,12	Аланин	0,13
	Аргинин	0,16	Аргинин	0,25

Продолжение Таблицы 2

	Аспарагиновая кислота	0,06	Аспарагиновая кислота	0,05
	Валин	0,23	Валин	0,15
	Гистидин	0,05	Гистидин	0,08
	Глицин	0,14	Глицин	0,06
	Глутаминовая кислота	0,15	Глутаминовая кислота	0,08
	Пролин	0,46	Пролин	0,85
	Цистеин	Следы	Цистеин	Следы
	Лейцин	0,26	Лейцин	0,10
	Изолейцин	0,03	Изолейцин	0,07
	Лизин	0,08	Лизин	0,17
	Метионин	0,05	Метионин	0,05
	Тирозин	0,07	Тирозин	0,10
	Треонин	0,04	Треонин	0,03
	Серин	0,06	Серин	0,02
	Фенилаланин	0,14	Фенилаланин	0,02
Органические кислоты	сумма	11,15%	сумма	5,80%
	Щавелевая кислота	587,91 мг/кг	Щавелевая кислота	881,35 мг/кг
	Малоновая кислота	1024,52 мг/кг	Малоновая кислота	1603,21 мг/кг
	Фумаровая кислота	23,18 мг/кг	Фумаровая кислота	26,93 мг/кг
	Янтарная кислота	567,80 мг/кг	Янтарная кислота	379,10 мг/кг
	Яблочная кислота	1884,70 мг/кг	Яблочная кислота	979,10 мг/кг
	Азелаиновая кислота	344,64 мг/кг	Азелаиновая кислота	378,13 мг/кг
	Лимонная кислота	2337,10 мг/кг	Лимонная кислота	1885,16 мг/кг
	Гексацикарбоновая кислота	169,81 мг/кг	Гексацикарбоновая кислота	89,79 мг/кг
	Глутаровая кислота	73,74 мг/кг	-	-
	Левулиновая кислота	46,19 мг/кг	Левулиновая кислота	3543,81 мг/кг
	Бензойная кислота	128,17 мг/кг	Бензойная кислота	59,50 мг/кг
Минеральный состав	K>Ca>Si>Mg>P>Na>Mn=Fe=Al>Zn >Sr>Cu>Ni>Pb=Mo=Co>Cd=As=Hg	-	K>Ca>Si>Na=Mg>P>Fe=Al>Mn>Zn >Sr>Cu>Ni>Pb=Mo=Co>Cd=As=Hg	-
	Калий (K)	4110 мг/кг	Калий (K)	2430 мг/кг
	Кальций (Ca)	530 мг/кг	Кальций (Ca)	1300 мг/кг
	Кремний (Si)	400 мг/кг	Кремний (Si)	650 мг/кг

Продолжение Таблицы 2

Натрий (Na)	66 мг/кг	Натрий (Na)	245 мг/кг
Магний (Mg)	200 мг/кг	Магний (Mg)	245 мг/кг
Стронций (Sr)	9,90 мг/кг	Стронций (Sr)	8,1 мг/кг
Железо (Fe)	20 мг/кг	Железо (Fe)	80 мг/кг
Алюминий (Al)	20 мг/кг	Алюминий (Al)	80 мг/кг
Марганец (Mn)	20 мг/кг	Марганец (Mn)	40 мг/кг
Цинк (Zn)	13,20 мг/кг	Цинк (Zn)	16 мг/кг
Фосфор (P)	160 мг/кг	Фосфор (P)	140 мг/кг
Медь (Cu)	0,49 мг/кг	Медь (Cu)	1,2 мг/кг
Никель (Ni)	0,14 мг/кг	Никель (Ni)	0,8 мг/кг
Молибден (Mo)	<0,03 мг/кг	Молибден (Mo)	<0,03 мг/кг
Кобальт (Co)	<0,03 мг/кг	Кобальт (Co)	<0,03 мг/кг
Свинец (Pb)	<0,03 мг/кг	Свинец (Pb)	<0,03 мг/кг
Кадмий (Cd)	<0,01 мг/кг	Кадмий (Cd)	<0,01 мг/кг
Мышьяк (As)	<0,01 мг/кг	Мышьяк (As)	<0,01 мг/кг
Ртуть (Hg)	<0,01 мг/кг	Ртуть (Hg)	<0,01 мг/кг

Следует отметить, что приведенные в таблице 2 химические соединения, входящие в состав травы *Th. marschallianus*, имеют разную химическую природу, поэтому их выделение и идентификация предусматривают соблюдение определенных условий (выбор экстрагента, изменение температуры, параметры экстракции). В каждом отдельном случае условия экстрагирования способствуют более полному извлечению тех или иных компонентов из сырья, поэтому такой экстракт не содержит полностью все соединения, содержащиеся в исходном растительном сырье. Каждое извлечение будет содержать уникальную экстрактивную композицию и может проявлять разное фармакотерапевтическое действие [63], что делает актуальным изучение химического состава и фармакологической активности извлечений, полученных разными способами.

1.2. Фармакологические свойства *Th. marschallianus*

В течение последних десятилетий в ряде исследований был выявлен значительный потенциал ЛР, оказывающих положительное влияние при лечении некоторых заболеваний [25, 98, 139]. Лекарственные препараты из растительного сырья широко используются в официальной и народной медицине, т.к. они обладают меньшим количеством побочных эффектов и комплексным биохимическим воздействием на организм человека за счет способности влиять на разные звенья патологического процесса [20, 61, 62, 66, 107, 195, 196, 197]. Химическая структура и свойства БАВ растения обуславливают фармакологические эффекты препаратов на основе ЛР, т.к. являясь биомолекулами, образующимися в процессе метаболизма, они обладают сродством к организму человека [107]. ЛРС и препараты на его основе характеризуются сложным многокомпонентным составом, включающим комплекс БАВ, поэтому, несмотря на значимый фармакологический эффект «действующих веществ», терапевтический эффект часто обусловлен воздействием фитокомпозиции на органы и функциональные системы организма, при этом в ряде случаев изолированные соединения могут значительно уступать по активности всему комплексу БАВ [81].

Существуют альтернативные данные, свидетельствующие о наличии у фитопрепаратов разных по степени проявления побочных эффектов [1, 173, 198], а также о недостаточной эффективности средств растительного происхождения, что может быть обусловлено рядом факторов: в некоторых случаях отмечается отсутствие доказательной базы, основанной на клинических исследованиях [194], могут быть противоречивыми результаты экспериментальных исследований в целом [161], а также возможно негативное взаимодействие фитопрепарата и основного терапевтического лекарственного средства [147]. Известно также, что некоторые средства растительного происхождения могут оказывать токсическое действие

при несоблюдении дозировки (например, препараты ландыша майского в токсической концентрации вызывают блокаду синусового узла и внутрижелудочковую блокаду, передозировка препаратами жостера слабительного вызывает гастро-энтеротоксичные проявления, клиническая картина отравления также может развиваться при передозировке препаратами бузины черной за счет блокады клеточного дыхания) [57]. Кроме того, фитопрепараты могут вызвать аллергические реакции. Следует отметить, что растения содержат комплекс биологически активных соединений, это обуславливает широкий спектр их фармакологических эффектов, оказываемых на организм человека, которые могут быть как терапевтическими, так и нежелательными, что показывает важность применения фитопрепаратов по медицинским показаниям с учетом возможных эффектов и межлекарственных взаимодействий. Отмеченные проблемы в исследованиях средств растительного происхождения подчеркивают необходимость комплексного научного подхода к оценке их химического состава и эффективности.

Th. marschallianus является перспективным для использования в медицинской практике, что подтверждается его фармакологической активностью, показанной в ранее проведенных экспериментах [26, 65, 112, 174, 208], но в настоящее время его применяют только в народной медицине в виде настоя при острых респираторных инфекциях, зубной боли, стоматитах, как антисептическое и противовоспалительное средство, при бессоннице, как седативное и спазмолитическое средство [4, 37, 38, 61, 62, 112]. Как известно, в медицинской практике ЛРС *Th. serpyllum* широко применяется в качестве отхаркивающего средства с доказанным терапевтическим эффектом. Проведенные экспериментальные исследования показали, что отхаркивающая активность настоя *Th. marschallianus* практически не отличалась от активности фармакопейного *Th. serpyllum* [20, 112]. Существующие данные об активности того или иного извлечения часто носят противоречивый или недостаточно полный характер. Например, антимикробную активность ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* ранее исследовали на стандартных штаммах микроорганизмов [7, 110, 112], при этом в экспериментах использовались разные методы определения активности масел, способы их введения в питательную среду, применялась разная микробная нагрузка. В отношении клинических штаммов, полученных из биоматериала больных, сведения об антимикробной активности ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в сравнительном аспекте отсутствовали.

Эфирные масла являются значимой группой БАС растений рода *Thymus* и других представителей семейства *Lamiaceae* [1, 26, 61, 62, 112], они обладают широким спектром фармакологических эффектов, таких как отхаркивающее, противовоспалительное, антимикробное и успокаивающее действия [1, 26, 112, 149]. ЭМ являются перспективными антимикробными агентами, антимикробная активность которых обусловлена содержанием

производных фенола (тимола и карвакрола), монотерпенов, простых и сложных эфиров, альдегидов, кетонов [144, 156, 177]. В медицине тимол используют как антигельминтное средство при лечении гельминтозов (анкилостомидоза, трихоцефалёза и др.), в качестве антисептика для дезинфекции полости рта, зева и носоглотки. В фармацевтической отрасли – как консервант [112]. Карвакрол ингибирует рост и убивает большинство известных патогенов, а также проявляет эффективность при защите дезоксирибонуклеиновой кислоты от повреждений и предотвращении развития атипичных клеток [90]. В настоящее время п-цимен не используется в медицине, так как доказана его низкая бактерицидная активность по сравнению с карвакролом и тимолом [11].

У ЭМ тимьянов антимикробная активность выявлена в отношении как условно-патогенных, так и патогенных бактерий и грибов [144, 145, 156, 163, 177, 201, 209]. При этом особых различий в значении минимальных ингибирующих концентраций (МИК) в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий не установлено [156]. Механизм антибактериального действия ЭМ растений, по мнению исследователей, связан с «воздействием на мембрану клеток, в т.ч. внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий, они нарушают трансмембранный транспорт, ионную проницаемость, работу цепи переноса электронов, но до конца процесс не изучен» [201, 209]. Изучено проявление бактериостатического эффекта на различные группы микроорганизмов настоя и ЭМ сырья [112]. Исследование антибактериальной активности заключалось в приготовлении серии разведений в стерильном агаре настоя и ЭМ, полученных из сырья *Th. marschallianus*. Эти разведения распределяли по чашкам Петри и засеивали взвесью суточных культур (100 КОЕ/мл) перечисленных штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, грибы рода *Candida* [112]. Имеются данные об антибактериальной и противогрибковой активности извлечений *Th. marschallianus* в отношении стандартных штаммов микроорганизмов [192, 193], но отсутствуют исследования в отношении клинических штаммов.

Одними из самых сильных антиоксидантов являются представители фенолкарбоновых кислот – кофейная и галловая кислоты, которые также проявляют антимикробные свойства [179, 199]. Антиоксидантной активностью [183], наряду с противовоспалительной [212], обладают флавоны апигенин и лютеолин.

В настоящее время выявлена анксиолитическая активность лиофилизированного экстракта *Th. marschallianus* по результатам проведения теста «приподнятый крестообразный лабиринт» [208], что указывает на перспективность исследований в этой области.

В ряде исследований показано, что введение извлечений травы *Th. marschallianus* ингибирует перекисное окисление липидов и улучшает антиоксидантную активность в лобных

долях крыс [174, 208]. Спиртовые, водно-спиртовые и лиофилизированные извлечения *Th. marschallianus* в исследованиях *in vitro* и в экспериментах *in vivo* показали высокую антиоксидантную активность [65, 174, 208]. Например, показана *in vitro* антиоксидантная активность извлечения травы *Th. marschallianus*, полученного с использованием этилового спирта 70%. Оценку антиоксидантной активности проводили по показателям светосуммы свечения и максимальной светимости [65]. Антиоксидантные свойства извлечений из сырья *Th. marschallianus* были изучены с помощью перманганатометрии, основанной на окислении восстановителей перманганат-ионами. Расчет показателя антиоксидантной активности исследуемых извлечений проводили в пересчете на кверцетин, рутин и цинарозид. Экспериментально установлено выраженное антиоксидантное действие водно-спиртовых извлечений [112, 127].

В литературе описано изучение антиоксидантной активности водно-спиртовых извлечений сырья *Th. marschallianus* на эндотелиальных клетках пупочной вены человека, подвергшихся воздействию нормогликемических (137 ммоль/л глюкозы) и гипергликемических условий (200 ммоль/л глюкозы). Первоначально извлечения получали методом твердофазной экстракции в смеси этанол/вода (1:2), после чего обрабатывали их ультразвуком и центрифугировали. Далее собранные центрифугаты разбавляли в соотношении 1:10 смесью этанол/вода (70% по объему). Их влияние на гипергликемию оценивали путем количественного определения окислительного стресса и экспрессии NF-kB, pNF-kB, HIF-1 α , γ -H₂AХ [174]. Изучение влияния лиофилизированных экстрактов *Th. marschallianus* на крысах с индуцированной гипергликемией проводили, оценивая уровень малонового диальдегида и экспрессию NF-kB, CpG-связывающего белка (MECP) и гистондеацетилазы 1 (HDAC1) в гиппокампе и лобной доле [208].

В литературных источниках отсутствуют сведения о противоопухолевой активности извлечений *Th. marschallianus*, но ранее она изучена для других видов рода *Thymus*, имеющих разный ареал произрастания – *Th. serpyllum*, [78, 142, 171], *Th. vulgaris* [141, 142, 146, 148, 164], *Th. algeriensis* [142, 159], *Th. mastichina*, *Th. carnosus*, *Th. pulegioides*, *Th. citriodorus*, *Th. caramanicus*, *Th. zygis*, *Th. satureioides*, *Th. schimperi* [142]. В исследовании [78], проведенном с использованием теста МТТ, показано, что метанольное извлечение *Th. serpyllum* (500-2500 мкг/мл) проявило цитотоксический эффект в отношении линии клеток эпителиоидной карциномы шейки матки человека (М HeLa), который варьировал от 50% до 100%. В другом эксперименте [171] метанольное извлечение *Th. serpyllum* вызывало апоптоз клеток опухоли молочной железы (MCF-7 и MDA-MB-231), не проявляя цитотоксического действия по отношению к линиям здоровых клеток молочной железы (MCF-10A) человека. ЭМ *Th. vulgaris* также показало антипролиферативную активность на линии клеток MCF-7 и MDA-MB-231

[146]. В обеих тестируемых клеточных линиях ЭМ *Th. vulgaris* снижало метаболическую активность и выживаемость клеток при концентрации 0,13 и 0,12 мкг/мл, мкг/мл соответственно [146]. Тимол, выделенный из *Th. vulgaris*, угнетал рост и метастазирование клеток колоректального рака *in vitro* за счет ингибирования сигнального пути Wnt/ β -катенина, проявляя антипролиферативную активность, индуцируя апоптоз и остановку клеточного цикла [210]. Изучение противоопухолевой активности *Th. vulgaris* [146] проведено на моделях карциномы молочной железы *in vivo*: химиопрофилактика изучалась на самках крыс, а терапевтическое применение на самках мышей. Животным вводили в рацион гранулы травы *Th. vulgaris* в двух концентрациях 1 г/кг и 10 г/кг. *Th. vulgaris*, применяемый с целью химиопрофилактики в дозе 10 г/кг, значительно ингибировал образование карциномы молочной железы у крыс на 53% по сравнению с контролем, но латентность опухоли и ее средний объем существенно не изменились. Химиопрофилактическая эффективность (частота опухолей), наблюдаемая в этой группе у крыс, значимо коррелировала с уменьшением опухолей, т.е. было отмечено небольшое количество новых опухолей, которые росли дольше. *Th. vulgaris* в дозе 1 г/кг не показал каких-либо значительных изменений по сравнению с контролем. Терапевтическое применение у мышей, получавших *Th. vulgaris*, объем опухолей был значительно меньше в двух экспериментальных группах по сравнению с контролем: на 85% в группе, получавшей гранулы при концентрации 1 г/кг и на 84% в группе, получавшей гранулы при концентрации 10 г/кг. Более того, у мышей с аденокарциномой *Th. vulgaris* в обеих дозах достоверно уменьшал соотношение некроза ко всей площади опухоли – на 77% (1 г/кг) и 81% (10 г/кг) и индекс митотической активности – на 31,5% (1 г/кг) и 25% (10 г/кг) по сравнению с контролем. В другом исследовании [159] с помощью МТТ теста *in vitro* выявлены антипролиферативные свойства этанольного лиофильного извлечения, а также ЭМ нефармакопейного вида *Th. algeriensis*. Исследование проведено на пяти линиях опухолевых клеток человека – аденокарциномы молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231, аденокарциномы HeLa, предстательной железы PC3, лейкемии K56S. ЭМ проявили большую эффективность, чем этанольные извлечения, подавляя рост всех опухолевых клеточных линий: среднелетальная доза этанольного извлечения превысила 10000 мкг/мл, в то время как концентрация ЭМ варьировала в пределах 300-1067 мкг/мл. Среднелетальная доза противоопухолевого препарата доксорубицина (положительный контроль) составила 1-20 мкг/мл [159]. Для *Th. marschallianus* аналогичные исследования проведены не были. При этом методом *in silico* было спрогнозировано проявление цитостатической и антинеопластической активностей соединениями полифенольного комплекса настоя и настойки, полученных из травы *Th. marschallianus* [48].

Ранее было изучено влияние на когнитивные функции растительных извлечений различных эфирномасличных растений [140, 154, 170, 181]. Результаты достоверно показали улучшение памяти в экспериментах *in vivo*, а также при проведении рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования. В тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» лиофилизированные экстракты из надземной части *Th. marschallianus*, вводимые лабораторным животным перорально в дозе 200 мг/кг, показали снижение уровня тревоги у крыс [208]. Так как имеется исследование [208], выявившее анксиолитическую активность извлечения из травы *Th. marschallianus*, можно прогнозировать актуальность проведения аналогичных экспериментов. Но до настоящего времени исследования воздействия на когнитивные функции и изучение антидепрессантной активности *Th. marschallianus* не проводились.

Отхаркивающая активность была исследована путем регистрации движения ресничек мерцательного эпителия пищевода лягушек при нанесении водного извлечения сырья *Th. marschallianus*, приготовленного в соотношении сырье:экстракт 1:10. В качестве препарата сравнения использовали настой сырья *Th. serpyllum*. Установлено, что водное извлечение *Th. marschallianus* обладает незначительно более выраженной отхаркивающей активностью в сравнении с официальным видом [112].

При изучении противовоспалительной активности растительного сырья *Th. marschallianus* [181] оценивали антиэкссудативное действие и пролиферативные процессы воспаления. Эксперименты проводили на лабораторных мышах и крысах, которым вводили настой травы *Th. marschallianus* в дозе 1000 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали настой травы *Th. serpyllum*. Острое асептическое воспаление вызывали с помощью введения в сухожилия задних конечностей животных 2,5% раствора формалина. Пролиферативную активность изучали, имплантируя крысам стерильные ватные шарики под кожу. Установлено, что антиэкссудативное и пролиферативное действие исследуемого сырья сопоставимо с *Th. serpyllum* [112].

Изучение влияния водного извлечения сырья *Th. marschallianus* на проницаемость сосудов выполняли на белых кроликах, вызывая локальную воспалительную реакцию. Животным вводили внутривенно настой в дозе 1000 мг/кг. В качестве препарата сравнения применяли настой травы *Th. serpyllum*. Установлено, что ангиопротекторная активность настоя травы *Th. marschallianus* не уступает таковой у извлечения *Th. serpyllum* [112].

В литературе имеются сведения, описывающие фармакологическую активность отдельных соединений, входящих в состав травы *Th. marschallianus*. Например, розмариновая кислота способна оказывать антимикробную [153], иммуномодулирующую [169], противовоспалительную [178], антиоксидантную [200], нейропротекторную [160],

противовирусную активность [175]. Литературные данные описывают наличие у феруловой кислоты следующие виды биологической активности: противовоспалительная [150, 189], противоопухолевая [175], гепатопротекторная [215], противовирусная [168], антибактериальная [155] и другие. Урсоловая и олеаноловая кислоты показали выраженную биологическую активность в различных экспериментах. Доказана их противогрибковая и антимикробная активность, обнаружена антисклеротическая активность, а также противовоспалительное и анальгезирующее действие [180, 188, 204, 206, 207]. Пектиновые вещества, которые наряду с другими БАС содержатся в *Th. marschallianus*, могут применяться при отравлениях солями тяжелых металлов, что объясняется их способностью связывать катионы металлов [47]. Кроме этого, пектиновые вещества используют при лечении кишечных инфекций, так как они обладают бактериостатической активностью [41].

Таким образом, накопленные экспериментальные данные показывают, что трава *Th. marschallianus* характеризуется богатым химическим составом и проанализированные к настоящему времени извлечения, полученные из этого растительного сырья, уже показали определенные направления фармакологической активности. Дальнейшее изучение экстрактивных композиций позволит углубить представления о БАВ, входящих в их состав, а также расширить спектр представлений о фармакологическом потенциале извлечений травы *Th. marschallianus*.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. С использованием литературных источников проведена оценка изученных ранее ресурсов *Th. marschallianus*, фармакогностической изученности макро- и микроскопических признаков сырья, химического состава и фармакологической активности его извлечений: в настоящее время имеются единичные ресурсоведческие исследования *Th. marschallianus* только в Карагандинской области и фрагментарно в Нижнем Поволжье. В Саратовской области изучение ресурсов *Th. marschallianus* и объема возможных заготовок его сырья не проводились.

2. Обосновано, что видовая идентификация и установление подлинности сырья представителей рода *Thymus*, особенно измельченного, затруднены, т.к. род является сложным в систематическом отношении, включает морфологически сходные виды. При установлении подлинности измельченного растительного сырья тимьянов (*Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*), важен системный подход, который заключается в комплексном анализе морфологических и физико-химических особенностей.

3. Литературный анализ данных показал, что исследования химического состава и фармакологической активности экстракционных препаратов из травы *Th. marschallianus*, полученных разными способами, фрагментарны и не систематизированы, часто носят противоречивый или недостаточно полный характер.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационное исследование выполнено на базе кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского; химический анализ также проводили на базе лаборатории по исследованию и контролю качества лекарственных средств Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского и на базе Самаркандского государственного медицинского института; противоопухолевая активность *in vivo* и *in vitro* проведена на базе НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии (центра коллективного пользования экспериментальной онкологии и лаборатории клеточных технологий); гистологические исследования проведены на базе кафедры патологической анатомии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского, микробиологические – на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, а также кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского.

Отбор проб для анализа сырья осуществляли согласно ОФС.1.1.0005 «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [34].

2.1. Объекты исследования

В качестве объектов исследования были использованы:

1. Сырье:

– Трава *Th. marschallianus*, которая была собрана на территории Саратовской области в естественных местах обитания.

– Измельченная трава *Th. serpyllum*, которая была приобретена в аптечной сети. Подлинность сырья подтверждена микроскопическим анализом (микроскоп Carl ZEISS PrimoStar, Германия).

2. Извлечения:

– Водное извлечение из травы *Th. marschallianus*;

– Водное извлечение из травы *Th. serpyllum*.

Водные извлечения из сырья получали согласно требованиям ГФ РФ XV ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» (экстрагент – вода): «измельченное сырье в соотношении 1:10 заливали водой комнатной температуры, взятой с учетом коэффициента водопоглощения, и настаивали на кипящей водяной бане 15 мин, а затем при комнатной температуре 40 мин, после чего процеживали, отжимая остаток лекарственного растительного сырья, и добавляли

воду до предписанного объема извлечения. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр» [34].

- Спиртовое извлечение из травы *Th. marschallianus*;
- Спиртовое извлечение из травы *Th. serpyllum*.

Спиртовые извлечения из сырья получали по запатентованной методике: «двухкратную экстракцию из 10 г сырья проводили спиртом этиловым 95% (по 100 мл), упаривали до полного удаления спирта, растворяли в воде (8 мл) и очищали хлороформом (2 мл), затем полученную водную фракцию концентрировали» методом сгущения (упариванием на водяной бане) [80].

3. Эфирные масла *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*.

Получение ЭМ из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* проводили согласно требованиям ГФ XV ОФС.1.5.3.0010 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» методом 1 с помощью прибора для определения содержания ЭМ по методу Гинзберга перегонкой с водяным паром: «измельченную траву (30 г) помещали в круглодонную колбу объемом 1000 мл, приливали 300 мл воды очищенной и закрывали резиновой пробкой с приемником и обратным холодильником. Колбу с содержимым нагревали на колбонагревателе и кипятили в течение двух часов. После окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры полученное ЭМ собирали из приемника в пробирку» [34].

2.2. Места произрастания, места сбора и методы сушки травы *Th. marschallianus*

Th. marschallianus является характерным представителем флоры Саратовской области. Образует заросли по склонам степных балок, встречается в составе разнотравно-злаковых степей на супесчаных почвах [38].

Места сбора сырья – городской округ Саратов, окрестности поселка Красный текстильщик (51,360025 с.ш., 45,834096 в.д., растительное сообщество разнотравно-типчаковая степь на плакоре.), г. Саратов Лысая гора (51,547096 с.ш., 45.978975 в.д., растительное сообщество разнотравная степь на склоне северо-восточной экспозиции). В экспериментах использовали траву *Th. marschallianus*, которую собирали в местах обильного произрастания вдали от автомагистралей, железных дорог и промышленных предприятий. Определение вида проводили по ключу В.Н. Гладковой и Ю.Л. Меницкого во «Флоре европейской части СССР» [119].

Трава *Th. marschallianus* собрана в 2018-2022 гг. в фазе цветения (июнь–июль), при этом срезали надземную часть до уровня одревеснения стебля. Сырье сушили двумя способами:

1. Естественным: в сухом, хорошо проветриваемом помещении, не допуская попадания прямых солнечных лучей (воздушно-теневым способом).

2. Тепловым: была применена сушка инфракрасными лучами, использованы инфракрасные сушильные установки (ООО «Сатор», г. Саратов), имеющие инфракрасный импульсный режим, без принудительной конвекции, которые сокращали время сушки с 5-7 суток при традиционном воздушно-теновом способе до 24-48 часов (в зависимости от изначальной влажности сырья, толщины стеблей). Температура в камере устанавливалась в диапазоне 30-32°C, за счет импульса максимальная температура могла достигать 35°C.

Перед приготовлением извлечений траву измельчали с помощью лабораторной мельницы ЛЗМ-1М (ООО «ЭнергоПромКомплект», Россия) до частиц, проходящих сквозь сито (ООО РПНО «Русприбор», Россия) с диаметром отверстий 2 мм, т.к. максимальное извлечение БАВ достигается при данной степени измельчения сырья [112].

Влажность сырья определяли с помощью анализатора влажности MA-35 (Sartorius Weighting Technology GmbH, Германия).

2.3. Методы ресурсной оценки сырьевых запасов *Th. marschallianus*, произрастающего в Саратовской области

Экспедиционные (полевые) выезды осуществляли в июне 2023 года. Для исследования сырьевых запасов были выбраны территории, где *Th. marschallianus* проявляет значительное обилие в составе фитоценозов. Растительные ассоциации названы согласно доминантному принципу.

Оценку эксплуатационного запаса сырья проводили на конкретных зарослях [19]. Метод включает определение площади заросли и расчёт урожайности. Площадь заросли определяли путем измерения ее границ маршрутами на местности, приравнивая полученные очертания к какой-либо геометрической фигуре. Т.к. *Th. marschallianus* – низкорослый стелющийся полукустарничек, то для определения урожайности использовали метод проективного покрытия: рассчитывали среднее проективное покрытие вида в пределах заросли ($M_1 \pm m_1$), измеряемое квадрат-сеткой (рамка площадью 1 м², разделённая веревкой на 100 квадратов по 1 дм², каждый квадрат – 1% площади), и выход массы сырья с 1% проективного покрытия (цена 1% проективного покрытия) ($M_2 \pm m_2$), который определяли, срезая на учетных площадках с каждого 1 дм² фитомассу и взвешивая сразу с точностью $\pm 5\%$. Затем рассчитывали среднестатистическое значение цены 1% проективного покрытия [36, 89].

Расчет урожайности, эксплуатационного запаса и объёма возможной ежегодной заготовки травы *Th. marschallianus* проводили по общеизвестным формулам, применяемых исследователями растительных ресурсов методом проективного покрытия:

– Урожайность рассчитывали как произведение среднего проективного покрытия на выход массы сырья с 1% проективного покрытия.

$$M = M_1 \times M_2, \text{ где}$$

M – урожайность, г/м²

M_1 – среднее проективное покрытие; %

M_2 – средний выход массы сырья с 1% проективного покрытия, г.

Затем рассчитывали ошибку произведения средних (квадратическое отклонение):

$$m_{1,2} = \sqrt{(M_1 \times m_2)^2 + (M_2 \times m_1)^2}, \text{ где}$$

$m_{1,2}$ – ошибка произведения средних,

M_1 – среднее проективное покрытие, %

m_1 – ошибка средней арифметической величины проективного покрытия,

M_2 – средний выход массы сырья с 1% проективного покрытия, г;

m_2 – ошибка средней арифметической величины цены 1% проективного покрытия.

– Эксплуатационный запас сырья на всей заросли рассчитывали по нижнему пределу урожайности.

$$E = (Y - 2m_{1,2}) \times S, \text{ где}$$

E – эксплуатационный запас, г

Y – урожайность, г/м²

S – площадь заросли, м².

– Объём возможной ежегодной заготовки сырья рассчитывали как частное от деления эксплуатационного запаса на год заготовки и продолжительности периода восстановления заросли, сумма которых составляет оборот заготовки» [36, 89]. Период восстановления заросли *Th. marschallianus* 4 года [18].

$$V_{\text{ВЕЗ}} = \frac{E}{t_{\text{загот}} + t_{\text{восст}}}, \text{ где}$$

$V_{\text{ВЕЗ}}$ – объём возможной ежегодной заготовки, кг

E – эксплуатационный запас, кг

$t_{\text{загот}}$ – время заготовки;

$t_{\text{восст}}$ – время восстановления.

Собранное сырье было высушено для расчета выхода сухого сырья.

Результаты статистически обработаны с помощью программы Excel 2010.

2.4. Метод макроскопического анализа травы *Th. marschallianus*

Макроскопический анализ морфологических признаков испытуемого сырья проводили невооруженным глазом и при помощи бинокля Микромед МС-1 (Россия) при увеличениях «4х». Отмечали окраску, запах, вкус сырья (т.к. сырье не является ядовитым).

Общие правила проведения макроскопического анализа для установления подлинности указаны в ОФС.1.5.1.0002 «Травы» ГФ XV [34].

Внешние признаки, полученные в ходе макроскопического анализа, сравнивали с описанием, приведенным в литературе [112].

2.5. Методы микроскопического анализа травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Приготовление микропрепаратов проводили согласно требованиям ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» ГФ XV РФ [34]. Люминесцентный микроскопический анализ тканей цветка, листа и стебля проводили с помощью микроскопа МИКМЕД-6 ЛЮМ-LED (Россия). Спектральный диапазон возбуждения люминесценции 465-475 нм, исследуемой люминесценции 510-700 нм. Анатомио-диагностические признаки цветка, листа и стебля изучали в проходящем и отраженном свете с помощью микроскопа Carl ZEISS Primo Star (Германия) при увеличениях $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$. Фиксацию диагностических признаков осуществляли с помощью видеокамеры МС-5.3 (Россия) и программного обеспечения TopView (x86).

2.6. Методы химического анализа травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* и их извлечений

Вопросы стандартизации растений рода *Thymus* были рассмотрены ранее [112], в связи с чем для изучения исследуемых объектов применяли фармакопейные методы анализа.

Определение влажности травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Определение проводили в соответствии с ГФ РФ XV ОФС 1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» [34]: 1,0 г воздушно-сухого сырья (точная навеска) помещали в предварительно высушенный до постоянной массы и взвешенный бюкс с крышкой и ставили в сушильный шкаф, нагретый до температуры 100–105°C. Высушивание испытуемого образца проводили до постоянной массы. Первое взвешивание охлаждённых в эксикаторе в течение

30 мин анализируемых образцов проводили через 2 ч. Массу считали постоянной, если разница между двумя последовательными взвешиваниями после 30 мин дополнительного высушивания и 30 мин охлаждения в эксикаторе не превышала $\pm 0,01$ г.

Влажность воздушно-сухого сырья (W) определяли по формуле:

$$W = \frac{(m - m_1)}{m} \times 100, \%$$

где:

m – масса до высушивания, г

m_1 – масса после высушивания, г

Определение проведено в шестикратной повторности.

Определение коэффициента водопоглощения травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Определение проводили в соответствии с ГФ РФ XV OFC 1.5.3.00012 «Определение коэффициента водопоглощения и расходного коэффициента лекарственного растительного сырья» [34]: «10,0 г измельченной травы *Th. marschallianus* заливали 100 мл воды очищенной и настаивали на кипящей водяной бане 15 мин, а затем при комнатной температуре 40 мин. После изготовления полученное водное извлечение процеживали, оставшееся сырье отжимали и измеряли объем полученного водного извлечения».

Коэффициент водопоглощения ($K_{вп}$) рассчитывали по формуле:

$$K_{вп} = \frac{V_1 - V_2}{a}$$

где:

V_1 – объем водного извлечения, который необходимо получить, мл

V_2 – объем водного извлечения, который был получен после отжатия сырья, мл

a – навеска растительного сырья, взятая для приготовления водного извлечения.

Определение проведено в девятикратной повторности.

Проведение качественных реакций

Для выявления содержания дубильных веществ, флавоноидов, полисахаридов, тритерпеновых сапонинов, кумаринов в водном и спиртовом извлечениях из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* проводили известные групповые качественные реакции [118].

1. Обнаружение дубильных веществ:

а) реакция с раствором желатина (специфическая): к 1-3 мл извлечения добавляли 2-3 капли желатина раствора 1% в натрия хлорида растворе 10%. При наличии таннидов должен образоваться белый осадок или помутнение раствора, исчезающие при добавлении избытка желатина. Результаты анализа наблюдали на черном фоне, сравнивая с исходным извлечением.

б) реакция с калия дихроматом: к 3-5 мл извлечения добавляли 2-3 капли калия дихромата раствора 5%. При наличии таннидов должно наблюдаться потемнение раствора или выпадение желто-коричневого осадка.

в) реакция со свинцом основным уксуснокислым: к 1 мл извлечения добавляли 2 мл уксусной кислоты 10% и 1 мл свинца ацетата среднего раствора 10%. Гидролизуемые дубильные вещества выпадают в осадок (белый хлопьевидный), а конденсированные остаются в растворе.

г) реакция с солями железа (III): к 2-3 мл извлечения добавляли 3 капли железоаммонийных квасцов раствора 1%. Гидролизуемые дубильные вещества дают при этом чёрно-синее окрашивание, конденсированные – чёрно-зелёное.

2. Обнаружение флавоноидов:

а) реакция с алюминия хлоридом: к 1 мл извлечения добавляли 3-5 капель алюминия хлорида спиртового раствор 5%. При наличии флавоноидов, содержащих в положении 5 ОН-группу, должно появиться лимонно-жёлтое окрашивание.

б) цианидиновая проба: к 1-2 мл извлечения добавляют 7 капель соляной кислоты концентрированной и металлический цинк; смесь для ускорения реакции и усиления окраски нагревали; в присутствии флавоноидов должно появиться розовое окрашивание.

3. Обнаружение полисахаридов:

Реакция с раствором щёлочи: к 1-2 мл извлечения прибавляли несколько капель гидроксида натрия раствора. При наличии полисахаридов смесь приобретает лимонно-жёлтую окраску.

4. Обнаружение сапонинов.

Реакция пенообразования: 5 мл извлечения разливали в две пробирки. В одну пробирку наливали 5 мл хлористоводородной кислоты (0,1 моль/л), в другую – 5 мл раствора натрия гидроксида (0,1 моль/л), энергично встряхивали в течение минуты. В присутствии сапонинов в двух пробирках должна образовываться пена. Стероидные сапонины образуют обильную и стойкую пену в щелочной среде, тритерпеновые сапонины – как в щелочной, так и в кислой средах.

5. Обнаружение кумаринов.

Лактонная проба: к 1 мл извлечения добавляли 0,5 мл натрия гидроксида раствора 10%, нагревали на кипящей водяной бане. В присутствии кумаринов появляется жёлтое окрашивание. Содержимое пробирки охлаждали, добавляли 4 мл дистиллированной воды, хлористоводородной кислоты раствор 10% до кислой реакции (по лакмусу). В присутствии кумаринов должен появиться осадок или помутнение раствора [118].

Определение содержания экстрактивных веществ в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами

Определение содержания экстрактивных веществ проводили в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, согласно требованиям ГФ РФ XV ОФС 1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» экстрактивные вещества, извлекаемые водой методом 1 (экстрагент – вода) [34]: «к 1,0 г сырья прибавляли 50 мл воды, колбу закрывали пробкой, взвешивали и оставляли на 1 ч. Затем колбу соединяли с обратным холодильником, нагревали, поддерживая слабое кипение в течение 2 ч. После охлаждения колбу с содержимым вновь закрывали той же пробкой и взвешивали. Потерю в массе содержимого колбы восполняли тем же растворителем. Содержимое колбы тщательно взбалтывали и фильтровали через сухой бумажный фильтр».

Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой (X), определяли по формуле:

$$X = \frac{m \times 100 \times (V_{\text{эк}} \times n)}{a \times (100 - W) \times V_{\text{ал}}} \times 100, \%$$

где:

m – масса сухого остатка, г

$V_{\text{эк}}$ – объем экстрагента, используемый при однократной обработке ЛРС, мл

n – количество экстракций,

a – масса навески сырья, г

W – влажность сырья, %

$V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты, взятый для высушивания до постоянной массы, мл

Определение содержания дубильных веществ в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами

Анализ количественного содержания дубильных веществ в пересчете на танин в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами проводили по методике, описанной в ГФ XV ОФС.1.5.3.0008 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» титриметрическим методом, который заключается в определении суммы дубильных веществ в пересчете на танин [34]: 2,0 г сырья (точная навеска) заливали 250 мл нагретой до кипения воды и кипятили с обратным холодильником в течение 30 мин. Полученное извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через вату в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводили объем раствора водой до метки.

Для проведения титриметрического анализа в колбу помещали 25,0 мл полученного водного извлечения, прибавляли 500 мл воды, 25 мл индигосульфокислоты раствора 0,1% и

титровали при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02 М до золотисто-жёлтого окрашивания.

Параллельно проводили контрольный опыт: в колбу помещали 525 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02 М до золотисто-жёлтого окрашивания.

1 мл калия перманганата раствора 0,02 М соответствует 0,004157 г дубильных веществ в пересчёте на танин.

Содержание суммы дубильных веществ (X) в пересчёте на танин вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(V-V_1) \times 0.004157 \times 250 \times 100 \times 100}{a \times 25 \times (100-W)}, \%$$

где:

V – объём калия перманганата раствора 0,02 М, израсходованного на титрование водного извлечения, мл;

V_1 – объём 0,02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл 0,02 М раствора калия перманганата (в пересчете на танин), г;

a – масса навески сырья, г

W – влажность сырья, %

250 – общий объём водного извлечения, мл;

25 – объём водного извлечения, взятого для титрования, мл.

Определение содержания дубильных веществ в водных и спиртовых извлечениях

Th. marschallianus* и *Th. serpyllum

Определение содержания суммы дубильных веществ в пересчете на танин в водных и спиртовых извлечениях *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* проводили согласно аналогичной методике определения содержания суммы дубильных веществ в траве *Th. marschallianus*.

Содержание суммы дубильных веществ (X) в пересчёте на танин вычисляли по формуле [88]:

$$X = \frac{(V-V_1) \times 0.004157 \times V_B \times 100 \times 100}{a \times V_{ал} \times (100-W)}, \%$$

где:

V – объём калия перманганата раствора 0,02 М, израсходованного на титрование водного извлечения, мл;

V_1 – объём 0,02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 – количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл 0,02 М раствора калия перманганата (в пересчете на танин), г;

a – масса извлечения, взятого на анализ, г

V_B – объем воды, используемый для растворения извлечения, взятого на анализ; мл

$V_{ал}$ – объем аликвоты, взятый на анализ; мл

W – влажность извлечения, сконцентрированного методом сгущения, %

Определение содержания суммы флавоноидов

- В траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами.

Определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид) в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами проводили по методике, описанной в ГФ XIV ФС.2.5.0047.15 «Чабреца трава» (экстрагент – этанол 70%, т.к. максимальное извлечение флавоноидов достигается при данной концентрации спирта [112]): 1,0 г сырья (точная навеска) помещали в колбу, заливали 100 мл этиловым спиртом 70%, взвешивали, после чего присоединяли к обратному холодильнику и нагревали в течение 60 мин, затем остужали до комнатной температуры и повторно взвешивали. При необходимости содержимое колбы доводили тем же спиртом до первоначальной массы. Извлечение отфильтровывали, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). Для проведения спектрофотометрического анализа 1,0 мл раствора А помещали в мерную колбу объемом 10 мл, добавляли 2 мл хлорида алюминия раствора 5% в спирте 70%, через 10 мин – 0,4 мл уксусной кислоты 3% и доводили объем раствора спиртом 70% до метки, перемешивали и оставляли на 30 мин (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли относительно раствора сравнения, состоящего из 1,0 мл раствора А и 0,4 мл уксусной кислоты 3%, доведенного спиртом 70% до метки в мерной колбе вместимостью 10 мл [33].

Спектрофотометрическое определение испытуемых растворов (с добавлением хлорида алюминия спиртового раствора 5%) проводили на спектрофотометре SHIMADZU UV-1800 (Япония) в диапазоне 200-500 нм. Эксперимент проведен в трехкратной повторности.

Определение содержания суммы флавоноидов (X), проводили после реакции с алюминия хлоридом в пересчете на цинарозид по формуле:

$$X = \frac{A_{p-p} \times a_0 \times P \times V_{сп.70\%} \times V_{м.к.извл}}{A_0 \times a \times (100 - W) \times V_{м.к.СО}} \times 100, \%$$

где:

A_{p-p} – оптическая плотность исследуемого раствора,

A_0 – оптическая плотность стандартного образца (СО) раствора цинарозида,

a – масса навески сырья, г

a_0 – масса СО цинарозида, г

P – содержание основного вещества в СО цинарозида, %

$V_{\text{сп.70\%}}$ – объем этилового спирта 70%, мл

$V_{\text{м.к.извл}}$ – объем мерной колбы, используемой для разведения извлечения, мл

$V_{\text{м.к.СО}}$ – объем мерной колбы, используемой для разведения СО цинарозида, мл

W – влажность сырья, %

- В извлечениях *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*.

Определение суммы флавоноидов проводили с помощью градуировочного графика, для построения которого готовили стандартный раствор цинарозида с концентрацией 23 мг/л. Рабочие растворы готовили соответствующим разбавлением основного стандартного раствора. Получали серию разведений 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 мг/л.

Приготовление раствора СО лютеолин-7-О-глюкозида (цинарозида). Для приготовления раствора использовали цинарозид (Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$, Германия). Около 0,05 г (точная навеска) цинарозида помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли этанолом 96% при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры довели объем раствора спиртом этиловым 96% до метки (раствор А цинарозида).

1,0 мл раствора А цинарозида помещали в мерную колбу на 10 мл, прибавляли 2 мл хлорида алюминия спиртового раствора 5% и довели объем раствора до метки этанолом 96% (испытуемый раствор Б цинарозида). Оптическую плотность раствора Б цинарозида измеряли относительно раствора сравнения, состоящего из 1,0 мл раствора А и 0,05 мл уксусной кислоты 3%, доведенного спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 10 мл.

Определение содержания суммы флавоноидов в водных и спиртовых извлечениях

Th. marschallianus* и *Th. serpyllum

Определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид) в водных и спиртовых извлечениях *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* проводили согласно аналогичной методике определения содержания суммы флавоноидов в траве *Th. marschallianus*.

Определение содержания суммы флавоноидов (X) в пересчете на цинарозид проводили по формуле [55]:

$$X = \frac{A_{\text{извл}} \times a_0 \times P \times V_{\text{м.к.извл}}}{A_0 \times V_{\text{извл}} \times V_{\text{м.к.СО}}} \times 100, \%$$

где:

$A_{\text{извл}}$ – оптическая плотность исследуемого извлечения,

a_0 – масса СО цинарозида, г

P – содержание основного вещества в СО цинарозида, %

$V_{\text{м.к.извл}}$ – объем мерной колбы, используемой для разведения извлечения, мл

A_0 – оптическая плотность СО раствора цинарозида;

$V_{\text{извл}}$ – объем извлечения, взятого на анализ, мл

$V_{\text{м.к.СО}}$ – объем мерной колбы, используемой для разведения СО цинарозида, мл

Тонкослойная хроматография

Для анализа травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, использовали раствор А, приготовленный для определения содержания суммы флавоноидов в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, а также водные и спиртовые извлечения травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* (методика получения которых приведена при описании объектов исследования).

Хроматографирование методом ТСХ проводили с применением пластин Silicagel 60 F254 на алюминиевой подложке (Merck, Германия) размером 10×10 см; элюента – этилацетат: муравьиная кислота безводная:вода (70:15:15). Для идентификации полученных зон в УФ-свете при 365 нм хроматограммы обрабатывали алюминия хлорида спиртовым раствором 5%. В качестве СО использовали рутин (Phytolab, ≥97%, Германия), кверцетин (USP Reference Standart, 100%, Китай), цинарозид (Sigma-Aldrich, ≥98%, Германия), лютеолин (Sigma-Aldrich, ≥98%, Франция), розмариновую кислоту (Toronto Research Chemicals, 97,94%, Канада).

На линию старта наносили 20 мкл испытуемого раствора, рядом – по 5 мкл растворов СО. Пластинку с нанесенными пробами сушили, помещали в камеру со смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом до тех пор, пока фронт растворителей не пройдет 80-90% длины пластинки от линии старта. Затем пластину вынимали из камеры, сушили до удаления следов растворителей, обрабатывали хлорида алюминия спиртовым раствором 5%, сушили и просматривали в УФ-свете при длине волны 365 нм.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Для анализа травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, использовали раствор А, приготовленный для определения содержания суммы флавоноидов в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, а также водные и спиртовые извлечений травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* (методика получения которых приведена при описании объектов исследования). Для установления в их составе апигенина, цинарозида, космосиина, лютеолина, скутелларина, скутеллареина, кофейной кислоты, феруловой кислоты, розмариновой кислоты использовали СО.

Анализ проводили на хроматографе SHIMADZU Prominence LC-20 (Япония), состоящего из насоса LC-20AB, дегазатора DGU-20A₅, автосемплера SIL-20A, термостата CTO-20A,

контроллера CBM-20A и диодно-матричного детектора SPD-M20A, под управлением программного обеспечения – LabSolution V. 5.106. В качестве СО использовали цинарозид и розмариновую кислоту. В эксперименте использовали стальную колонку SUPELCO «DISCOVERY» размером 150×4,6 мм, заполненную гидрофобным силикагелем с привитыми группами C18 зернистостью 5 мкм. Детектирование проводили при длинах волн 254 нм, 330 нм. Объем пробы 20мкл. Элюирование проводили в градиентном режиме с возрастанием доли раствора В (смесь ацетонитрил: спирт метиловый:раствор хлорной кислоты pH 2.5 в соотношении 40:40:20) в смеси с раствором А (водный раствор хлорной кислоты pH 1,8) от 0% до 100% при температуре 30°C, продолжительность анализа 80 минут. Идентификацию пиков проводили по временам удерживания СО. Содержание определяли методом внешнего стандарта с использованием программы LC Solutions (SHIMADZU).

Определение содержания эфирного масла в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами

Определение содержания ЭМ в траве *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* проводили с помощью прибора для определения содержания ЭМ по методу Гинзберга перегонкой с водяным паром согласно требованиям ГФ XV ОФС.1.5.3.0010 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения» методом 1 [34]: измельченную траву (30 г) помещали в круглодонную колбу объемом 1000 мл, приливали 300 мл воды очищенной и закрывали резиновой пробкой с приемником и обратным холодильником. Колбу с содержимым нагревали на колбонагревателе и кипятили в течение двух часов. После окончания перегонки и охлаждения прибора до комнатной температуры полученное эфирное масло собирали из приемника в пробирку.

Содержание эфирного масла (X) в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \times 100}{a \times (100 - W)} \times 100, \%$$

где:

V – объем эфирного масла, мл

a – навеска лекарственного растительного сырья, г

W – влажность сырья, %

Газожидкостная хроматография эфирных масел

Анализ химического состава эфирных масел и извлечений, осуществляли с помощью газового хроматографа – масс-спектрометра YL6900 GC-MS (YoungLinInstruments, Корея) с капиллярной колонкой HP-5 30м×0,32 мм с толщиной фазы 0,25мкм при соблюдении следующих условий: изотермическом режиме (60°C 3 мин) с повышением до 250°C (нагрев со скоростью 15°C/мин) и поддержании достигнутого режима в течение 3 мин. Частота потока газа гелия составил 1мл/мин, коэффициент разделения – 1:100. Масс-спектрометрический

анализ проведен при следующих параметрах работы масс-детектора: времени удержания – 3 мин., эмиссии – 50 мА, диапазоне сканирования – 30-350 а.е.м., скорости сканирования – 1600 а.е.м./с, температуре ионного источника – 230°C, температуре трансфера – 280°C, времени анализа – 21 мин. Идентификацию компонентов проводили на основе сравнения полученных масс-спектров с библиотекой масс-спектров NIST (National Institute of Standards and Technology, США) и по времени удерживания. Для количественного анализа использовали метод внутренней нормализации.

Анализ спектральных характеристик извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Для анализа спектральных характеристик травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* и получали водно-спиртовые извлечения из сырья (масса всех образцов 1,0 г (точная навеска)) по описанной выше методике определения содержания суммы флавоноидов в растительном сырье (экстрагент – этанол 70%, т.к. максимальное извлечение флавоноидов достигается при данной концентрации спирта [112]).

Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре SHIMADZU UV-1800 (Япония) в диапазоне 200-500 нм.

Все эксперименты выполнены не менее, чем в трехкратном повторении. Результаты статистически обработаны согласно ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» с помощью программы Excel 2010.

2.7. Методы исследования фармакологической активности извлечений

Th. marschallianus* и *Th. serpyllum

Экспериментальные исследования с участием животных проведены согласно с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в эксперименте и других научных целях (Страсбург, 1986) ETS N 123, Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным, Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), Федеральным законом от 1 декабря 1999 г. «О защите животных от жестокого обращения», а также руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [87] и с одобрения этического комитета ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского Минздрава России (протокол №8 от 5 марта 2024 г). Лабораторные животные содержались в условиях вивария с 12-и часовым световым циклом, при постоянной температуре и влажности воздуха, со свободным доступом к пище и воде. Животных из эксперимента выводили на 21-е сутки путем введения передозировки препаратов

для наркоза (внутрибрюшинная комбинация Золетила (Virbac, Франция) и Ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 0,1 мг/кг).

Обработка результатов проводилась с помощью программы «STATISTICA 12» (StatSoft®, США) [31, 35].

2.7.1. Оценка безопасности извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Эксперимент по изучению острой токсичности проведен на 78 мышах-самцах. Животные были разделены на 13 групп (по 6 особей в каждой): контрольную (интактные животные) и 12 экспериментальных, которым однократно внутрибрюшинно вводили исследуемые извлечения в объеме 1,0 мл на 40 г массы тела животного (Таблица 3).

Таблица 3 – Экспериментальные группы животные в исследовании острой токсичности

Номер экспериментальной группы животных	Извлечения, вводимые животным		Концентрация извлечения, вводимая животным
1	<i>Th. marschallianus</i>	водное	1000 мг/кг
2			3000 мг/кг
3			5000 мг/кг
4		спиртовое	1000 мг/кг
5			3000 мг/кг
6			5000 мг/кг
7	<i>Th. serpyllum</i>	водное	1000 мг/кг
8			3000 мг/кг
9			5000 мг/кг
10		спиртовое	1000 мг/кг
11			3000 мг/кг
12			5000 мг/кг

На протяжении следующих двух недель проводили контроль состояния лабораторных животных, в первые сутки исследования он осуществлялся непрерывно [76].

Исследование биохимических показателей в хроническом эксперименте проведено на 72 нелинейных белых крысах-самцах массой 180-230 г., разделенных на 3 группы: контрольную и две опытные (по 24 особи в каждой). Исследуемые животные на протяжении 28-и суток ежедневно внутривенно получали воду по массе (контрольная), водное извлечение из травы *Th. marschallianus* дозе 100 мг/кг (первая опытная), водное извлечение из травы *Th. serpyllum* в дозе 100 мг/кг (вторая опытная). Для эксперимента выбрана доза 100 мг/кг, так как в экспериментах по изучению фармакологической активности использовали извлечения в указанной дозировке в экспериментах на противоопухолевую [125, 132], антимикробную активности [8] и поведенческие реакции животных [105, 106, 124, 130].

При исследовании определяли содержание в образцах плазмы крови экспериментальных животных следующих показателей: глюкозы, холестерина, триглицеридов (ТАГ), мочевины, креатинина, общего белка, альбумина, активности аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ). Измерения проводили на полуавтоматическом анализаторе Vitalon-400 (Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd., Китай) с использованием стандартных наборов реактивов (Витал Диагностикс СПб, Россия).

2.7.2. Антимикробная активность эфирных масел и извлечений из *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Антимикробную активность водных и спиртовых извлечений, эфирных масел *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* определяли в отношении стандартных и клинических штаммов микроорганизмов. Все стандартные штаммы получены из музея живых культур кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России. Клинические штаммы получены при бактериологических обследованиях пациентов.

Антимикробную активность водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* изучали в отношении стандартных штаммов *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, а также клинических изолятов – десяти штаммов *S. aureus*, трех штаммов *E. coli*, одного штамма *P. aeruginosa* и пяти штаммов *Candida albicans*, методом двукратных серийных разведений в мясо-пептонном агаре при микробной нагрузке 3×10^4 КОЕ/мл, определяя минимальную ингибирующую концентрацию (МИК, мг/мл). Параллельно использовали контроли – посеvy опытных штаммов на мясо-пептонный агар без извлечений [8].

Воздействие ЭМ на микроорганизмы изучали диско-диффузионным методом (после впитывания микробной суспензии в питательную среду на диск из 100% целлюлозы наносили по 10 мкл испытуемого масла) [46] с количественной оценкой антимикробной активности ЭМ (определения МИК) методом микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтон [6]:

– в отношении двух штаммов *P. aeruginosa* – стандартного и клинического, а также шести штаммов *E. coli* – стандартного и пяти клинических. На основе суточных агаровых культур готовили суспензии в стерильном физиологическом растворе хлорида натрия, доводя до конечной концентрации $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл [97]. Для контроля микробной нагрузки осуществляли мерный посев на агар Мюллера-Хинтон. Антимикробное действие ЭМ оценивали, исходя из диаметра зон задержки роста [152].

– в отношении 6-ти клинических штаммов *C.albicans* [9, 203, 213].

Для количественной оценки антимикробной активности ЭМ (определения МИК) использовали метод микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтон (Condalab, Испания) [162, 182]. Микробная нагрузка составила 5×10^3 КОЕ/100мкл. Через 24 часа после посева для определения характера МИК (бактерицидного, бактериостатического) из всех опытных разведений ЭМ без видимого роста осуществляли высеив на агар Сабуро. В качестве препарата сравнения использовали раствор тимола (Ленреактив, Россия), МИК которого определяли тем же методом, как и МИК эфирных масел.

2.7.3. Антирадикальная активность извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Исследование антирадикальной активности методом DPPH

Антирадикальную активность определяли с помощью азотцентрированного стабильного свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (DPPH-теста) [202]. Метод DPPH• основан на уменьшении стабильного радикала DPPH• с фиолетовой окраской до DPPH-H желтого цвета. Исчезновение фиолетового цвета можно контролировать фотометрически при 517 нм.

Для исследования антирадикальной активности травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, и *Th. serpyllum* брали 1,0 г сырья (точная навеска), добавляли 10 мл этилового спирта (смесь воды и спирта этилового 95% 1:1), проводили экстракцию на водяной бане при 37°C в течение 2 часов. Готовили серию двукратных разведений: 1000,0; 500,0; 250,0; 125,0; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 3,91; 1,95; 0,98; 0,49; 0,24; 0,12; 0,06 мг/мл. Полученные извлечения фильтровали через бумажный фильтр (красная лента).

Для исследования антирадикальной активности водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* готовили серию двукратных разведения: 100,0; 50,0; 25,0; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39; 0,195; 0,096; 0,049; 0,024; 0,012; 0,006 мг/мл.

К 1 мл аликвоты добавляли к 3 мл DPPH раствора 0,004% в спирте этиловом 95%. Оптическую плотность определяли через 30 минут на спектрофотометре ПЭ-5400ВИ («ЭКРОС», Россия) при длине волны 517 нм. Аналогичным способом измеряли оптическую плотность раствора DPPH без экстракта (контроль).

Процент ингибирования (АА) радикала DPPH рассчитывали по формуле [202]:

$$AA = [(AC - AS)/(AC)] \times 100, \%$$

где:

AC – поглощающая способность контрольной реакции;

AS – поглощающая способность тестируемого образца.

Значения IC_{50} (способность поглощать 50% исходного DPPH) были рассчитаны с помощью линейной регрессии графиков, где по оси абсцисс показана концентрация тестируемых растительных извлечений, а по оси ординат – средний процент антирадикальной активности по результатам трех отдельных тестов.

2.7.4. Противоопухолевая активность извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Влияние водного извлечения *Th. marschallianus* на культуру опухолевых клеток почки человека A498 и культуру фибробластов

В экспериментах использованы опухолевые клетки рака почки человека A498 и фибробласты эмбриона человека, полученные из банка опухолевых культур РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе при 37°C в течение 24 ч, после чего окрашивали двумя красителями: акридиновым оранжевым (Thermo Scientific, США), окрашивающего живые клетки, и йодистым пропидием (Thermo Scientific, США), проникающим в нежизнеспособные клетки, за счет разрушения их мембраны [83]. Контролем служили клетки в питательной среде без добавления извлечения, выросшие в течение суток. В качестве цитостатика для сравнения по воздействию на фибробласты эмбриона человека (неопухолевые клетки) использовался циклофосфамид.

В отношении клеток рака почки A498 исследовались следующие концентрации спиртового извлечения *Th. marschallianus* (мг/мл): 0,001; 0,01; 0,1; 0,5; 0,8; 1,0; 1,5; 3,0; 6,5. В отношении фибробластов эмбриона человека исследовались следующие концентрации экстракта (мг/мл): 0,1; 1,0; 6,5. Сравнение цитостатической активности спиртового извлечения *Th. marschallianus* и циклофосфанана на фибробласты эмбриона человека проводили при одинаковой концентрации растворов – 0,3 мг/мл. Тесты проводились: через 24 часа.

Для анализа противоопухолевого действия спиртового извлечения *Th. marschallianus* оценивали цитотоксическую, цитостатическую, апоптотическую, аутофагосомную активности и активность, приводящую к митотической катастрофе в отношении клеток рака почки человека.

Статистическая обработка проведена с использованием критерия Манна-Уитни ($p < 0.05$).

Влияние извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на альвеолярный рак печени PC-1 *in vivo*

Эксперимент проведен в два этапа: на первом оценивали противоопухолевую активность извлечений *Th. marschallianus*, на втором – *Th. serpyllum*. Первый этап эксперимента проведен на 15, второй – на 18 самцах беспородных белых лабораторных крыс массой 200±50 г, которым

имплантировали подкожно, в область лопатки, по 0,5 мл 25% опухолевой взвеси в растворе Хэнкса штамма альвеолярного рака печени – РС-1, полученного из банка опухолевых штаммов ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. На каждом этапе животные с перевитой опухолью методом случайной выборки были разделены на 3 группы – на первом этапе по 5 крыс: первая – контрольная (негативный контроль), не получавшая извлечения; вторая – опытная, получавшая спиртовое извлечение *Th. marschallianus*; третья – опытная, получавшая водное извлечение *Th. marschallianus*; на втором этапе по 6 крыс: четвертая – контрольная (негативный контроль), не получавшая извлечения; пятая – опытная, получавшая спиртовое извлечение *Th. serpyllum*; шестая – опытная, получавшая водное извлечение *Th. serpyllum*.

Далее оба этапа эксперимента были полностью идентичны.

После достижения опухолью 1 см³ (на 18-й день от начала эксперимента) в опытных группах крысам вводили внутривентриально извлечения в дозе 100 мг/кг, один раз в сутки в течение следующих 14-ти дней (18-31 дни эксперимента). Животные всех групп были выведены из эксперимента на 32-й день [132].

На 32-е сутки крыс выводили из эксперимента и производили забор образцов опухоли. Для изучения патоморфоза опухоли применяли морфологические и морфометрические методы с использованием стандартной гистологической окраски гематоксилином и эозином [77].

2.7.5. Изучение влияния извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на поведенческие реакции лабораторных животных

Для оценки воздействия извлечений на ориентировочно-исследовательское поведение, двигательную активность, тревожность, депрессию, способность к обучению, пространственную память лабораторных животных проведена серия экспериментов с помощью установок для выполнения психофармакологических тестов согласно приказу Минздрава России № 281 от 30.04.2013 и руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [87].

Антидепрессивная активность в тестах «подвешивание за хвост» и «поведение отчаяния» по Porsolt

Экспериментальное исследование в тестах «подвешивание за хвост» и «поведение отчаяния» по Porsolt с целью оценки влияния водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на развитие депрессии у лабораторных животных выполнено на 36 беспородных мышах-самцах массой 30-40 г и возрастом 2-3 месяца.

Животные были разделены на 6 групп – две контрольные (негативный и позитивный) и четыре опытных (по 6 животных в каждой). Мышам в первой опытной группе вводили

спиртовое извлечение *Th. serpyllum*, во второй – водное извлечение *Th. serpyllum*, в третьей – спиртовое извлечение *Th. marschallianus*, в четвертой – водное извлечение *Th. marschallianus* (концентрация извлечения 100 мг/кг). Животным в группе позитивного контроля вводили amitриптилин в дозе 10 мг/кг [95] (производитель ООО «Озон»), а животные негативного контроля получали питьевую воду в эквивалентном количестве. Продолжительность эксперимента составила 21 сутки, путь ведения – внутрижелудочный.

Тест «подвешивание за хвост»

Для оценки антидепрессивной активности исследуемых извлечений применяли установку для проведения теста «подвешивание за хвост» (НПК Открытая Наука, Россия), тест проводили на 1-е, 8-е, 15-е, 21-е сутки эксперимента [191]. Во время выполнения теста мышей подвешивали за хвост на липкую ленту, длительность проведения составляла 3 минуты [27, 71, 82], при этом осуществляли видеорегистрацию.

Тест «поведение отчаяния» по Porsolt

Для оценки антидепрессивной активности животных применяли установку для проведения теста «поведение отчаяния» по Porsolt (НПК Открытая Наука, Россия), тест проводили на 1-е, 8-е и 15-е и 21-е сутки эксперимента. Во время выполнения тестирования осуществляли видеофиксацию плавания каждого животного, на основании которой оценивали суммарное время активного плавания и иммобилизации. Продолжительность проведения составляла 3 минуты (укороченная процедура) [27, 86, 120].

Анксиолитическая активность в тестах «крестообразный лабиринт» и «темно-светлая камера»

Экспериментальное исследование в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» и «темно-светлая камера» для оценки влияния водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на развитие тревожности у лабораторных животных выполнено на 72 беспородных мышах-самцах (в каждой группе по 12 животных) массой 30-40 г и возрастом 2-3 месяца.

Для оценки анксиолитической активности применяли две установки – «приподнятый крестообразный лабиринт» (НПК Открытая Наука, Россия) и «темно-светлая камера» (НПК Открытая Наука, Россия). Проведено две серии тестирований на 1-е, 8-е, 15-е и 21-е сутки, для которых лабораторные животные были разделены случайным образом на 6 групп – две контрольные (негативный и позитивный) и четыре опытных (по 6 животных в каждой). Мышам в первой опытной группе вводили спиртовое извлечение *Th. serpyllum*, во второй – водное извлечение *Th. serpyllum*, в третьей – спиртовое извлечение *Th. marschallianus*, в четвертой – водное извлечение *Th. marschallianus* (концентрация извлечения 100 мг/кг). Животным в группе позитивного контроля вводили раствор феназепама в дозе 1 мг/кг [95] (производитель АО

«Валента Фарм»), а животные негативного контроля получали питьевую воду в эквивалентном количестве. Продолжительность эксперимента составила 21 сутки, путь ведения — внутрижелудочный.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт»

В тесте использовали установку «приподнятый крестообразный лабиринт», в котором животное помещали в центр лабиринта головой к открытому рукаву, в котором оно свободно перемещалось внутри установки в течение 3 мин. Регистрировали следующие показатели: латентный период до первого захода в один из рукавов, число заходов в открытые и закрытые рукава, время в открытых рукавах. Оценка тревожности подопытных животных в приподнятом крестообразном лабиринте основывается на рефлексе предпочтения темного пространства и боязни высоты [101].

Тест «темно-светлая камера»

В эксперименте с использованием установки «темно-светлая камера» животное помещали на середину светлого отсека, хвостом к отверстию в тёмный отсек. Осуществляли видеорегистрацию поведения в течение 3 минут. После проведения теста подсчитывали время пребывания животного в отсеках, число заходов в отсеки, число выглядываний, число стоек, груминг. При наличии анксиолитического эффекта увеличивается число переходов из отсеков и время нахождения в светлом отсеке [101].

Влияние на когнитивные функции лабораторных животных в тесте «радиальный лабиринт»

Экспериментальное исследование в тесте «радиальный лабиринт» для оценки влияния водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на пространственную память лабораторных животных выполнено на 36 беспородных мышках-самцах массой 32-38 г и возрастом 2-3 месяца.

Лабораторные животные были разделены на 4 группы – две контрольные (негативный и позитивный) и четыре опытных (по 6 животных в каждой). Мышам в первой опытной группе вводили спиртовое извлечение *Th. serpyllum*, во второй – водное извлечение *Th. serpyllum*, в третьей – спиртовое извлечение *Th. marschallianus*, в четвертой – водное извлечение *Th. marschallianus* (концентрация извлечения 100 мг/кг). Животным в группе позитивного контроля вводили раствор кофеина в дозе 40 мг/кг («Белорусский завод медицинских препаратов», Беларусь), а животные негативного контроля получали питьевую воду в эквивалентном количестве. Продолжительность эксперимента составила 21 сутки, путь ведения — внутрижелудочный [106].

Для изучения когнитивных функций животных (обучение и память) использовали установку «Радиальный восьмирукавный лабиринт» (НПК Открытая Наука, Россия) [32], выполняя две серии экспериментов – на 2-7 и 16-21 сутки (Таблица 4) [103].

Таблица 4 – Модель эксперимента с применением теста «радиальный лабиринт»

Сутки введения	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Сутки тестирования	-	1 (трени- ровка)	2	3	4	5	6	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (трени- ровка)	2	3	4	5	6
		Без учета результатов	+	+	+	-	+									Без учета результатов	+	+	+	-	+
Примечание: в описании результатов эксперимента указаны сутки тестирования																					

После проведения тестирования проводили подсчет балла памяти (memory score) по формуле:

$$MS = \frac{(\text{верныйвход} - \text{неверныйвход})}{(\text{верныйвход} + \text{неверныйвход})}$$

ГЛАВА 3. КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ИДЕНТИФИКАЦИИ ИЗМЕЛЬЧЕННОГО СЫРЬЯ *Th. marschallianus* И *Th. serpyllum* И ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗВЛЕЧЕНИЙ

Видовая идентификация тимьянов является актуальной задачей в связи с наличием сходных по морфологии видов, а также с возможной межвидовой гибридизацией [38, 60]. Для идентификации растительного сырья проводят микроскопический анализ, но для близкородственных видов его может быть недостаточно [100]. Характеристика спектров поглощения и зон адсорбции на хроматограммах извлечений являются одними из значимых показателей подлинности растительного сырья [64], поэтому методы спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии в комплексе с микроскопическим анализом позволяют существенно сократить возможность возникновения ошибок при идентификации ЛРС.

3.1. Идентификация травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Анализ анатомо-диагностических признаков травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* с помощью люминесцентного микроскопического анализа

Одним из современных методов идентификации измельченного сырья является люминесцентный микроскопический анализ, позволяющий выявить не только анатомо-диагностические признаки сырья, но и определить локализацию биологически активных метаболитов. Например, известно, что лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид), присутствующий в траве *Th. marschallianus*, накапливался преимущественно в верхней эпидерме [165, 166]. Люминесцентная микроскопия, позволяющая установить характер и топографию свечения морфологических структур, позволяет уточнить анатомические характеристики сырья, увеличивая достоверность получаемых результатов микроскопического анализа, что является важным при определении подлинности растительного сырья [59].

Описание основных анатомо-диагностических признаков приведено в таблице 1. Для идентификации сырья *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* нами была применена микроскопия в видимой области спектра и люминесцентная микроскопия, но люминесцентный микроскопический анализ показал большую информативность для выявления диагностических признаков сырья обоих видов.

Лист: при рассмотрении листа с поверхности видны люминесцирующие желто-зеленым цветом извилистые клетки верхней (Рисунок 1) и нижней эпидермы (Рисунок 2), устьичный аппарат, волоски различных типов, сосочковидные выросты (Рисунок 3, Рисунок 4.). Флавоноиды (в виде флавонолглюкозидов) вместе с гидроксикоричными кислотами и другими

слабо автофлуоресцирующими фенольными веществами определяют флуоресценцию эпидермы листьев [166]. Эфирномасличные железки имеют свечение от ярко-желтого до коричневого цвета за счет присутствия компонентов ароматических ЭМ фенольной природы, таких как, *n*-цимол и тимол. Интенсивность свечения зависит от количественного содержания эфирного масла в железках. (Рисунок 1, Рисунок 2).

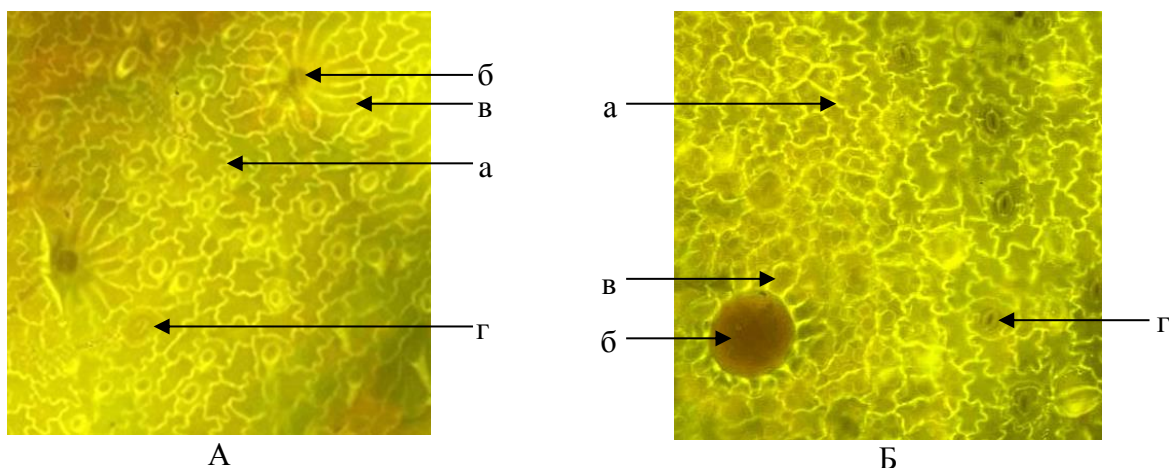


Рисунок 1 – Фрагменты эпидермы верхней стороны листа, А – *Th. marschallianus*, Б – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – извилистые клетки эпидермы; б – эфирномасличные железки; в – клетки эпидермы, образующие розетку вокруг места прикрепления железки; г – устьичный аппарат диацитного типа

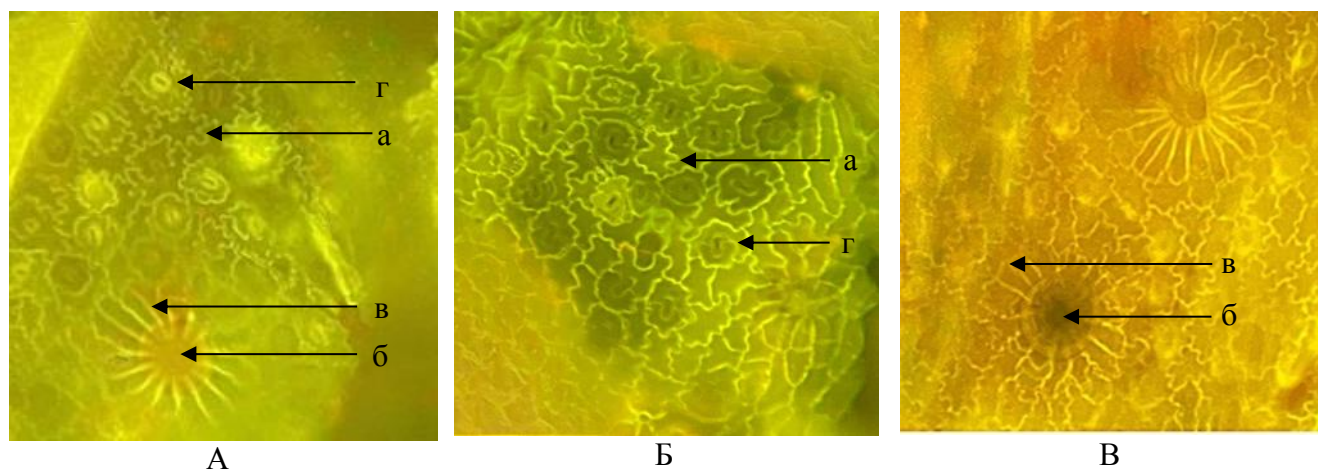


Рисунок 2 – Фрагменты эпидермы нижней стороны листа, А – *Th. marschallianus*, Б, В – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – извилистые клетки эпидермы; б – эфирномасличные железки; в – клетки эпидермы, образующие розетку вокруг места прикрепления железки; г – устьичный аппарат диацитного типа

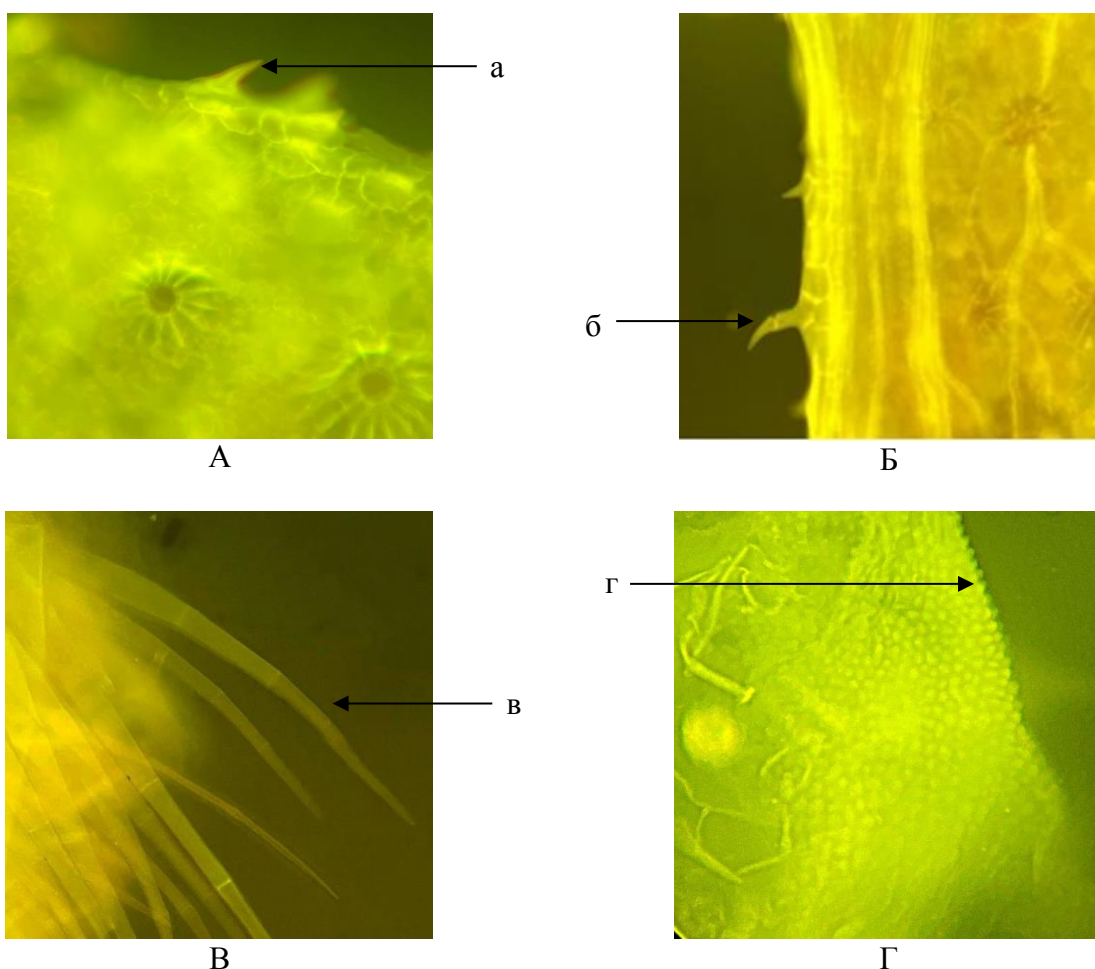


Рисунок 3 – Фрагменты эпидермы края листа, А – *Th. marschallianus*, Б, В, Г – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – простой одноклеточный волосок; б – простой двухклеточный волосок; в – крупный четырехклеточный волосок; г – сосочковидные выросты

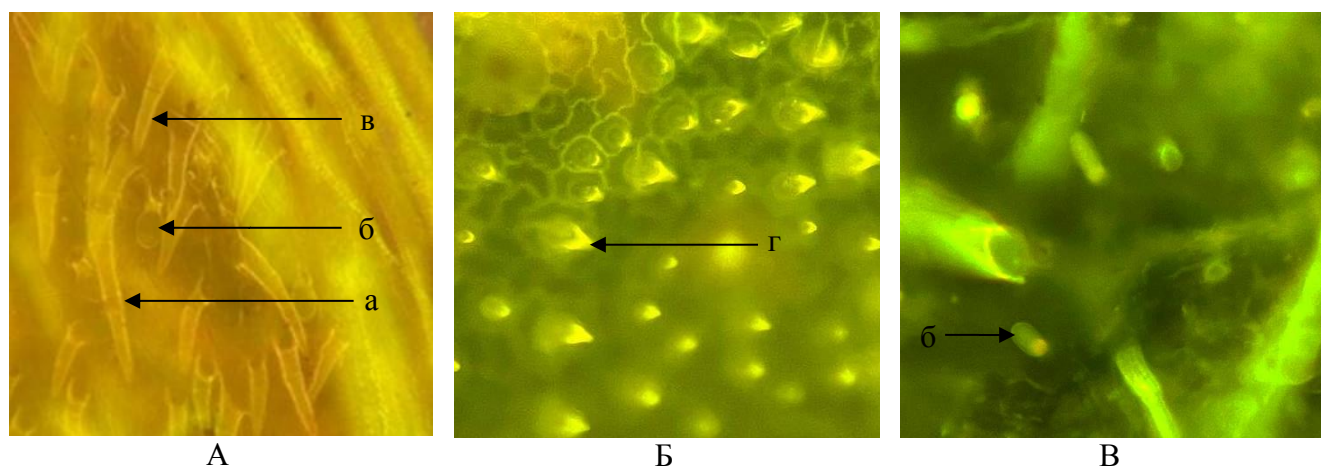


Рисунок 4 – Фрагменты эпидермы листа в основании, А – *Th. marschallianus*, Б, В – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – простой пятиклеточный волосок; б – головчатый волосок с одноклеточной головкой на одноклеточной ножке; в – простой двухклеточный волосок; г – простой одноклеточный с тонкозаостренной верхушкой

Стебель: клетки эпидермы стебля (Рисунок 5) и волоски различных типов, люминесцируют желто-зеленым цветом (Рисунок 6). Встречаются эфирномасличные железы, имеющие желто-коричневое свечение (Рисунок 6).

В поперечном сечении стебли *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* имеют хорошо различимые ряды клеток благодаря тому, что разные ткани имеют разную интенсивность и оттенок свечения. Под эпидермой находится колленхима, которая люминесцирует желто-коричневым цветом. Паренхима коры имеет желтое, эндодерма – желто-зеленое, флоэма – желто-бурое свечение. Радиальные ряды сосудов ксилемы люминесцируют ярким желто-зеленым цветом (Рисунок 7).

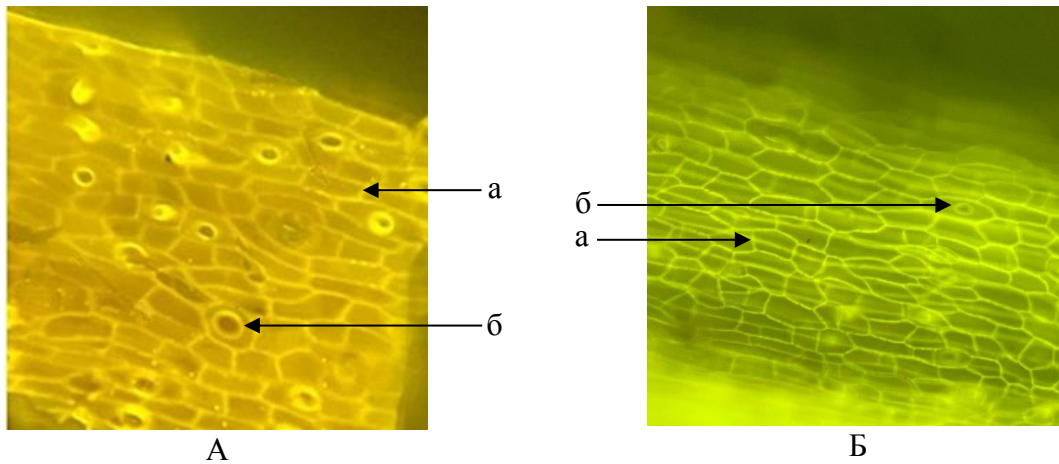


Рисунок 5 – Фрагменты эпидермы стебля, А – *Th. marschallianus*, Б – *Th. serpyllum*, увел. 400х: увел. 400х: а – прямоугольные клетки; б – место прикрепления волоска

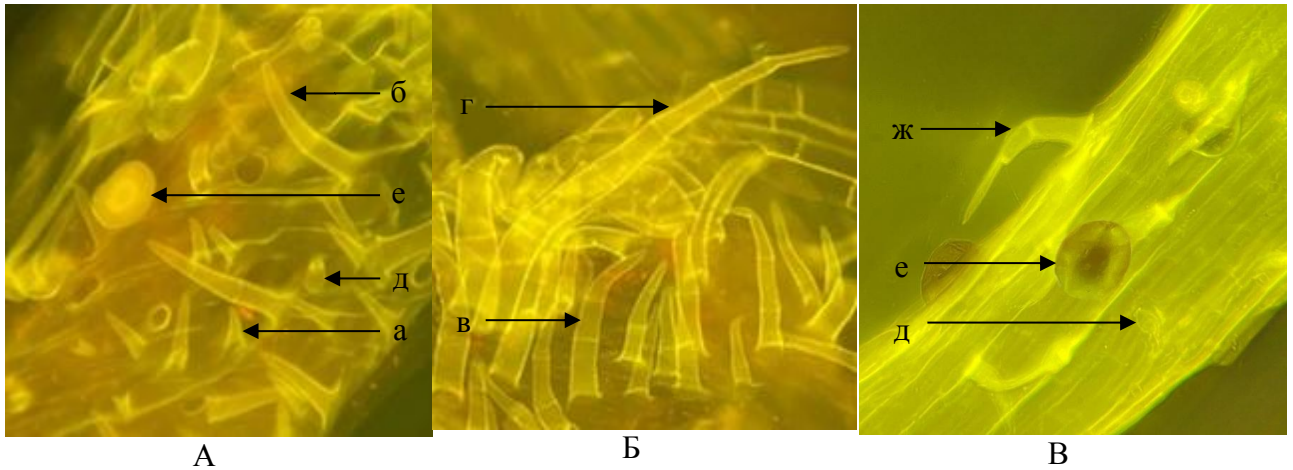
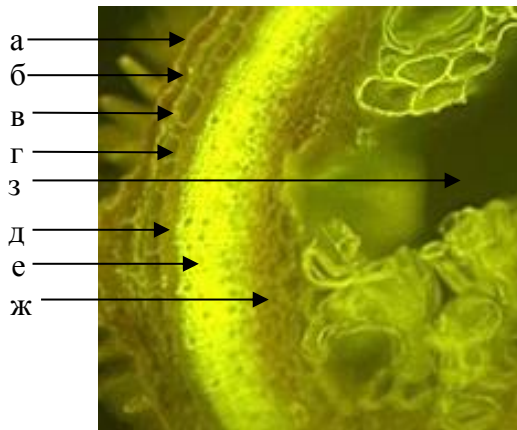
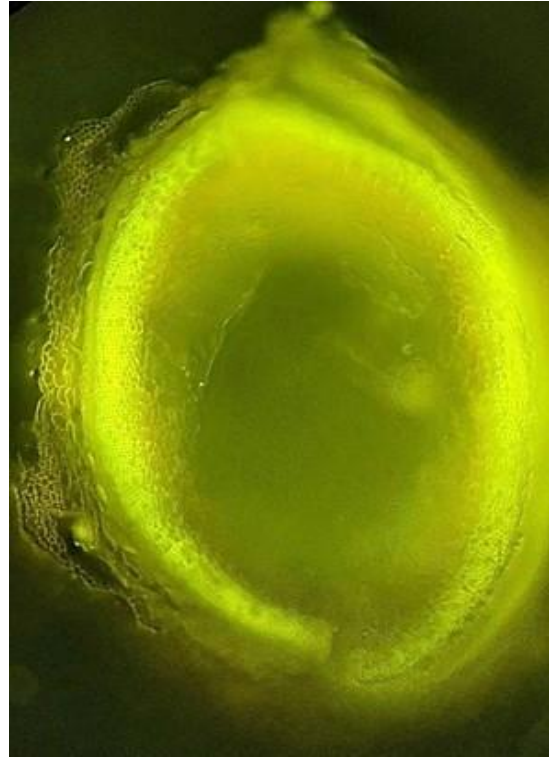
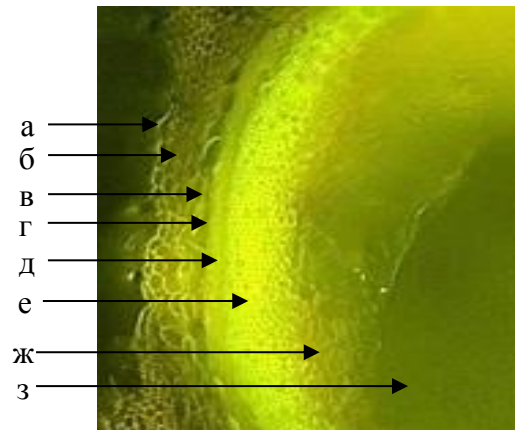


Рисунок 6 – Фрагменты эпидермы стебля, А, Б – *Th. marschallianus*, В – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – простой одноклеточный волосок колпачковидной формы; б – простой двухклеточный волосок; в – простой четырехклеточный волосок; г – простой шестиклеточный волосок; д – головчатый волосок с одноклеточной головкой на одноклеточной ножке; е – эфирномасличная железка; ж – простой трехклеточный колленчатоизогнутый волосок



а
б
в
г
з
д
е
ж

А



а
б
в
г
д
е
ж
з

Б

Рисунок 7 – Фрагменты стеблей в поперечном сечении, А – *Th. marschallianus*, Б – *Th. serpyllum*, увел. 200х: а – эпидерма; б – уголковая колленхима; в – паренхима коры; г – эндодерма; д – флоэма; е – ксилема; ж – основная паренхима сердцевины; з – полость

Чашечка: основные клетки эпидермы листочков чашечки извилистой формы, волоски различных типов, сосочковидные выросты, имеющие желто-зеленое свечение (Рисунок 8 – Рисунок 11). По эпидерме чашечки *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* встречаются эфирномасляные железы, имеющие желто-коричневую флуоресценцию (Рисунок 8).

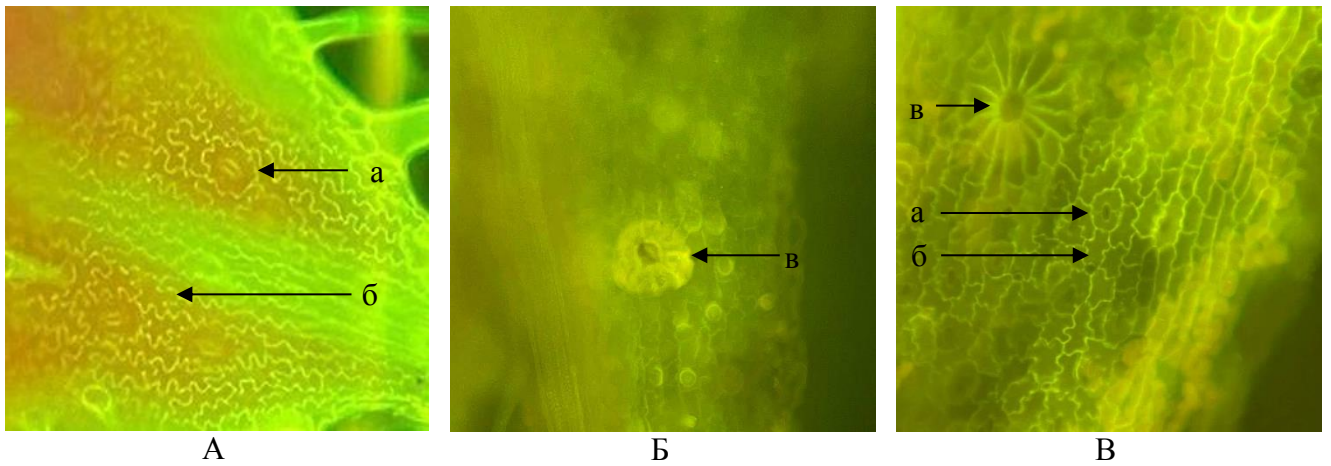


Рисунок 8 – Фрагменты эпидермы зубцов чашечки, А, Б – *Th. marschallianus*, В – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – устьичный аппарат диацитного типа; б – основные клетки эпидермы; в – эфирномасличные железы

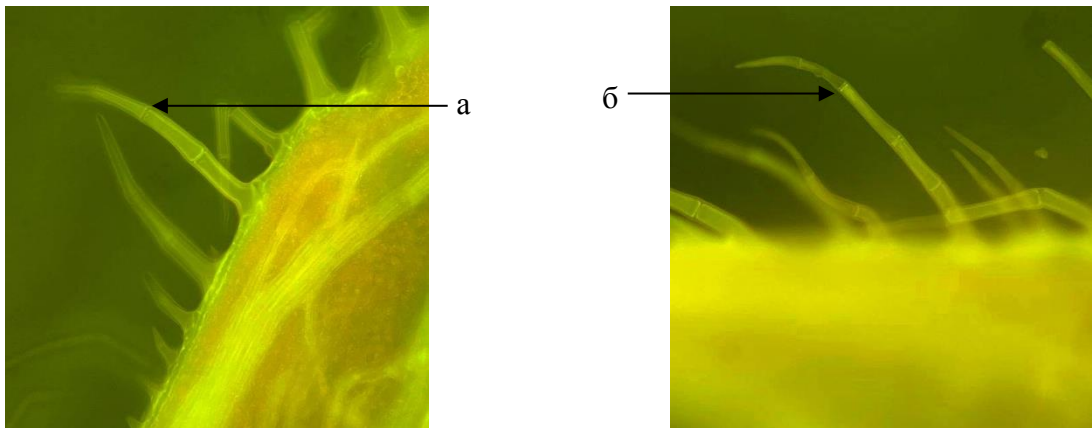


Рисунок 9 – Фрагмент эпидермы края зубцов чашечки, А – *Th. marschallianus*, Б – *Th. serpyllum*, увел. 200х. а – простой четырехклеточный волосок с заостренной верхушкой, б – простой пятиклеточный волосок с заостренной верхушкой

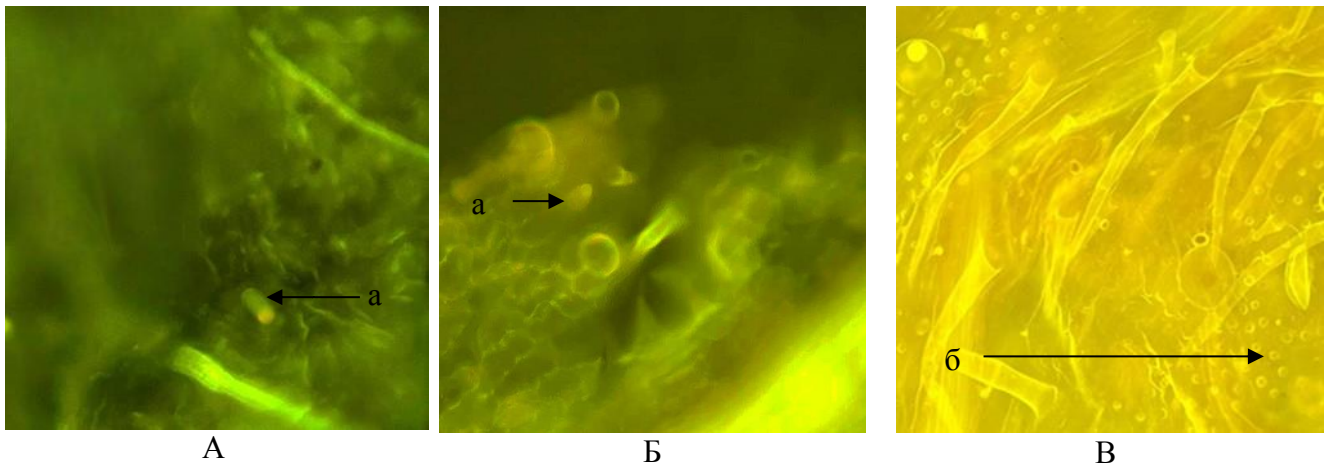


Рисунок 10 – Фрагменты эпидермы средней части чашечки, А – *Th. marschallianus*, Б, В – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – головчатые волоски с одноклеточной головкой на одноклеточной ножке; б – сосочковидные выросты

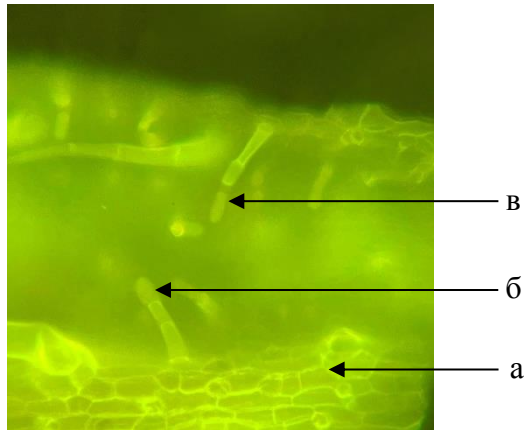


Рисунок 11 – Фрагмент эпидермы основания чашечки *Th. marschallianus*, увел. 400х. а – клетки эпидермы; б – простой четырехклеточный волосок с тупой закругленной верхушкой; в – головчатый волосок на двухклеточной ножке с одноклеточной головкой

Венчик: эпидерма трубки венчика имеет желто-зеленое свечение (Рисунок 12). Нижняя и верхняя губы покрыты эпидермой, образующей сосочковидные выросты (Рисунок 13), имеются одноклеточные (Рисунок 14), многоклеточные и головчатые (Рисунок 13) волоски, флуоресцирующие желто-зеленым цветом. Найдены булавовидные волоски, ранее не отмеченные как анатомо-диагностический признак (Рисунок 14). Встречаются эфирномасличные железы (Рисунок 13) и пыльца шаровидной формы с 6 бороздами (Рисунок 13), имеющие желто-коричневую люминесценцию.

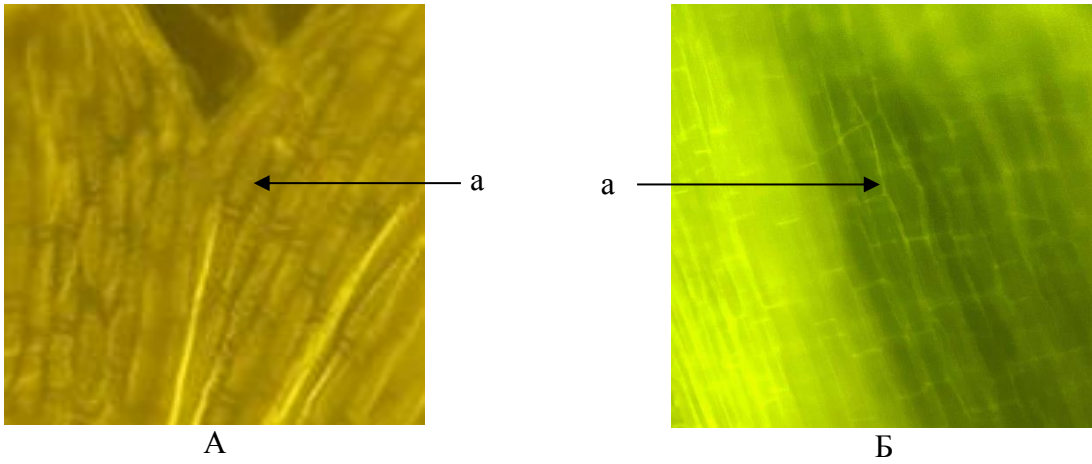


Рисунок 12 – Фрагменты эпидермы трубки венчика, А – *Th. marschallianus*, Б – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – клетки эпидермы

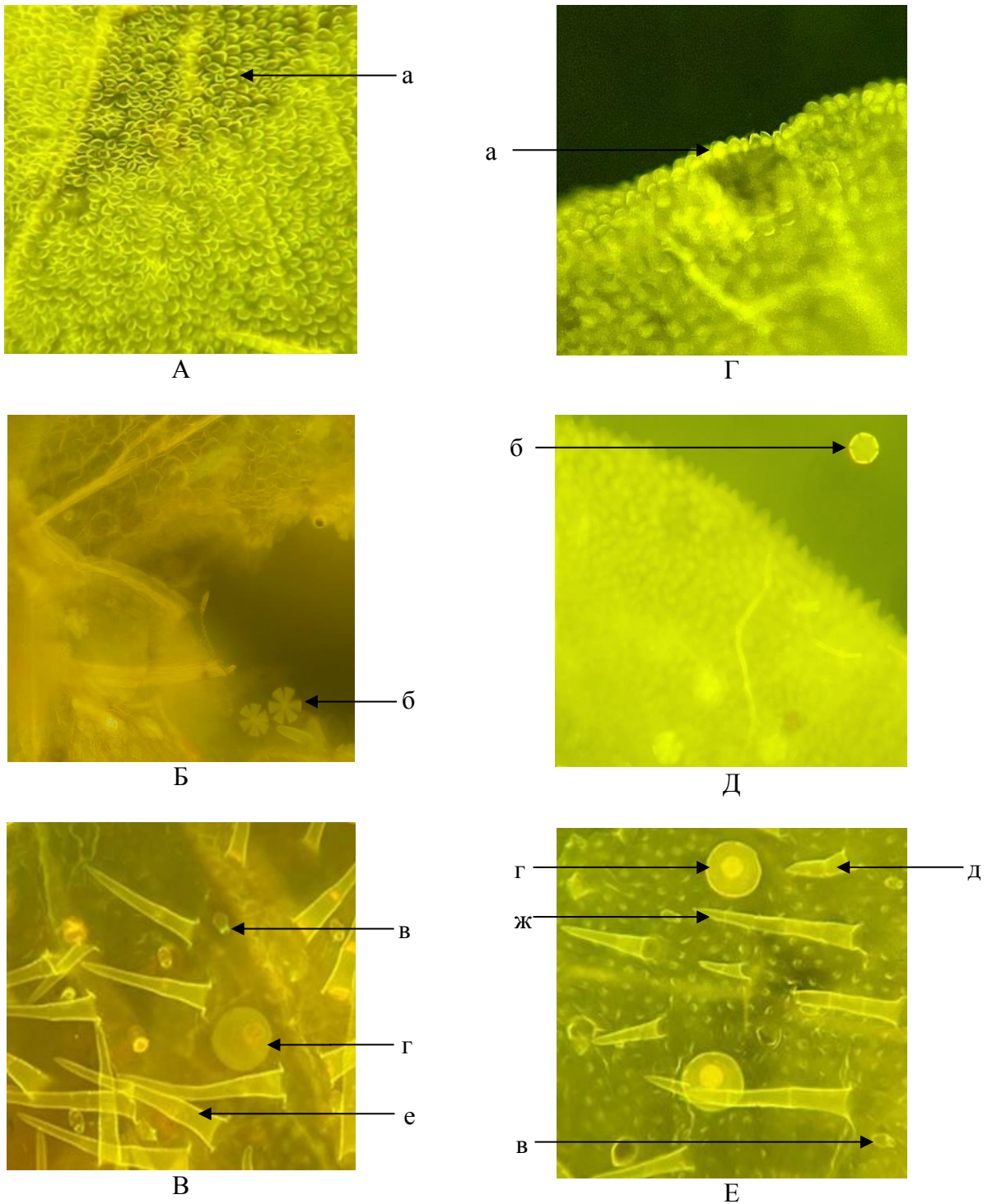


Рисунок 13 – Фрагменты эпидермы губы венчика, А, Б, В – *Th. marschallianus*, Г, Д, Е – *Th. serpyllum*, увел. 400х: а – сосочковидные выросты; б – пыльца; в – головчатый волосок с одноклеточной головкой на одноклеточной ножке; г – эфирномасличная железа; д – простой двухклеточный волосок; е – простой четырехклеточный волосок; ж – простой пятиклеточный волосок

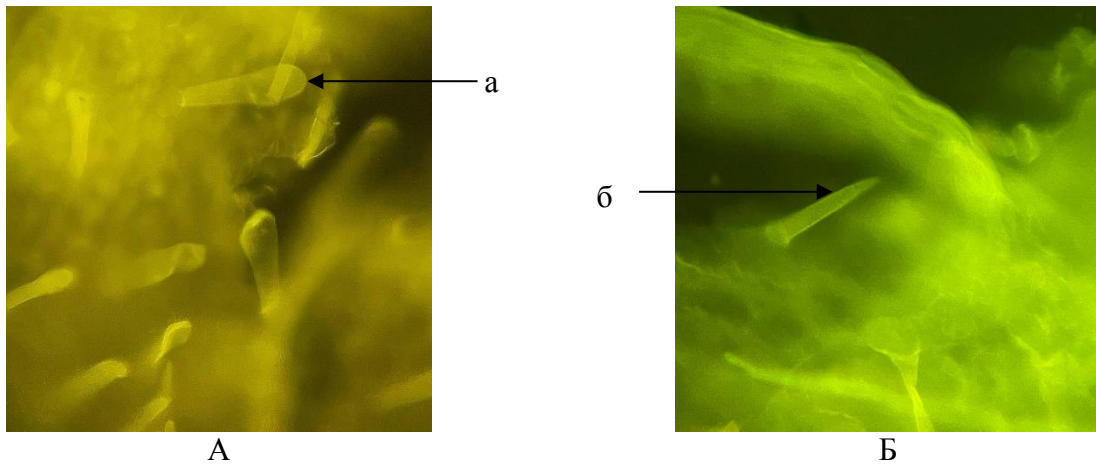


Рисунок 14 – Фрагменты эпидермы нижней губы венчика, А, Б – *Th. marschallianus*, увел. 400х: а – булавовидный волосок; б – простой одноклеточный волосок

Впервые с помощью метода люминесцентной микроскопии описаны морфологические особенности травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Показано, что без использования флуорохромов, специфическим желто-зеленым свечением для травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* обладают кутикулизованные структуры (такие как трихомы), проводящие элементы, замыкающие клетки устьиц, клеточные стенки и содержимое вместилищ от яркого желто-зеленого до коричневого цвета [121]. В результате проведенного люминесцентного микроскопического анализа травы *Th. marschallianus* впервые указаны дополнительные анатомо-диагностические признаки: для листа – головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на одноклеточной ножке, расположенные у основания листа; для венчика – булавовидные волоски, расположенные на эпидерме нижней губы венчика; также найдена пыльца шаровидной формы, имеющая 6 борозд. Все анатомо-диагностические признаки, ранее описанные для травы *Th. marschallianus* в видимой области спектра, найдены и соответствуют данным литературы. Следует отметить, что люминесцентная микроскопия позволяет достичь лучшей визуализации морфолого-анатомического строения растительных тканей в ходе микроскопического анализа обоих видов сырья, что позволяет снизить вероятность ошибочной диагностики, а также трудоемкость проведения идентификации измельченного сырья.

Сравнительный анализ спектральных характеристик извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

В ходе проведенного сравнительного спектрального анализа объектов исследования – трава *Th. marschallianus* и трава *Th. serpyllum* показано, что спектры поглощения водно-спиртовых извлечений из двух видов сырья, полученные этанолом 70%, имеют два выраженных максимума, близких по значениям (Рисунок 15 А), одинаковых по интенсивности для *Th. serpyllum* и различающихся для *Th. marschallianus*. Форма спектров свидетельствует о наличии в извлечениях соединений фенольной природы.

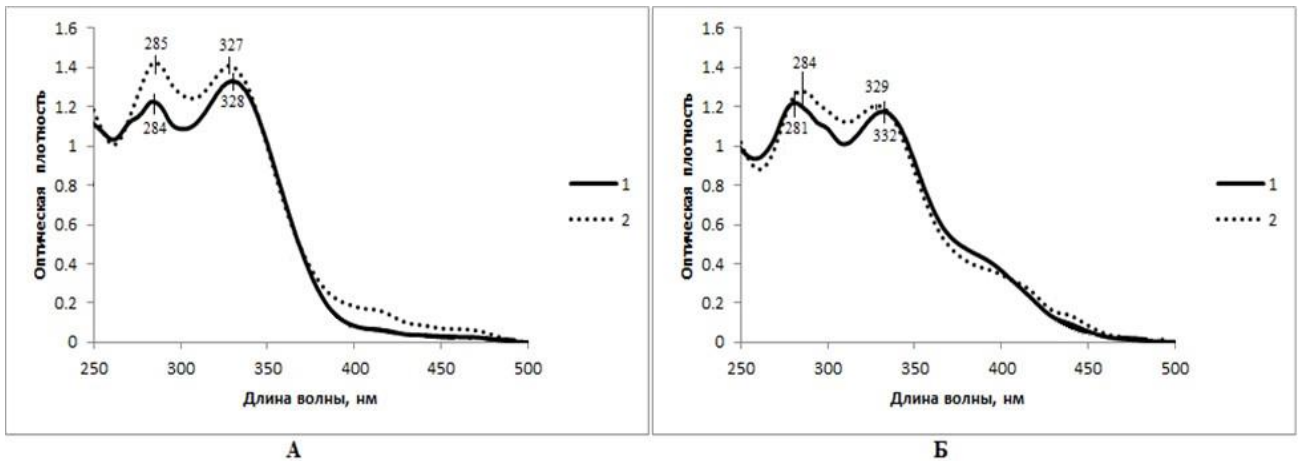


Рисунок 15 – Спектры поглощения водно-спиртовых извлечений (этанол 70%) без добавления (А) и с добавлением алюминия хлорида спиртового раствора 5% (Б): 1 – *Th. marschallianus*; 2 – *Th. serpyllum*

При добавлении алюминия хлорида спиртового раствора 5% наблюдается батохромный сдвиг длинноволновых полос поглощения (Рисунок 15 Б), что использовали для определения содержания суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии (Рисунок 16). В качестве экстрагента использовали этанол 70%, т.к. максимальное извлечение флавоноидов достигается при данной концентрации спирта [112].

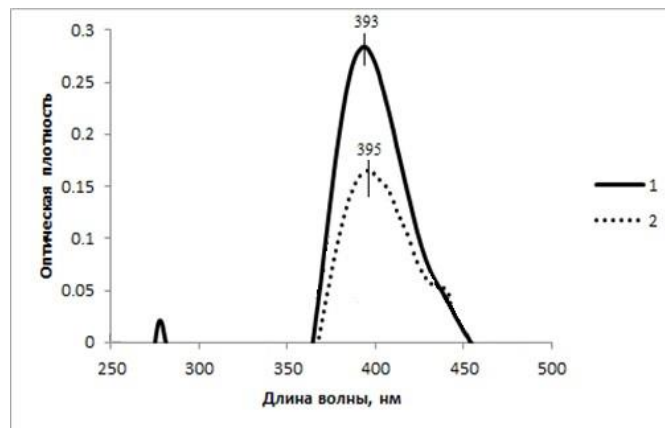


Рисунок 16 – Дифференциальные спектры поглощения водно-спиртовых извлечений (этанол 70%): 1 – *Th. marschallianus*; 2 – *Th. serpyllum*

На дифференциальных спектрах обоих извлечений (Рисунок 16) видно, что оптическая плотность водно-спиртовых извлечений *Th. marschallianus* выше, чем *Th. serpyllum*, что свидетельствует о большем содержании флавоноидов в извлечениях *Th. marschallianus*. Определение суммы флавоноидов проводили методом градуировочного графика с СО цинарозида (Рисунок 17). Результаты определения приведены в таблице 5.

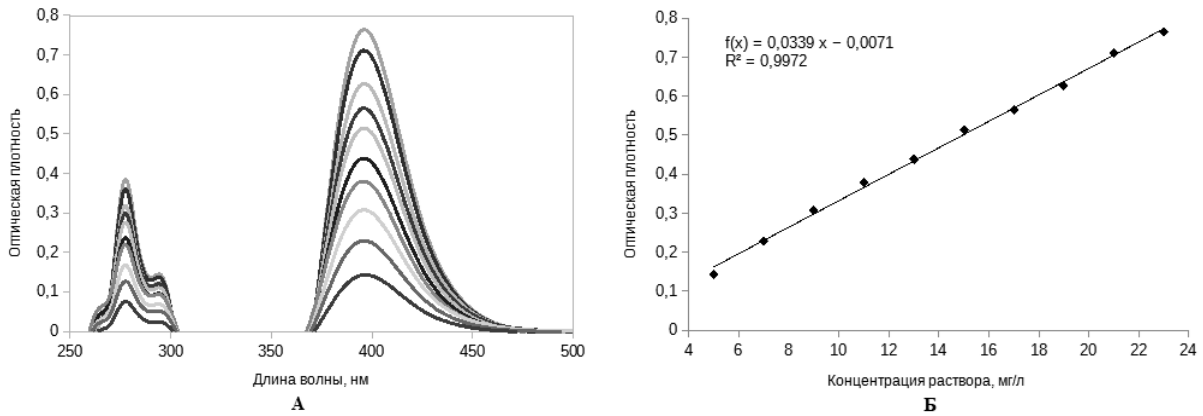


Рисунок 17 – А – спектры поглощения спиртовых растворов цинарозида, диапазон концентраций 5-23 мг/л; Б – градуировочная зависимость оптической плотности от концентрации цинарозида

Таблица 5 – Результаты определения суммы флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Условия экстракции Вид сырья	этанол 70% (кипящая водяная баня)
<i>Th. marschallianus</i>	1,93±0,09
<i>Th. serpyllum</i>	1,02±0,24

Анализ полученных результатов показал, что УФ-спектры извлечений травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* имеют близкие спектральные характеристики. Этот факт подтверждает, что данные характеристики не могут быть использованы как единственный метод идентификации сырья этих видов [49].

Сравнительный анализ качественного состава извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* методом ТСХ

Несмотря на близкие спектральные характеристики извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, хроматограммы этих извлечений, полученный с помощью метода ТСХ, имеют разные зоны адсорбции (Рисунок 15). Детектирование проводили при облучении УФ-светом длиной волны 365 нм после обработки проявляющим реагентом. В этих условиях соединения фенольной природы имеют характерные окраски зон адсорбции желтого, желто-зеленого, зеленого, оранжевого, голубого цветов.

На хроматограммах извлечений из травы *Th. marschallianus* различимы 11 зон адсорбции, для *Th. serpyllum* – 8 зон (Рисунок 18). Зона адсорбции рутин (R_f 0,45) желто-зеленого, кверцетин (R_f 0,95) оранжевого, цинарозида (R_f 0,64) желтого цвета. Во всех извлечениях на уровне зоны адсорбции цинарозида наблюдали зоны желтого цвета, что свидетельствует о его присутствии в извлечениях.

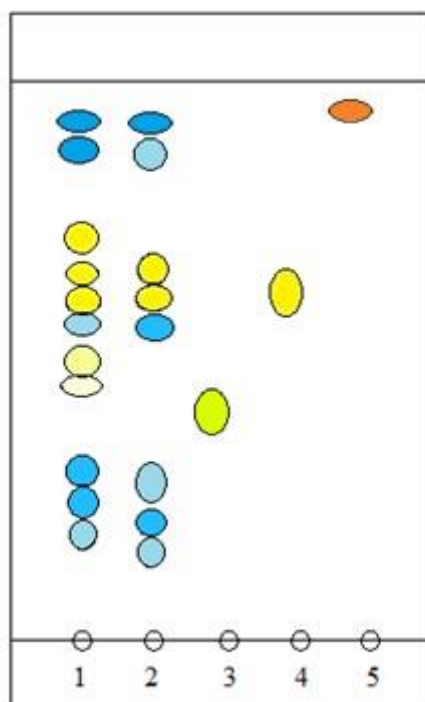


Рисунок 18 – Схема зон адсорбции на хроматограммах водно-спиртовых извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, различимых в УФ-свете при 365 нм (экстрагент – этанол 70%): 1 – *Th. marschallianus*; 2 – *Th. serpyllum*; 3 – СО рутин; 4 – СО цинарозид; 5 – СО кверцетин

Анализ полученных хроматограмм показывает, что состав фенольных соединений в извлечениях из травы *Th. marschallianus* характеризуется большим разнообразием по сравнению с извлечениями из травы *Th. serpyllum*. [49].

3.2. Химический анализ извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

В ходе проведенного фитохимического анализа объектов исследования – водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* качественными групповыми реакциями, нами обнаружены:

- дубильные вещества (с желатина раствором 1% в натрия хлорида растворе 10% наблюдали помутнение раствора, исчезающие при добавлении избытка желатина; с дихроматом аммония раствором 5% наблюдали потемнение раствора; со свинцом основным уксуснокислым – выпадение осадка (гидролизуемые дубильные вещества), а с солями железа (III) наблюдали чёрно-синее окрашивание, что указывает на присутствие преимущественно конденсированных дубильных веществ);

- флавоноиды (с алюминия хлорида раствором 5% наблюдали лимонно-жёлтое окрашивание, цианиновая проба – розовое окрашивание);

– полисахариды (с натрия гидроксида раствором 10% смесь приобрела лимонно-жёлтую окраску);

– тритерпеновые сапонины (при встряхивании двух пробирок с хлористоводородной кислотой (0,1 моль/л) и натрия гидроксидом (0,1 моль/л), наблюдали образование пены).

В исследуемых извлечениях с помощью качественных групповых реакций выявлены у *Th. serpyllum* и не обнаружены у *Th. marschallianus*:

– кумарины (отрицательная лактонная проба) [126, 135].

Результаты, полученные при проведении качественных реакций, согласуются с ранее полученными данными по изучению качественного состава БАС в траве *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* [112], которые также показали наличие дубильных веществ, флавоноидов, полисахаридов, тритерпеновых сапонинов, присутствие у *Th. serpyllum* и отсутствие у *Th. marschallianus* кумаринов.

Содержание суммы флавоноидов и дубильных веществ в водных и спиртовых извлечениях травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид) в водном извлечении *Th. marschallianus* составило $5,31 \pm 0,22\%$, а в водном извлечении *Th. serpyllum* этот показатель был ниже и составил $2,88 \pm 0,12\%$. Содержание суммы флавоноидов в спиртовом извлечении *Th. marschallianus* $2,53 \pm 0,16\%$, а в спиртовом извлечении *Th. serpyllum* этот показатель был выше и составил $3,89 \pm 0,012\%$ (Таблица 6).

Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на танин, определенное фармакопейным перманганатометрическим методом показало, что в водном извлечении *Th. marschallianus* составило $12,19 \pm 0,33\%$, а в водном извлечении *Th. serpyllum* этот показатель был выше и составил $13,47 \pm 0,61\%$. Содержание суммы дубильных веществ в спиртовом извлечении *Th. marschallianus* $28,37 \pm 1,18\%$, а в спиртовом извлечении *Th. serpyllum* этот показатель также был выше и составил $32,00 \pm 1,22\%$ (Таблица 6).

Таблица 6 – Содержание суммы флавоноидов и дубильных веществ в извлечениях из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Условия экстракции Вид сырья	Сумма флавоноидов в пересчете на цинарозид, %		Сумма дубильных веществ в пересчете на танин, %	
	Водное извлечение	Спиртовое извлечение	Водное извлечение	Спиртовое извлечение
	Соотношение сырье:экстрагент			
	1:10	1:10 (двойная экстракция)	1:10	1:10 (двойная экстракция)
	Температура экстракции – кипящая водяная бани			
<i>Th. marschallianus</i>	$5,31 \pm 0,22$	$2,53 \pm 0,16$	$12,19 \pm 0,33$	$28,37 \pm 1,18$
<i>Th. serpyllum</i>	$2,88 \pm 0,12$	$3,89 \pm 0,012$	$13,47 \pm 0,61$	$32,00 \pm 1,22$

Следует отметить, что при использовании перманганатометрического метода калия перманганат окисляет и сопутствующие вещества, что не позволяет объективно оценивать содержание дубильных веществ. В связи с тем, что в спиртовых извлечениях сумма дубильных веществ определена в завышенных количествах за счет других окисляемых веществ, данный показатель был принят как сумма окисляемых веществ.

Наибольшее содержание суммы флавоноидов установлено в водном извлечении *Th. marschallianus*, при этом в спиртовом извлечении *Th. marschallianus* флавоноидов содержится наименьшее количество [28]. Это свидетельствует о наличии в траве *Th. marschallianus* БАС фенольной природы, которые лучше извлекаются более полярным растворителем (водой), например, гликозидов, а в *Th. serpyllum* – менее полярным (спиртом), например, агликонов. При этом сумма окисляемых веществ в извлечениях *Th. marschallianus*, как в спиртовых, так и в водных, меньше, чем в аналогичных извлечениях *Th. serpyllum*.

ВЭЖХ водного и спиртового извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Методом ВЭЖХ изучены водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, сконцентрированные методом сгущения. Из 9-и использованных СО фенольных соединений – апигенин, цинарозид, космосиин, лютеолин, скутелларин, скутеллареин, кофейная кислота, феруловая кислота, розмариновая кислота (Рисунок 19-Рисунок 27), которые согласно данным литературы обнаружены в траве *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* (Таблица 2) в данных извлечениях обнаружены 2 соединения – цинарозид и розмариновая кислота (Рисунок 28-Рисунок 31).

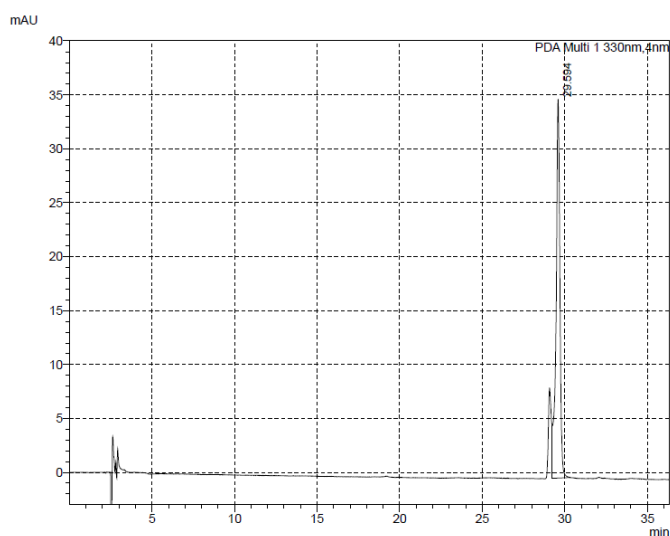


Рисунок 19 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО цинарозида

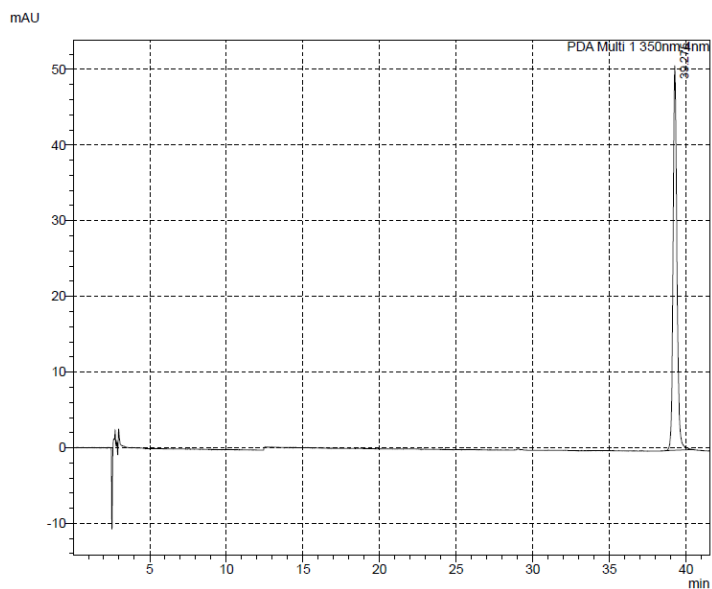


Рисунок 20 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО лутеолина

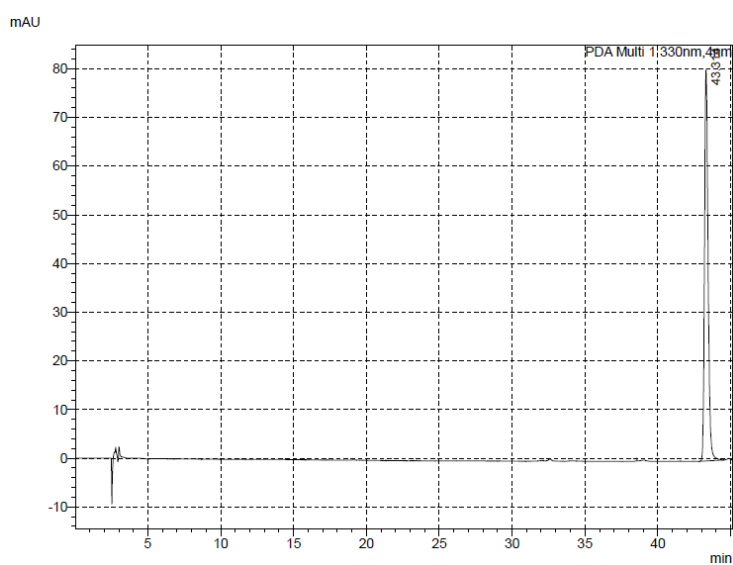


Рисунок 21 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО апигенина

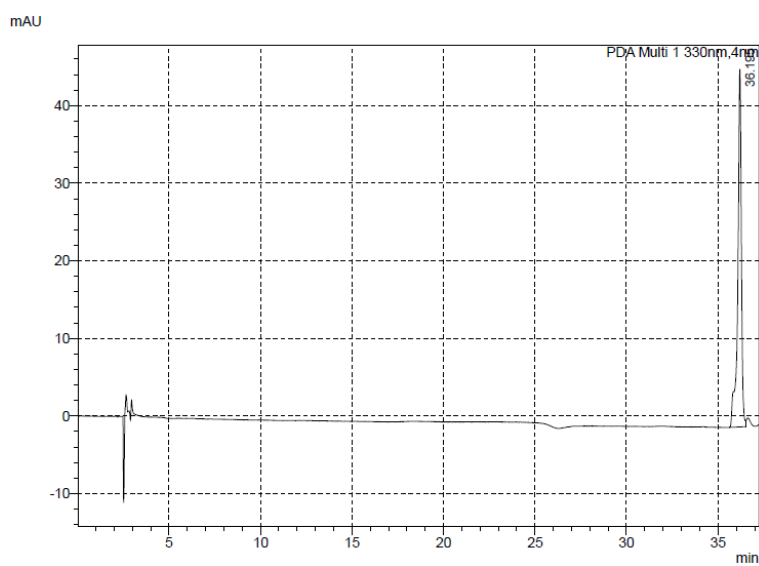


Рисунок 22 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО космосиина

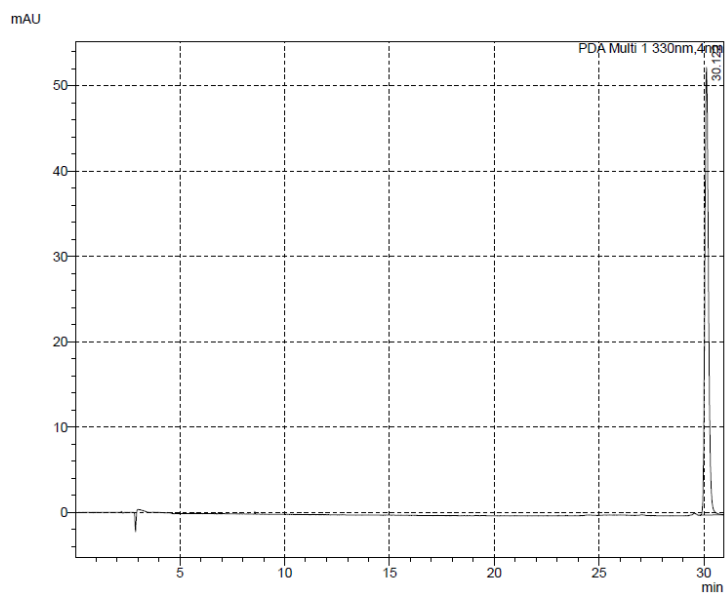


Рисунок 23 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО скутелларина

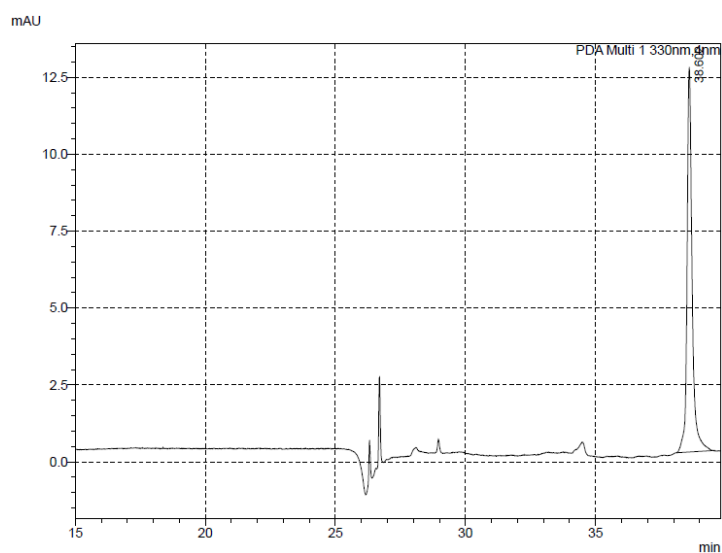


Рисунок 24 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО скутелларина

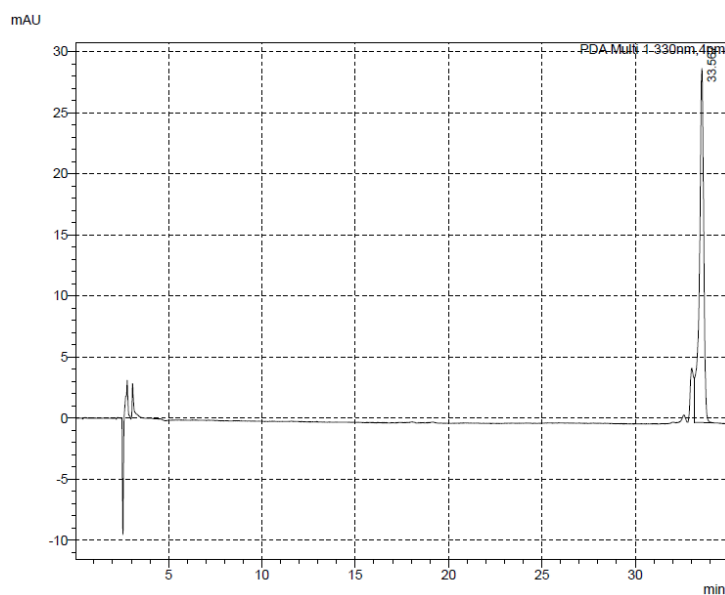


Рисунок 25 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО розмариновой кислоты

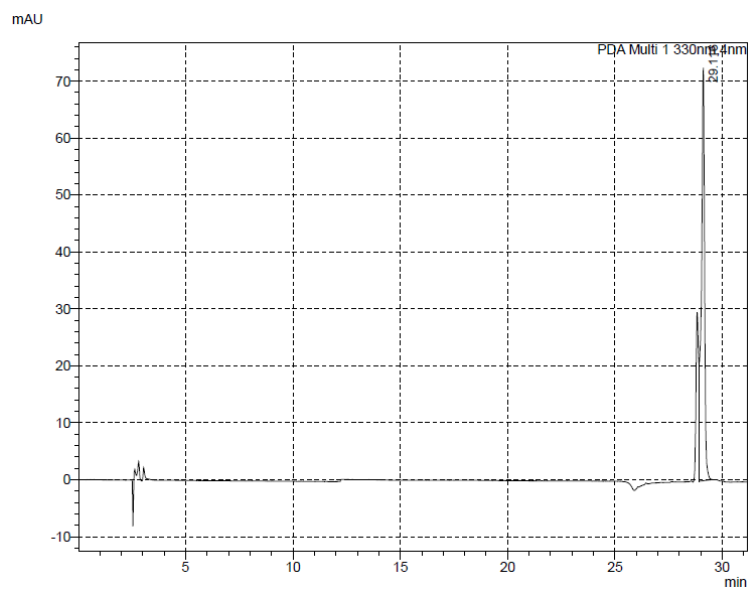


Рисунок 26 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО кофейной кислоты

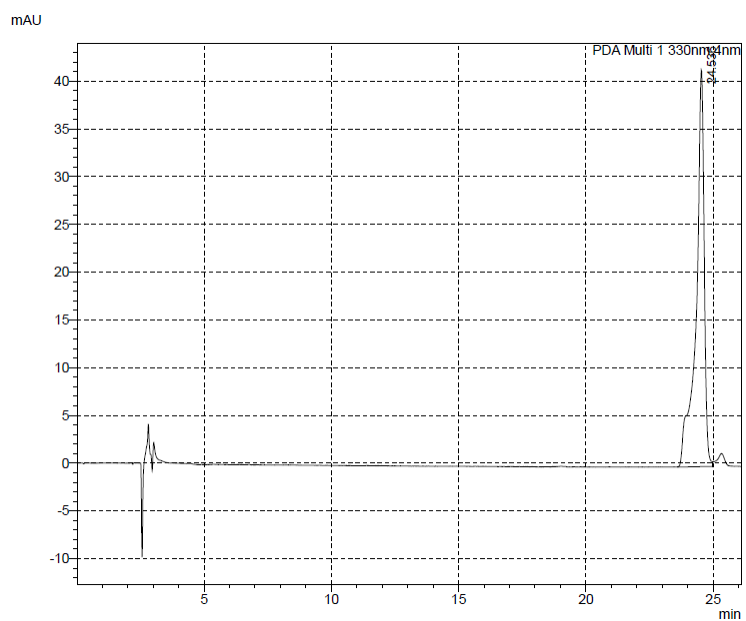


Рисунок 27 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа СО феруловой кислоты

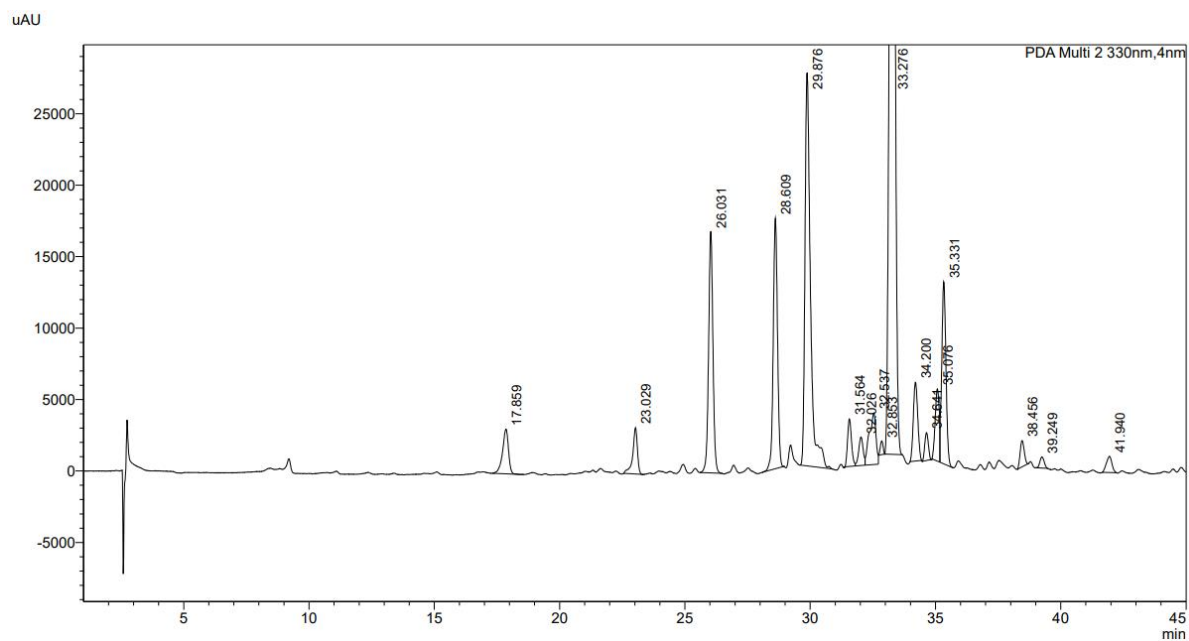


Рисунок 28 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа фенольных соединений в водном извлечении *Th. marschallianus*

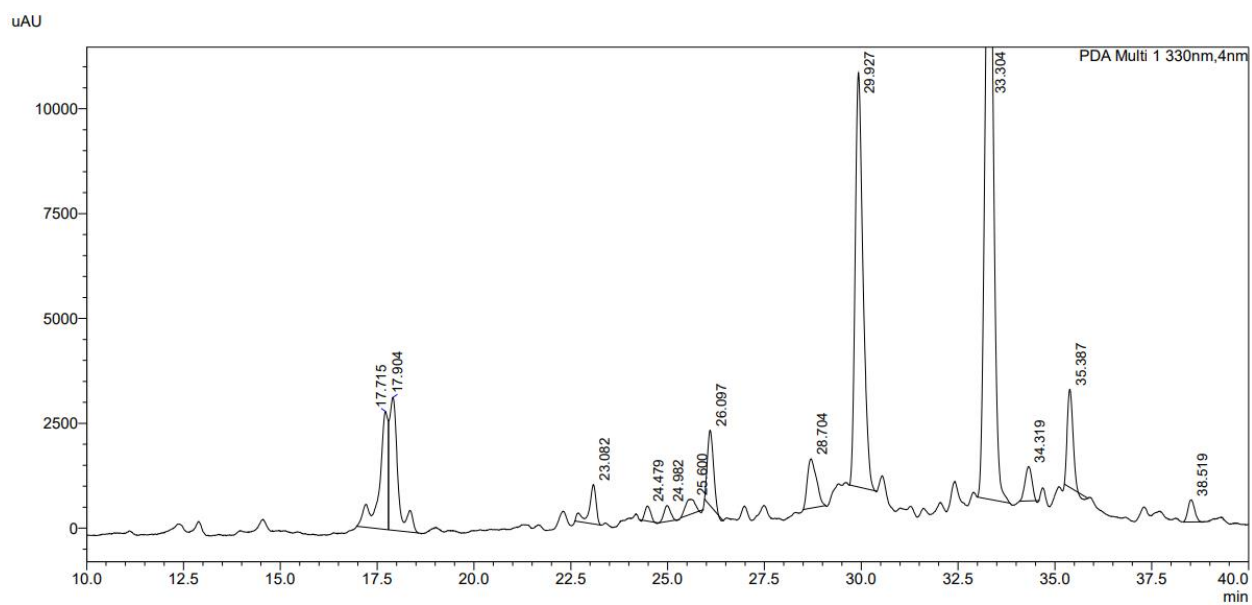


Рисунок 29 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа фенольных соединений в водном извлечении *Th. serpyllum*

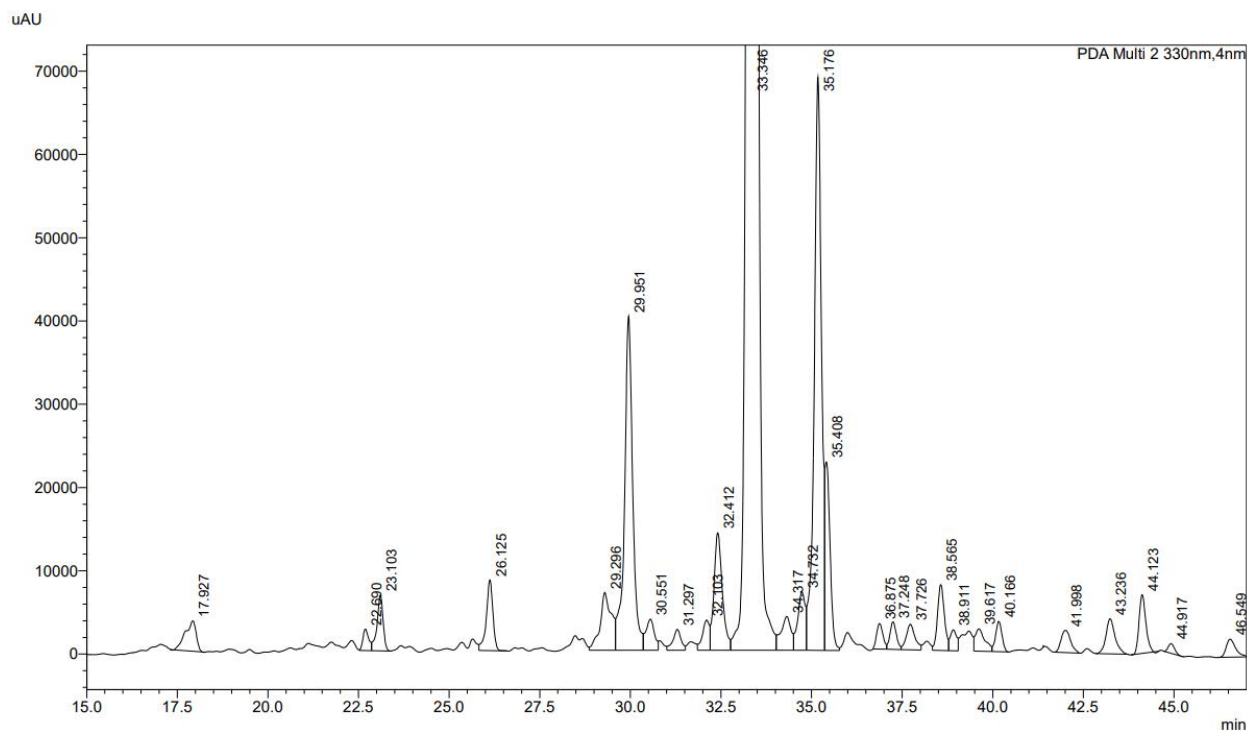


Рисунок 30 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа фенольных соединений в спиртовом извлечении *Th. marschallianus*

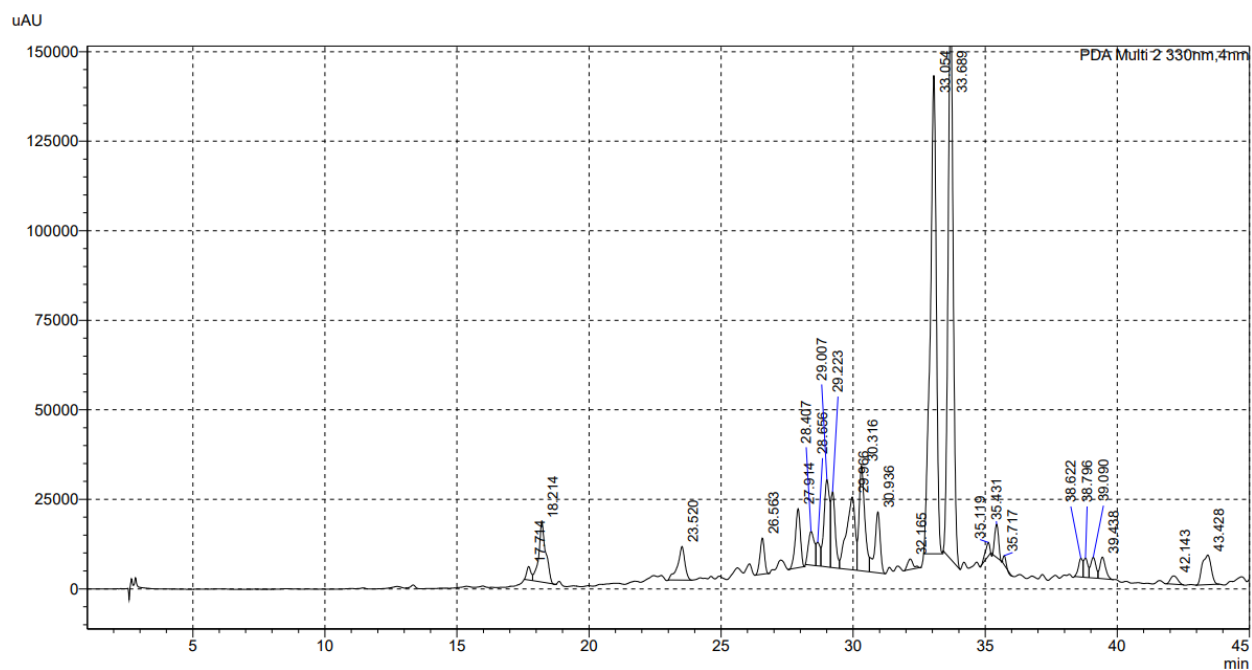


Рисунок 31 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа фенольных соединений в спиртовом извлечении *Th. serpyllum*

Наибольшее содержание как цинарозида, так и розмариновой кислоты выявлено в водном извлечении *Th. marschallianus*, а наименьшее в спиртовом извлечении *Th. serpyllum*. При этом содержание суммы флавоноидов в водном извлечении *Th. marschallianus* было больше, чем в водном извлечении *Th. serpyllum*, и, наоборот, в спиртовом извлечении *Th. serpyllum* сумма флавоноидов была больше, чем в спиртовом извлечении *Th. marschallianus*, что

вероятно, обусловлено большим содержанием в траве *Th. marschallianus* водорастворимых флавоноидов (гликозидов), а в траве *Th. serpyllum* растворимых в спирте (агликонов) (Таблица 7) [205].

Таблица 7 – Содержание цинарозида и розмариновой кислоты в водных и спиртовых извлечениях *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Извлечение	Водное извлечение			Спиртовое извлечение		
	Сумма флавоноидов, %	Розмариновая кислота, %	Цинарозид, %	Сумма флавоноидов, %	Розмариновая кислота, %	Цинарозид, %
<i>Th. marschallianus</i>	5,31±0,22	3,74±0,03	1,19±0,02	2,53±0,16	1,23±0,02	0,072±0,003
<i>Th. serpyllum</i>	2,88±0,12	0,91±0,02	0,46±0,01	3,89±0,012	0,203±0,02	0,035±0,002

В водном извлечении *Th. marschallianus* из обнаруженных фенольных соединений преобладает розмариновая кислота (3,74%), в спиртовом извлечении ее содержание в 3 раза меньше (1,23%). В извлечениях из *Th. serpyllum* содержание розмариновой кислоты значительно меньше при двух способах экстракции – в водном извлечении 0,91%, а в спиртовом 0,20%. Анализ количественного содержания цинарозида показал большее его количество в водных извлечениях, при этом в извлечениях *Th. marschallianus* его содержание больше (1,19%) в 2,5 раза, чем в извлечении *Th. serpyllum* (0,46%). В обоих спиртовых извлечениях содержание цинарозида низкое, но у *Th. marschallianus* в 1,8 раз выше и составило 0,072%, чем у *Th. serpyllum* (0,035%).

3.3. Содержание и химический состав эфирных масел *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Проведенный количественный анализ показал разное содержание ЭМ в траве *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*.

В траве *Th. marschallianus*, собранной в 2019 г., установлено наименьшее содержание ЭМ (1,00±0,11%), а в траве 2020 г. сбора – наибольшее (1,81±0,19%). Также выявлены существенные различия по содержанию ЭМ в образцах сырья *Th. serpyllum*: наибольшее содержание установлено в 2020 г. (0,62±0,20%), а наименьшее – в 2022 г. (0,24±0,10%). Содержание ЭМ в траве *Th. marschallianus* (по среднему значению) превышало аналогичные показатели в траве *Th. serpyllum* в 3 раза [102, 134].

Таблица 8 – Содержание эфирного масла в траве *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Год сбора сырья / год выпуска сырья	Содержание эфирного масла, %	
	<i>Th. marschallianus</i>	<i>Th. serpyllum</i>
2017 г.	1,15±0,10	0,34±0,09
2018 г.	1,27±0,12	0,54±0,11
2019 г.	1,00±0,11	0,39±0,09
2020 г.	1,81±0,19	0,62±0,20
2021 г.	1,45±0,14	0,49±0,12
2022 г.	1,63±0,13	0,24±0,10
2023 г.	1,51±0,08	0,42±0,07
Среднее значение	1,45±0,25	0,43±0,12

Содержание ЭМ варьировало не только между разными видами рода *Thymus*, но и внутри вида. Внутривидовой полиморфизм, вероятно, можно объяснить, разными климатогеографическими условиями произрастания растений.

Ранее было определено содержание ЭМ Ю.А. Старчак (2016 г.) и составило в траве *Th. marschallianus* – 1,72%, в траве *Th. serpyllum* – 0,56% [112]. Ю.А. Банаевой и др. (1999 г.) установлено содержание ЭМ в траве *Th. serpyllum*, собранного в местах естественного произрастания в различных районах Алтайского края и Республики Алтай, и составило 0,5-1,0% [15]. Нами показано, что содержание ЭМ в траве *Th. marschallianus* варьировало в разные года сбора от 1,00±0,11 до 1,81±0,19%, а в траве *Th. serpyllum* – 0,24±0,10% до 0,62±0,20%. Таким образом, представители рода *Thymus* характеризуются различным содержанием ЭМ между видами, при этом *Th. marschallianus* содержит больше ЭМ, чем *Th. serpyllum*.

В ЭМ *Th. serpyllum* методом ГЖХ-МС (Таблица 9) обнаружено 66 веществ (Рисунок 32), из которых идентифицировано 63. Основную долю составляют ароматические соединения (51,00%), преобладающими компонентами которых являются тимол (19,34%) и карвакрол (24,53%). Среди монотерпенов доминируют моноциклические соединения (15,05%), из которых содержание эвкалиптола составило 8,37%. Бициклические монотерпены (6,88%) представлены в основном эндоборнеолом (5,04%), а ациклические линалоолом (2,07%). Из сесквитерпенов можно отметить трициклический сесквитерпен – кариофиллен (2,85%) и его оксид (1,02%), а также бициклические сесквитерпены цедреанол (1,79%) и γ -кадинен (1,27%) (Таблица 11).

Таблица 9 – Компоненты эфирного масла *Th. serpyllum*, выявленные методом ГЖХ-МС

№ п/п	Название вещества	Время удерживания [min]	Содержание, %
1.	(E)-2-Гексеналь (E)-2-Hexenal	4,257	0,09
2.	Гексилгидропероксид Hexylhydroperoxide	4,465	0,13
3.	α -Thujene α -Туйен	5,396	0,08

Продолжение Таблицы 9

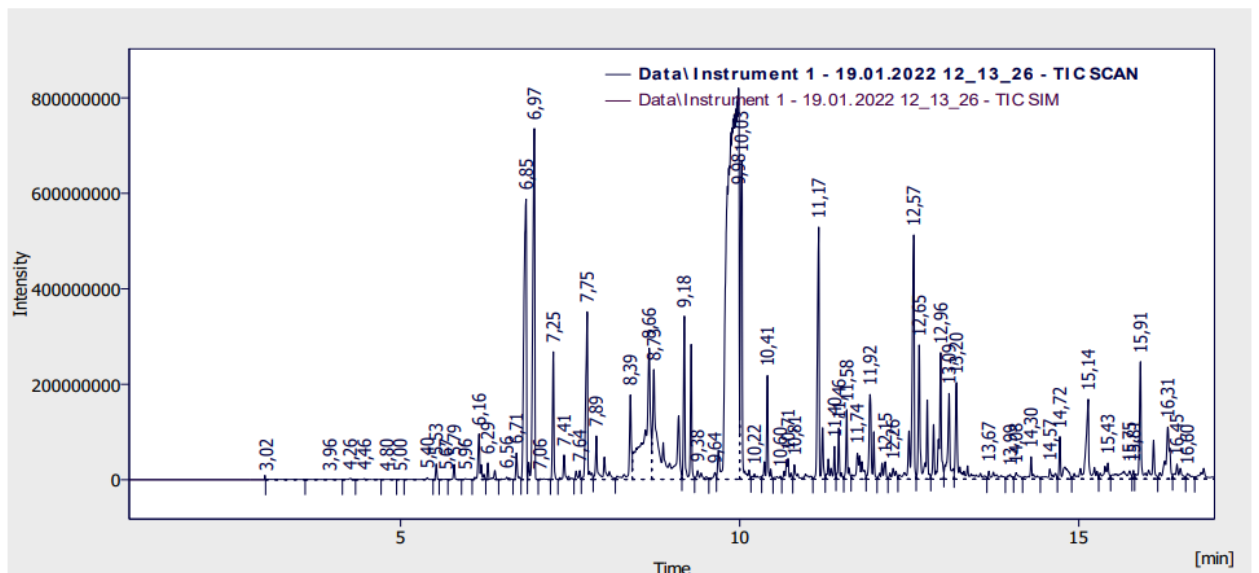
4.	L- α -pinene L- α -Пинен	5,526	0,11
5.	Camphene Камфен	5,791	0,11
6.	1-Octen-3-ol 1-Октен-3-ол	6,156	0,57
7.	β -Mircene β -Мирцен	6,285	0,21
8.	3-Octanol 3-Октанол	6,389	0,09
9.	α -terpinolene α -Терпинолен	6,708	0,22
10.	M-Isopropyltoluene 4-изопропилтолуол	6,851	4,15
11.	Limonene Лимонен	6,891	0,13
12.	Eucalyptol Эвкалиптол	6,973	8,37
13.	γ -Terpinene γ -Терпинен	7,253	1,00
14.	Cis-Sabinenhydrate цис-Сабинен гидрат	7,41	0,26
15.	P-Cymene p-Цименен	7,643	0,13
16.	Linalool Линалоол	7,751	2,07
17.	3-Thujanone 3-Туянон	8,005	0,30
18.	Camphor Камфора	8,389	0,98
19.	endo-Borneol Эндоборнеол	8,665	5,04
20.	Terpinen-4-ol Терпинеол	8,733	2,28
21.	L- α -Terpineol L- α -Терпинеол	9,102	1,83
22.	Thymol methyl ether Тимилметилловый эфир	9,184	1,28
23.	Isothymol methyl ether Изотимолметилловый эфир	9,284	1,14
24.	(-)-cis-Carveol (-)-Цис-Карвеол	9,381	0,17
25.	cis-Geraniol цис-Гераниол	9,689	0,36
26.	Thymol Тимол	9,919	15,72
27.	Carvacrol Карвакрол	9,983	24,53
28.	Carvacryl acetate Карвакрилацетат	10,363	0,13

Продолжение Таблицы 9

29.	α -Terpinyl acetate α -Терпинилацетат	10,41	0,92
30.	Soraeene α -Копаен	10,714	0,36
31.	(-)- β -Bourbonene (-)- β -Бурбонен	10,807	0,14
32.	Caryophyllene Кариофиллен	11,166	2,85
33.	p-tert.-Butylcatechol <i>n</i> -Трет-бутилкатехин	11,223	0,43
34.	Aromandendrene Аромадендрен	11,305	0,24
35.	γ -Selinene γ -Селинен	11,348	0,08
36.	Geranyl propionate Геранилпропионат	11,399	0,21
37.	Humulene Гумулен	11,463	0,63
38.	ϵ -Muurolene ϵ -Муролен	11,578	0,58
39.	(+)-Cyclosativene (+)-Циклосативен	11,735	0,66
40.	γ -Cadinene γ -Кадинен	11,922	1,27
41.	Calamenene Каламенен	11,979	0,30
42.	Cubebanol Кубебанол	12,097	0,15
43.	X1	12,567	2,71
44.	Ledol Ледол	12,646	1,96
45.	X2	12,767	0,76
46.	10-epi- γ -Eudesmol 10-эпи- γ -Эудесмол	12,861	0,42
47.	Cedreanol Цедреанол	12,964	1,79
48.	X3	13,086	1,12
49.	Caryophyllene oxide Оксид кариофиллена	13,197	1,02
50.	(-)-Spathulenol (-)-Спатуленол	13,359	0,08
51.	Tetradecanoic acid Тетрадекановая кислота	13,674	0,05
52.	4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid, methyl ester Метилловый эфир 4,7,10,13,16,19- докозагексаеновой кислоты	13,742	0,13
53.	Hexahydrofarnesyl acetone Гексагидрофарнезилацетон	14,297	0,21
54.	1-Hexadecanol Гексагидрофарнезилацетон	14,573	0,16

Продолжение Таблицы 9

55.	Germacrone Гермакрон	14,72	0,56
56.	Spathulenol Спатуленол	14,796	0,31
57.	n-Hexadecanoic acid н-Гексадекановая кислота	15,14	1,33
58.	Digoxigenin Дигоксигенин	15,229	0,16
59.	Cycloproпа[5,6]-A-nor-5 α -androstane-3,7-dione, 3',6 β -dihydro-17 β -hydroxy-3',3'-dimethyl-, acetate Циклопропа[5,6]-а-нор-5 α -андростан-3,7-дион, 3',6 β -дигидро-17 β -гидрокс-3',3'-диметил-, ацетат	15,749	0,37
60.	Epoхурprogesterone Эпоксипрогестерон	15,806	0,06
61.	Manool Маноол	15,91	0,99
62.	7,10,13-Eicosatrienoic acid, methyl ester Метилевый эфир 7,10,13-эйкозатриеновой кислоты	16,032	0,10
63.	Sclareol Сclareол	16,104	0,37
64.	3-Acetoху-5-pregnan-20-one 3 β -Ацетокси-5 α -прегнан-20-он	16,311	1,03
65.	Norethindrone Норэтиндрон	16,842	0,18
66.	Heptacosane Гептакозан	19,762	0,08

Рисунок 32 – Хроматограмма результатов ГЖХ-МС анализа ЭМ *Th. serpyllum*

В ЭМ *Th. marschallianus* (Таблица 10) обнаружено и идентифицировано 64 соединения (Рисунок 33), основную долю в котором также составляют ароматические соединения (40,96%). Массовая доля основных компонентов тимола и карвакрола составила 34,29% и 4,11%

соответственно. К монотерпенам с высокой концентрацией относятся γ -терпинен (7,63%), сильвестрен (8,89%), эвкалиптол (2,91%). Основным компонентом бициклических монотерпенов является эндоборнеол (5,25%). Сесквитерпеновые соединения представлены моноциклическим сесквитерпеном – β -бисаболеном (5,10%), трициклическими сесквитерпенами – кариофилленом (2,82%) и спатуленолом (3,09%) (Таблица 11).

Таблица 10 – Компоненты эфирного масла *Th. marschallianus*, выявленные методом ГЖХ-МС

№ п/п	Название вещества	Время удерживания [min]	Содержание, %
1.	Methyl isovalerate Метил изовалерат	3,089	0,07
2.	Hexanal Гексаналь	3,436	0,04
3.	2-Hexenal 2-Гексеналь	4,25	0,11
4.	1-Hexanol 1-гексанол	4,468	0,07
5.	5-methyl-3-Hexanone 5-Метилгексан-3-он	4,737	0,02
6.	α -Thujene α -Туйен	5,396	0,87
7.	L- α - pinene L- α -Пинен	5,529	0,80
8.	Dehydrosabinene Дегидросабинен	5,665	0,04
9.	Camphene Камфен	5,791	0,88
10.	2(10)-Pinene β -Пинен	6,092	0,02
11.	β -Phellandrene β -Фелландрен	6,095	0,97
12.	β -Myrcene β -Мирцен	6,289	1,93
13.	3-Octanol 3-Октанол	6,389	0,09
14.	α -Phellandrene α -Фелландрен	6,565	0,21
15.	α -Terpinene α -Терпинен	6,712	1,52
16.	Sylvestrene Сильвестрен	6,869	8,89
17.	M-Isopropyltoluene 4-изопропилтолуол	6,869	0,05
18.	Eucalyptol Эвкалиптол	6,966	2,91
19.	γ -Terpinene γ -Терпинен	7,296	7,63

Продолжение Таблицы 10

20.	Linalool Линалоол	7,722	0,40
21.	Sabinene hydrate Сабинен гидрат	8,07	0,23
22.	Isopinocarveol Изопинокарвеол	8,292	0,15
23.	(3E,5Z)-1,3,5-Undecatriene (3E,5Z)-Ундека-1,3,5-триен	8,582	3,40
24.	endo-Borneol (-)-Борнеол	8,725	5,25
25.	Isothymol methyl ether ИЗОТИМОЛМЕТИЛОВЫЙ ЭФИР	9,173	2,21
26.	trans-2-Menthenol <i>транс</i> -2-Ментенол	9,335	0,07
27.	Anethole Анетол	9,793	0,30
28.	Thymol Тимол	9,972	34,29
29.	Carvacrol Карвакрол	10,037	4,11
30.	α -ylangene α -Иланген	10,137	0,15
31.	α -Soraene α -Копаен	10,707	0,31
32.	β -Soraene β -Копаен	10,789	0,35
33.	(-)- β -Bourbonene (-)- β -Бурбонен	10,8	0,15
34.	3-Ethyl-3-hydroxyandrostane-17-one 3-Этил-3-гидроксиандростан-17-он	11,001	0,08
35.	Caryophyllene Кариофиллен	11,151	2,82
36.	Aromandendrene Аромадендрен	11,302	0,95
37.	Humulene Гумулен	11,445	0,11
38.	α -Himachalene α -Гимахален	11,452	0,43
39.	γ -Muurolene γ -Муролен	11,571	0,76
40.	Germacrene D Гермакрен D	11,653	0,21
41.	Bicyclogermacrene Бициклогермакрен	11,775	1,00
42.	β -Bisabolene β -Бисаболен	11,825	5,10
43.	α -Amorphene α -Аморфен	11,918	0,15
44.	α -Amorphene α -Аморфен	11,932	1,40

Продолжение Таблицы 10

45.	α -Bisabolene α -Бисаболен	12,054	0,67
46.	5-Isopropyl-2-methylphenyl 3-methylbutanoate 5-Изопропил-2-метилфенил 3-метилбутаноат	12,277	0,25
47.	Isospathulenol Изоспатуленол	12,402	0,31
48.	4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane 4,4-Диметил-3-(3-метилбут-3-енилиден)-2-метиленбицикло[4.1.0]гептан	12,463	0,13
49.	1,1,7-trimethyl-4-meth-1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol-decahydro (1aR, 4aR, 7S, 7aR, 7bR)-1,1,7-Триметил-4-метилендекагидро-1H-циклопропа[e]азулен-7-ол	12,484	3,09
50.	γ -Gurjuneperoxide-(2) γ -Гурьюненэпоксид-(2)	12,621	0,17
51.	Germastra-4(15),5,10(14)-trien-1 α -ol Гермакра-4(15),5,10(14)-триен-1 α -ол	12,749	0,37
52.	(-)-Spathulenol (-)-Спатуленол	12,882	0,44
53.	trans-Cubebol <i>транс</i> – Кубебол	13,051	0,83
54.	Saryophyllene oxide Оксид кариофиллена	13,237	0,58
55.	α -Vetivol α -Витевол	13,531	0,12
56.	9-cis-Retinal, 9- <i>цис</i> -Ретиналь	13,649	0,13
57.	4 β -Methylandrostane2,3-diol-1,17-dione 4- β -Метиландростан-2,3-диол-1,17-дион	13,792	0,30
58.	1,3,3-trimethyl-2-ethenyl-Cyclohexene 1,3,3-триметил-2-винил-1-циклогексен	14,606	0,16
59.	Eicosahydrodibenzo(a,i)fluorene Эйкозагидродибензо[a,i]флуорен	14,71	0,25
60.	n-Hexadecanoic acid н-Гексадекановая кислота	15,079	0,29
61.	1-Heptatriacotanol 1-Гептатриакотанол	15,419	0,20
62.	5 β -iodomethyl-1 β -isopropenyl-4 α ,5 α -6 β -Bicyclo[4.3.0]nonane 6- β -Бицикло[4.3.0]нонан	15,505	0,23
63.	2-[4-methyl-6-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)hexa-1,3,5-trienyl]cyclohex-1-en-1-carboxaldehyde 2-[4-Метил-6-(2,6,6-триметилциклогекс-1-енил)гекса-1,3,5-триенил]циклогекс-1-ен-1-карбоксальдегид	15,67	0,12
64.	Eroxuprogesterone Эпоксипрогестерон	15,824	0,13

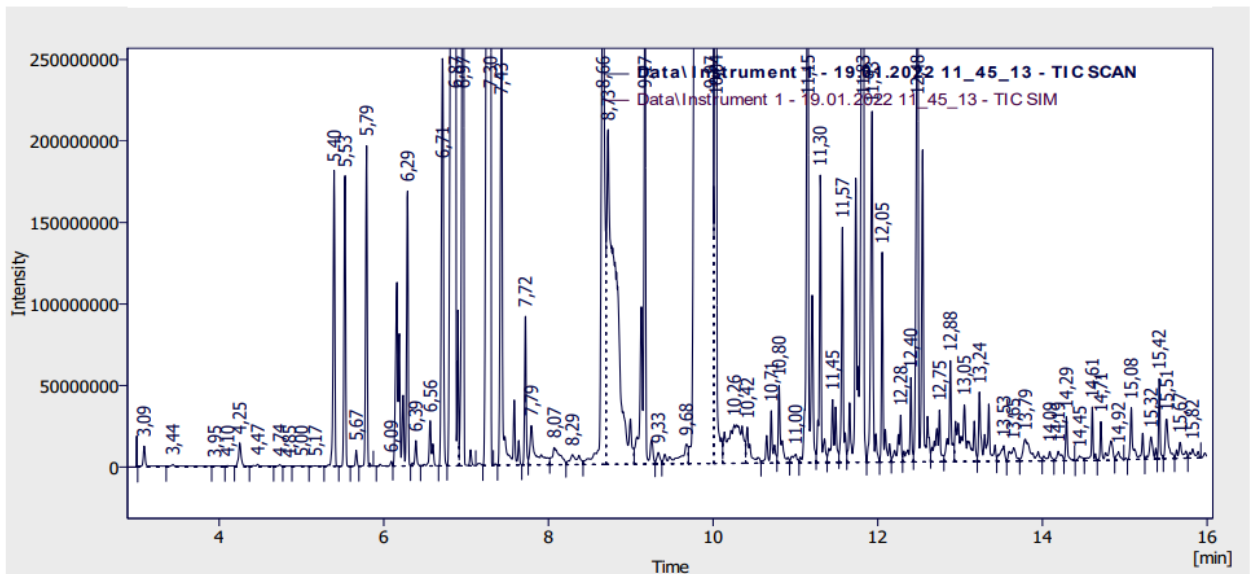


Рисунок 33 – Хроматограмма результатов ГЖХ-МС анализа ЭМ *Th. marschallianus*

Содержание тимола и его изомеров в ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* составило 38,4% и 43,88% соответственно [109].

Таблица 11 – Компоненты эфирного масла *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* по результатам газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

№ п/п	Компонент	Время удерживания [min]	Содержание, %	
			<i>Th. serpyllum</i>	<i>Th. marschallianus</i>
Ароматические соединения				
1.	<i>m</i> -Цимол	6,860	4,15	0,05
2.	Тимилметиловый эфир	9,184	1,28	-
3.	Изотимолметиловый эфир	9,229	1,14	2,21
4.	Тимол	9,974	19,34	34,29
5.	Карвакрол	10,010	24,53	4,11
6.	Карвакрилацетат	10,363	0,13	-
7.	<i>n</i> -Трет-бутилкатехин	11,223	0,43	-
8.	Анетол	9,793	-	0,30
	<i>Σ</i> Ароматических соединений		51,00	40,96
Монотерпены				
<i>Ациклические монотерпены</i>				
9.	β -Мирцен	6,287	0,21	1,93
10.	Линалоол	7,737	2,07	0,40
11.	<i>цис</i> -Гераниол	9,689	0,36	-
12.	Геранилпропионат	11,399	0,21	-
	<i>Σ</i> Ациклических монотерпенов		2,85	2,33
<i>Моноциклические монотерпены</i>				
13.	α -Терпинолен	6,708	0,22	-
14.	Лимонен	6,891	0,13	-
15.	Эвкалиптол	6,970	8,37	2,91
16.	γ -Терпинен	7,275	1,00	7,63
17.	<i>n</i> -Цименен	7,643	0,13	-

Продолжение Таблицы 11

18.	4-Терпинеол	8,733	2,28	-
19.	L- α -Терпинеол	9,102	1,83	-
20.	(-)-Цис-Карвеол	9,381	0,17	-
21.	α -Терпинилацетат	10,410	0,92	-
22.	β -Фелландрен	6,095	-	0,97
23.	α -Фелландрен	6,565	-	0,21
24.	α -Терпинен	6,712	-	1,52
25.	Сильвестрен	6,869	-	8,89
26.	транс-2-Ментенол	9,335	-	0,07
	<i>Σ Моноциклических монотерпенов</i>		15,05	22,2
<i>Бициклические монотерпены</i>				
27.	α -Туйен	5,396	0,08	0,87
28.	L- α -Пинен	5,528	0,11	0,80
29.	Камфен	5,791	0,11	0,88
30.	цис-Сабинен гидрат	7,740	0,26	0,23
31.	3-Туянон	8,005	0,30	-
32.	Камфора	8,389	0,98	-
33.	Эндоборнеол	8,695	5,04	5,25
34.	Дегидросабинен	5,665	-	0,04
35.	β -Пинен	6,092	-	0,02
36.	Изопинокарвеол	8,292	-	0,15
	<i>Σ Бициклических монотерпенов</i>		6,88	8,24
Сесквитерпены				
<i>Моноциклические сесквитерпены</i>				
37.	Гумулен	11,454	0,63	0,11
38.	Гермакрон	14,720	0,56	-
39.	Гермакрен D	11,653	-	0,21
40.	β -Бисаболен	11,825	-	5,10
41.	α -Бисаболен	12,054	-	0,67
42.	5-Изопропил-2-метилфенил 3-метилбутаноат	12,277	-	0,25
43.	Гермакра-4(15),5,10(14)-триен-1 α -ол	12,749	-	0,37
	<i>Σ Моноциклических сесквитерпенов</i>		1,19	6,71
<i>Бициклические сесквитерпены</i>				
44.	γ -Селинен	11,348	0,08	-
45.	ε -Муролен	11,578	0,58	-
46.	γ -Кадинен	11,922	1,27	-
47.	Каламенен	11,979	0,30	-
48.	10-эпи- γ -Эудесмол	12,861	0,42	-
49.	Цедреанол	12,964	1,79	-
50.	α -Гимахален	11,452	-	0,43
51.	γ -Муролен	11,571	-	0,76
52.	Бициклогермакрен	11,775	-	1,00
53.	α -Аморфен	11,925	-	1,45
54.	α -Витевол	13,531	-	0,12
55.	4,4-Диметил-3-(3-метилбут-3-енилиден)-2-метиленибицикло[4.1.0]гептан	12,463	-	0,13
56.	6- β -Бицикло[4.3.0]нонан	15,505	-	0,23

Продолжение Таблицы 11

	<i>Σ Бициклических сесквитерпенов</i>		4,44	4,12
<i>Трициклические сесквитерпены</i>				
57.	α -Копаен	10,711	0,36	0,31
58.	(-)- β -Бурбонен	10,804	0,14	0,15
59.	Кариофиллен	11,159	2,85	2,82
60.	Аромадендрен	11,304	0,24	0,95
61.	Кубебанол	12,097	0,15	-
62.	Ледол	12,646	1,96	-
63.	Оксид кариофиллена	13,217	1,02	0,58
64.	(-)-Спатуленол	13,359	0,08	0,44
65.	Спатуленол	14,796	0,31	3,09
66.	α -Иланген	10,137	-	0,15
67.	β -Копаен	10,789	-	0,35
68.	Изоспатуленол	12,402	-	0,31
69.	γ -Гурьюненэпоксид-(2)	12,621	-	0,17
70.	<i>транс</i> -Кубебол	13,051	-	0,83
	<i>Σ Трициклических сесквитерпенов</i>		7,11	10,15
<i>Тетрациклические сесквитерпены</i>				
71.	(+)-Циклосативен	11,735	0,66	-
	<i>Σ Тетрациклических сесквитерпенов</i>		0,66	-
Дитерпены				
<i>Моноциклические дитерпены</i>				
72.	9-цис-Ретиналь	13,649	-	0,13
	<i>Σ Моноциклических дитерпенов</i>		-	0,13
<i>Бициклические дитерпены</i>				
73.	Маноол	15,910	0,99	-
74.	Склареол	16,104	0,37	-
	<i>Σ Бициклических дитерпенов</i>		1,36	-
<i>Тетрациклические дитерпены</i>				
75.	Филлокладен	15,025	0,15	-
	<i>Σ Тетрациклических дитерпенов</i>		0,15	-
Алканы, алкены				
76.	Гептакозан	19,762	0,08	-
77.	(3E,5Z)-Ундека-1,3,5-триен	8,582	-	3,30
78.	1-Винил-2,6,6-триметилциклогексен	14,606	-	0,16
79.	Эйкозагидродибензо[a,i]флуорен	14,710	-	0,25
	Σ Алканов, алкенов		0,08	3,71
Альдегиды, спирты, кетоны, органические кислоты, эфиры				
80.	(E)-2-Гексеналь	4,257	0,09	-
81.	Гексилгидропероксид	4,465	0,13	-
82.	1-Октен-3-ол	6,156	0,57	-
83.	3-Октанол	6,389	0,09	0,09
84.	Метил изовалерат	3,089	-	0,07
85.	Гексаналь	3,436	-	0,04
86.	2-Гексеналь	4,250	-	0,10
87.	1-гексанол	4,468	-	0,05
88.	5-Метилгексан-3-он	4,737	-	0,02
89.	Тетрадекановая кислота	13,674	0,05	-

Продолжение Таблицы 11

90.	Метиловый эфир 4,7,10,13,16,19-докозагексаеновой кислоты	13,742	0,13	-
91.	Гексагидрофарнезилацетон	14,297	0,21	-
92.	1-Гексадеканол	14,573	0,16	-
93.	n-Гексадекановая кислота	15,100	1,33	0,27
94.	Метиловый эфир 7,10,13-эйкозатриеновой кислоты	16,032	0,10	-
95.	1-Гептатриакотанол	15,419	-	0,18
96.	2-[4-Метил-6-(2,6,6-триметилциклогекс-1-енил)гекса-1,3,5-триенил]циклогекс-1-ен-1-карбоксальдегид	15,670	-	0,12
	Σ Альдегидов, спиртов, кетонов, органических кислот, эфиров		2,86	0,94
Амиды, пептиды, стероиды				
97.	X1	12,567	2,71	-
98.	X2	12,767	0,76	-
99.	X3	13,086	1,12	-
100.	Циклопропа[5,6]-а-нор-5 α -андростан-3,7-дион, 3',6 β -дигидро-17 β -гидрокс-3',3'-диметил-, ацетат	15,749	0,51	-
101.	Эпоксипрогестерон	15,815	0,06	0,13
102.	3 β -Ацетокси-5 α -прегнан-20-он	16,311	1,03	-
103.	Норэтиндрон	16,842	0,18	-
104.	3-Этил-3-гидроксиандростан-17-он	11,001	-	0,08
105.	4- β -Метиландростан-2,3-диол-1,17-дион	13,792	-	0,30
	Σ Амидов, пептидов, стероидов		6,37	0,51
	Σ Всех компонентов		100,0	100,0

С учетом результатов анализа химического состава ЭМ сравнительный анализ проведен по группам следующих соединений: фенолам, моно- и бициклическим монотерпеновым алкенам, моно-, би- и трициклическим сесквитерпеновым алкенам, альдегидам, сесквитерпеновым спиртам. Статистически значимые различия с вероятностью 95% установлены для трициклических сесквитерпеновых алкенов, суммарное содержание которых составило в ЭМ *Th. marschallianus* 4,73%, в ЭМ *Th. serpyllum* – 3,59%.

Другими веществами в анализируемых ЭМ явились спирты, альдегиды, стероиды, жирные кислоты и их производные. Определены и изомерные варианты некоторых веществ: в эфирных маслах обоих видов – L- α -пинен, (-)- β -бурбонен, (-)-спатуленол. В ЭМ *Th. serpyllum* также обнаружены L- α -терпинеол, (-)-*цис*-карвеол, (+)-циклативен.

Согласно химическому составу ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* относятся к фенольному хемотипу. Данный хемотип с помощью ГЖХ-МС установлен и для других видов тимьянов, но со значительными колебаниями в массовой доле основных веществ. Так в эфирных маслах 9-ти видов тимьянов, в том числе *Th. serpyllum*, произрастающих на территории Ирана, на долю тимола приходится 12,4-79,74%, карвакрола – 4,37-42,14%,

гераниола – 0,3-22,44%, *n*-цимена – 0,8-12,86% [211]. В ЭМ эндемичного для Ирана *Th. caramanicus* массовая доля карвакрола достигает 58,9-68,9%, тимола – 2,4-6%, γ -терпинена – 4,3-8%, *n*-цимена – 3-8,9%, борнеола – 2,3-4% в зависимости от фазы развития [214]. В ЭМ травы *Th. vulgaris* L. массовая доля тимола составляет 41%, карвакрола – 2,77%, *n*-цимена – 10,5%, 1,8-цинеола – 14,26%, γ -терпинена – 12,06%, α -терпинена – 9,22%, линалоола – 2,8% [143]. В эфирных маслах *Th. marschallianus* и *Th. pallasianus*, полученных из сырья, собранном в двух районах Саратовской области в период цветения (Саратовском и Энгельсском), определены разные хемотипы: у *Th. marschallianus* – фенольный, с преобладанием тимола (54,6%), *n*-цимена (21%), карвакрола (2,91%), у *Th. pallasianus* – эфирный, с преобладанием монотерпеновых эфиров: α -терпинилиацетата (48,5%) и транс- α -анетола (32,8%) [37]. У ЭМ *Th. vulgaris* из травы, собранной в период цветения, установлен кетоновый фенотип с преобладанием монотерпенового кетона – камфора (38,54%), монотерпеновых алкенов – камфена (17,19%), α -пинена (9,35%) [158].

С целью идентификации и сравнительного анализа компонентов эфирных масел в водных и спиртовых извлечениях *Th. marschallianus* нами был проведен их анализ методом ГЖХ-МС (Рисунок 34, Рисунок 35).

Таблица 12 – Компоненты водного извлечения *Th. marschallianus*, по результатам газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Название вещества	Время удерживания [min]	Процентное содержание, %
Toluene Толуол	3,028	6,68
p-Xylene <i>n</i> -Ксилол	4,898	1,80
Tetradecane Тетрадекан	10,789	1,88
Pentadecane Пентадекан	11,66	2,07
Hydroxytoluene Гидрокситолуол	11,743	8,40
Hexadecane Гексадекан	12,484	4,64
n-Nonadecanol-1 <i>n</i> -Нонадеканол-1	13,208	1,60
Heptadecane Гептадекан	13,258	4,45
9-Octadecen-1-ol, (Z)- (Z)-Октадец-9-ен-1-ол	13,305	4,13
Nonadecane Нонадекан	13,996	4,50
2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride 2-додецен-1-илсукциновый ангидрид	15,236	6,68

Продолжение Таблицы 12

Erucic acid Эруковая кислота	15,297	3,38
3-methyl-4-(1,3,3-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-1-yl)-3-Buten-2-one 3-Метил-4-(1,3,3-триметил-7-оксо-бицикло[4.1.0]гепт-2-ил)-бут-3-ен-2-он	15,548	6,17
4a,7a-Epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-4(1H)-one, 2,7,10,11-tetrakis(acetyloxy)decahydro-8,9-dihydroxy-1,1,3,6,9-pentamethyl-4a,7a-Эпокси-5H-циклопента[a]циклопропа[f]циклоундецен-2,4,7,10,11-пентол, 1,1а,2,3,4,6,7,10,11,11а-декагидро-1,1,3,6,9-пентаметил-, 2,7,10,11-тетраацетат	19,081	12,58
2-Butenoic acid, 2-methyl-, 2-(acetyloxy)-1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-7,10-dihydroxy-1,1,3,6,9-pentamethyl-4a,7a-epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-11-yl ester, [1aR-[1aR*,2R*,3S*,4aR*,6S*,7S*,7aS*,8E,10R*,11R*(E),11aS*]]- 2-Бутеновая кислота, 2-метил-, (1R,2S,3S,4S,5S,10R)-2-(ацетилокси)-5-гидрокси-6,10-диметил-3-(1-метилэтил)-11-оксобицикло[8.1.0]ундец-6-ен-4-илэфир, (2E)-	19,647	5,70
Heptacosane Гептакозан	19,905	6,59
3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)- Octadecane 3-этил-5-(2-этилбутил)-Октадекан	22,131	8,14
Linoleic acid ethyl ester Линолевая кислота этиловый эфир	22,973	10,61
	Итого	100,00

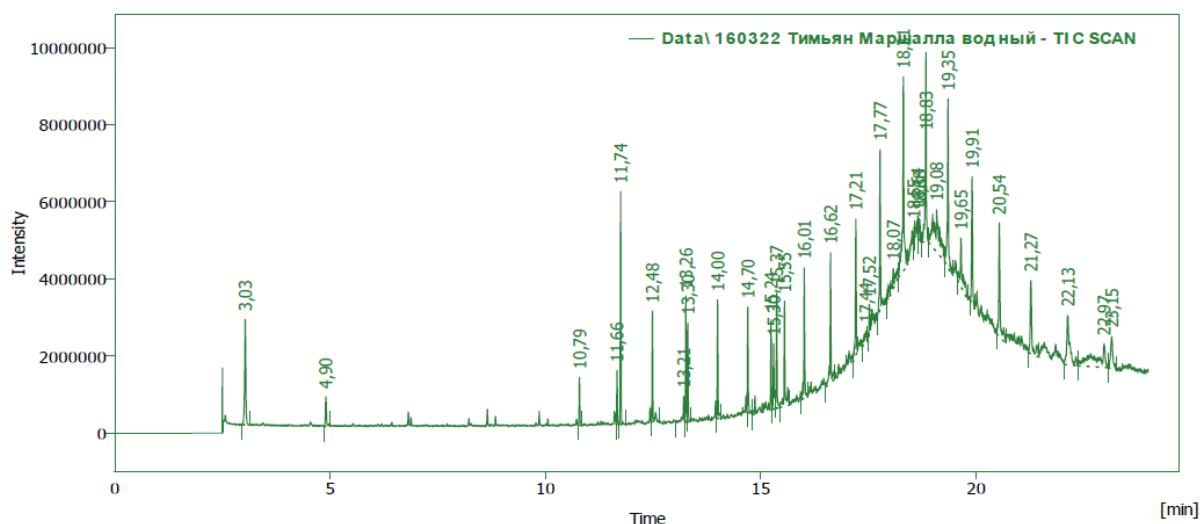


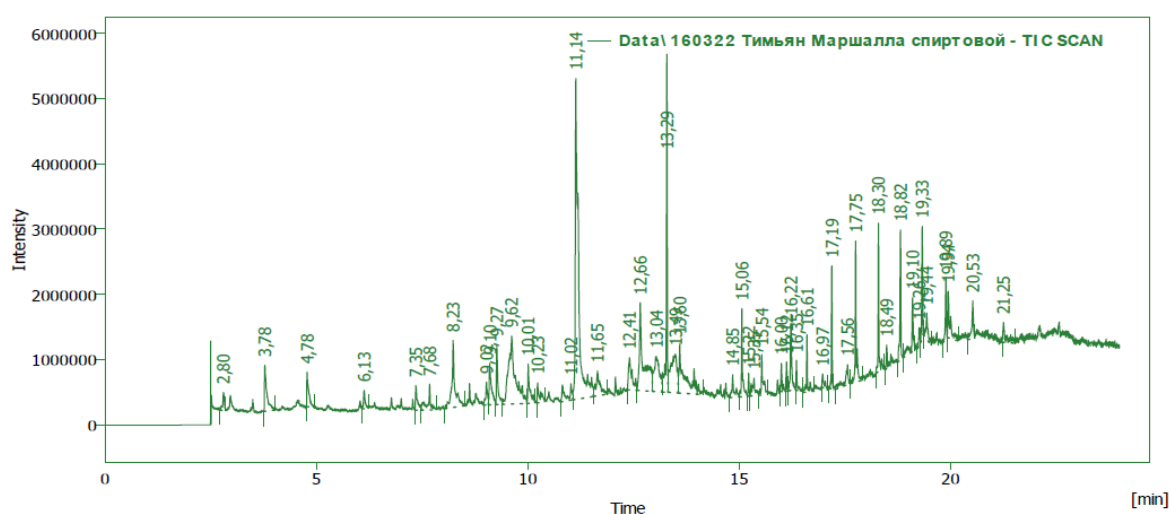
Рисунок 34 – Хроматограмма результатов ГЖХ-МС анализа водного извлечения *Th. marschallianus*

Таблица 13 – Компоненты спиртового извлечения *Th. marschallianus*, по результатам газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

Название вещества	Время удерживания [min]	Процентное содержание, %
Oxirane-2-carboxylic acid, 2-aminocarbonyl-3-methyl-3-(1-methylethyl)-, ethyl ester 2-аминокарбонил-3-метил-3-(1-метилэтил)-, этиловый эфир	2,799	1,03
Erythritol Эритритол	3,78	3,76
Dγ-lactone-Galactonic acid Dγ-лактон-Галактоновая кислота	4,78	2,39
2,6-diamino-4(1H)-Pyrimidinone 2,6-диамино-4(1H)-Пиримидинон	6,131	1,08
Undecane Ундекан	7,349	1,66
2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-Pyran-4-one 2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-6-метил-Н4-Пиран-4-он	8,231	6,98
3-amino-N-[4,5-dihydro-5-oxo-1-(2,4,6-trichlorophenyl)-1H-pyrazol-3-yl]-Benzamide 3-Амино-N-[4,5-дигидро-5-оксо-1-(2,4,6-трихлорфенил)-1H-пиразол-3-ил]бензамид	9,023	1,39
5-Hydroxymethylfurfural 5-Гидроксиметилфурфурол	9,102	3,27
1,2,3-Propanetriol, 1-acetate 1,2,3-пропантриол, 1-ацетат	9,267	3,12
Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)- Этанол, 1-(2-гидрокси-5-метилфенил)	10,008	2,57
4-Hydroxy-3-methylbenzaldehyde 4-Гидрокси-3-метилбензальдегид	11,137	35,79

Продолжение Таблицы 13

2-butyl-5-hexyloctahydro-1H-Indene 2-Бутил-5-гексилוקтагидро-1H-инден	13,291	11,03
4-O- β -D-galactopyranosyl- β -D-Glucopyranose 4-O- β -D-галактопиранозил β -D-глюкопираноза	13,495	8,55
n-Hexadecanoic acid n-Гексадекановая кислота	15,064	3,53
Cyclic octaatomic sulfur	16,121	0,86
Oleic Acid Олеиновая кислота	16,354	1,19
5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, methyl ester 5,8,11,14-Эйкозатетраеновая кислота, метилловый эфир	16,974	0,90
Oxiraneoctanoic acid, 3-octyl-, cis- метилловый эфир цис-9,10-эпоксистеариновой кислоты	18,49	0,66
Heptacosane Гептакозан	18,816	4,32
7,10,13-Eicosatrienoic acid, methyl ester Метилэйкоза-7,10,13-триеноат	19,257	0,60
4a,7a-Epoxy-5H- cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-4(1H)- one, 2,7,10,11-tetrakis(acetyloxy)decahydro-8,9- dihydroxy-1,1,3,6,9-pentamethyl- 4a,7a-Эпокси-5H- циклопента[a]циклопропа[f]циклоундецен- 2,4,7,10,11-пентол	19,945	3,42
3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)- Octadecane 3-Этил-5-(2-этилбутил)октадекан	21,253	1,92
	Итого	100,00

Рисунок 35 – Хроматограмма результатов ГЖХ-МС анализа спиртового извлечения *Th. marschallianus*

Компонентов ЭМ в обоих образцах не выявлено.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Разработан комплексный подход к идентификации травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*: методом люминесцентной микроскопии нами впервые описаны особенности строения и люминесценции листьев, цветков, стеблей *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, получены сравнительные данные о спектральных характеристиках и характеристиках зон адсорбции на хроматограммах для *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Специфическим желто-зеленым свечением для травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllu* обладают кутикулизованные структуры, проводящие элементы, замыкающие клетки устьиц, клеточные стенки и содержимое вместилищ от яркого желто-зеленого до коричневого цвета. Для травы *Th. marschallianus* впервые указаны дополнительные анатомо-диагностические признаки: для листа – головчатые волоски с овальной одноклеточной головкой на одноклеточной ножке, расположенные у основания листа; для венчика – булавовидные волоски, расположенные на эпидерме нижней губы венчика; также найдена пыльца шаровидной, имеющая 6 борозд. Спектры поглощения водно-спиртовых извлечений имеют два выраженных максимума, близких по значениям: для *Th. serpyllum* одинаковых по интенсивности, для *Th. marschallianus* – различающихся. Интенсивность дифференциальных спектров поглощения водно-спиртовых извлечений из травы *Th. marschallianus* выше, что свидетельствует о большем содержании флавоноидов в его экстрактах. Состав фенольных соединений в извлечениях из травы *Th. marschallianus* характеризуется большим разнообразием по сравнению с *Th. serpyllum*: на хроматограммах извлечений из травы *Th. marschallianus* различимы 11 зон адсорбции, из тимьяна *Th. serpyllum* – 8, с наличием зон желтого цвета на уровне адсорбции цинарозида, что свидетельствует о его присутствии в извлечениях *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*.

2. В ходе проведенного фитохимического анализа водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* были обнаружены дубильные вещества (гидролизуемые и преимущественно конденсированные), флавоноиды, полисахариды, тритерпеновые сапонины; в водном и спиртовом извлечениях *Th. serpyllum* выявлены кумарины, а в водном и спиртовом извлечениях *Th. marschallianus* кумарины не обнаружены.

3. Наибольшее содержание суммы флавоноидов выявлено в водных извлечениях *Th. marschallianus*, при этом в спиртовых извлечениях *Th. marschallianus* флавоноидов содержится наименьшее количество. Это свидетельствует о наличии в траве *Th. marschallianus* БАС фенольной природы, которые лучше извлекаются более полярным растворителем (водой), например, гликозидов, а в *Th. serpyllum* – менее полярным (спиртом), например, агликонов. При этом содержание дубильных веществ, определенное фармакопейным

перманганатометрическим методом, в извлечениях *Th. marschallianus*, как в спиртовых, так и в водных, меньше, чем в аналогичных извлечениях *Th. serpyllum*.

4. В водных и спиртовых извлечениях *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на основании сравнения с 9 СО фенольных соединений (апигенин, цинарозид, космосиин, лютеолин, скутелларин, скутеллареин, кофейная кислота, феруловая кислота, розмариновая кислота) идентифицировано 2 соединения – цинарозид и розмариновая кислота. При этом и в водных, и в спиртовых извлечениях *Th. marschallianus* содержание цинарозида и розмариновой кислоты больше, чем в аналогичных извлечениях *Th. serpyllum*.

5. Содержание ЭМ в траве *Th. marschallianus* превышало аналогичные показатели в траве *Th. serpyllum* в 3 раза. Методом ГЖХ-МС в ЭМ *Th. serpyllum* идентифицировано 66 веществ, а в ЭМ *Th. marschallianus* – 64, основную долю среди которых составляют ароматические соединения.

**ГЛАВА 4. СКРИНИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ *Th. marschallianus* И *Th.
SERPYLLUM***

4.1. Оценка безопасности извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Для оценки безопасности извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* был проведен эксперимент *in vivo* по изучению острой токсичности (Таблица 14).

Таблица 14 – Оценка безопасности извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в остром эксперименте

Номер экспериментальной группы животных	Извлечения, вводимые животным		Концентрация извлечения, вводимая животным	Токсичность
1	<i>Th. marschallianus</i>	водное	1000 мг/кг	«Относительно безвредно» (VI класс токсичности), т.к. LD ₅₀ >3000мг/кг [30].
2			3000 мг/кг	
3			5000 мг/кг	
4		спиртовое	1000 мг/кг	
5			3000 мг/кг	
6			5000 мг/кг	
7	<i>Th. serpyllum</i>	водное	1000 мг/кг	
8			3000 мг/кг	
9			5000 мг/кг	
10		спиртовое	1000 мг/кг	
11			3000 мг/кг	
12			5000 мг/кг	

Для оценки функционального состояния органов и систем при введении водных извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* были определены биохимические показатели крови экспериментальных животных. Нами отмечено отсутствие выраженных функциональных изменений со стороны печени, сердца и почек, что на биохимическом уровне подтверждает безопасность применения извлечений из данного вида растительного сырья (ПРИЛОЖЕНИЕ Б) [45, 129].

4.2. Исследования антимикробной активности извлечений и эфирных масел из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Антимикробную активность водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* и эфирных масел определяли в отношении стандартных и клинических штаммов

микроорганизмов. Клинические штаммы обладают более выраженной вирулентностью и резистентностью [2, 172], чем стандартные, что обуславливает актуальность проведенных экспериментов.

Извлечения

Водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в диапазоне исследуемых концентраций 3,1-50,0 мг/мл показали разную антимикробную активность в отношении взятых в эксперимент стандартных и клинических штаммов микроорганизмов (Таблица 15).

Таблица 15 – Антимикробная активность извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в отношении стандартных и клинических штаммов микроорганизмов (МИК, мг/мл)

Штаммы микроорганизмов		Извлечение	<i>Th. marschallianus</i>		<i>Th. serpyllum</i>	
			водный	спиртовой	водный	спиртовой
Стандартные штаммы		<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	12,5			
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50,0	25,0	25,0	12,5
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	12,5	12,5	12,5	25,0
Клинические штаммы		<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25	6,25-12,5	6,25	6,25-12,5
		<i>Escherichia coli</i>	не установлена	50,0	не установлена	25,0-50,0
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25,0	12,5	25,0	12,5
		<i>Candida albicans</i>	не установлена	50,0	не установлена	50,0

Все исследуемые извлечения показали активность в отношении *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Водные извлечения обоих видов сырья не показали активность в отношении клинических штаммов *E. coli* и *C. albicans* [8, 122, 131].

Эфирные масла

Воздействие ЭМ на микроорганизмы изучали диско-диффузионным методом в отношении стандартных и клинических штаммов бактерий *P. aeruginosa*, *E. coli* и клинических штаммов грибов *C. albicans*. Установлено, что при выбранном объеме ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* (10 мкл), наносимом на диск, ни один штамм не образовал газон на питательном агаре при наличии достаточного роста в контроле и агаре с антимикотическими препаратами (ПРИЛОЖЕНИЕ В, Рисунок В.1). С учетом химического состава ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* по преобладающему антимикробному компоненту (массовой доли тимола и его изомеров) методом микроразведений установлены МИК ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* для штаммов грибов, которые составили 18,75 и 42,87 мкг/мл соответственно. Все опытные

концентрации, задерживающие рост, были фунгицидными (ПРИЛОЖЕНИЕ В, Таблица В.4). МИК тимола для опытных штаммов составили 500-250 мкг/мл и носили фунгицидный характер [9, 123, 128, 137, 151].

Таким образом, диско-диффузионным методом установлено, что ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* оказывают антимикробное действие в отношении стандартных и клинических штаммов *P. aeruginosa* и *E. coli* и проявляют сильную антифунгальную активность в отношении *C. albicans*.

4.3. Определение антирадикальной активности извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

В состав биохимической системы защиты от свободных радикалов входят вещества, нейтрализующие их воздействие, которые составляют систему антиоксидантов. Среди природных антиоксидантов флавоноиды обладают самой высокой антирадикальной активностью с высокой скоростью обезвреживания свободных радикалов [117, 190]. Эффективность антиоксиданта в нейтрализации свободных радикалов характеризует антирадикальная активность.

Антирадикальную активность водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* определяли для серии разведений в диапазоне концентраций от 50000 до 3,05 мг/мл в отношении DPPH радикала, рассчитывая процент их ингибирования. Способность поглощать 50% исходного DPPH (IC_{50}) устанавливали с помощью графика (Рисунок 36).

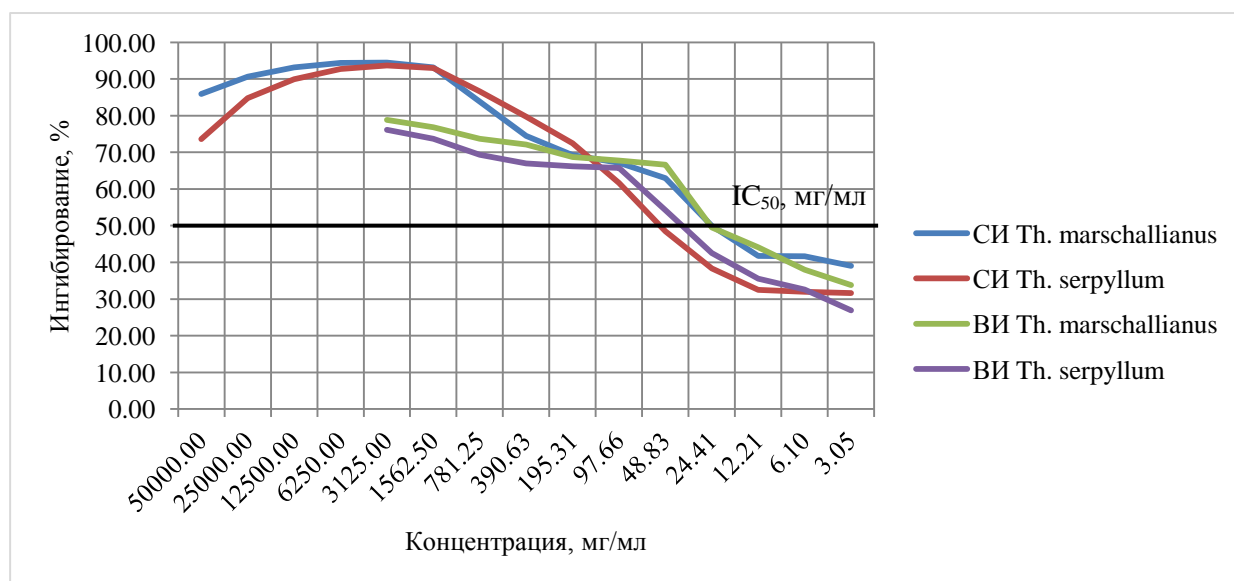


Рисунок 36 – Антирадикальная активность водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Показатели IC_{50} составили для спиртового извлечения *Th. marschallianus* $24,46 \pm 0,35$ мг/мл, водного извлечения *Th. marschallianus* $27,07 \pm 0,98$ мг/мл, спиртового извлечения *Th. serpyllum* $51,52 \pm 2,32$ мг/мл, водного извлечения *Th. serpyllum* $39,18 \pm 0,87$ мг/мл. Таким образом, извлечения *Th. marschallianus* обладают более выраженной антирадикальной способностью по сравнению с извлечениями *Th. serpyllum*, при этом водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* обладают схожей активностью, а водное извлечение *Th. serpyllum* было активнее спиртового.

4.4. Исследование противоопухолевой активности извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Влияние спиртового извлечения *Th. marschallianus* на культуру опухолевых клеток почки человека A498 и культуру фибробластов. Противоопухолевая активность извлечений *Th. serpyllum* в отношении клеточных линий ранее уже была показана в экспериментальных исследованиях [78, 142, 171], что делает актуальным проведение аналогичных экспериментов для извлечений *Th. marschallianus*.

Нами было проведено скрининговое исследование противоопухолевой активности спиртового извлечения *Th. marschallianus* в отношении культуры опухолевых клеток почки человека A498 и культуры фибробластов, в котором показана концентрационнозависимая противоопухолевая активность в отношении опухолевых клеток рака почки человека A498: цитостатическая активность проявляется при концентрациях спиртового извлечения *Th. marschallianus* от 0,1 мг/мл; цитотоксическая – от 0,8 мг/мл, а апоптотическая активность наиболее выражена, наоборот, при более низких концентрациях от 0,01 до 0,5 мг/мл. По сравнению с цитостатиком спиртовое извлечение *Th. marschallianus* не обладает выраженным повреждающим действием на неопухолевые клетки – фибробласты (ПРИЛОЖЕНИЕ Г).

Влияние извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на альвеолярный рак печени РС-1 *in vivo*. Морфологический анализ ткани опухоли показал противоопухолевую активность как спиртового, так и водного извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, о чем свидетельствуют снижение количества сохранных опухолевых клеток в поле зрения, выраженные некробиотические и атрофические изменения клеток опухоли, отсутствие митозов, разрастание соединительнотканых волокон [58]. Следует отметить, что водные извлечения как *Th. marschallianus*, так и *Th. serpyllum* проявили более сильную противоопухолевую активность, что подтверждается меньшим количеством сохранных опухолевых клеток в поле зрения в 8 раз по сравнению с контролем. При этом водное извлечение *Th. marschallianus* проявило наиболее выраженную активность, т.к. только при его введении выявлены морфологические признаки

апоптоза: появление апоптотических телец, kariопикноз и конденсация ядерного хроматина в опухолевых клетках (ПРИЛОЖЕНИЕ Д) [125, 132].

4.5. Изучение влияния извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на поведенческие реакции лабораторных животных

Исследования воздействия на когнитивные функции и изучение антидепрессивной активности извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* ранее не проводились. Полученные результаты исследования, в которых показана анксиолитическая активность лиофилизированного экстракта из надземной части *Th. marschallianus* [208], а также антидепрессивная активность *Th. kotschyanus* Boiss. et Hohen. и *Th. pubescens* Boiss. [167, 185], позволили предположить вероятную активность в аналогичных экспериментах по воздействию извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*.

Антидепрессивную активность оценивали с помощью установок «подвешивание за хвост» и «поведение отчаяния» по Porsolt.

В тесте «подвешивание за хвост» в течение 21-х суток эксперимента у животных, получавших и спиртовое, и водное извлечения *Th. marschallianus* (100 мг/кг) значения времени суммарного сохранения активности были всегда больше, а периода иммобилизации меньше, чем в негативном контроле, и занимали промежуточное положение между данными группой негативного и позитивного контроля. У извлечений *Th. serpyllum* (как спиртовых, так и водных 100 мг/кг) такой зависимости не выявлено (на протяжении всего эксперимента, результаты животных этой группы были аналогичны негативному контролю) [105].

В тесте «поведение отчаяния» по Porsolt на 15-е и 21-е сутки исследования время иммобилизации в опытных группах было статистически значимо выше по сравнению с группой животных, получавших амитриптилин (доза 10 мг/кг). В динамике следует отметить тенденцию к снижению времени активного плавания у мышей, получавших извлечения *Th. serpyllum* (водное и спиртовое) и наоборот, увеличение этого показателя у животных в группах, получавших извлечения *Th. marschallianus*. В целом водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в дозе 100 мг/кг в эксперименте не показали значимого увеличения времени активного плавания и снижения иммобилизации на протяжении 21-х суток эксперимента по сравнению с группой контрольных мышей [136].

Анксиолитическая активность не выявлена, т.к. в исследовании с использованием установок «крестообразный лабиринт» и «темно-светлая камера» в течение 21-х суток эксперимента не выявлено статистически значимых отличий по всем исследуемым показателям, как между группами мышей, получавших водные и спиртовые извлечения *Th.*

marschallianus и *Th. serpyllum* (100 мг/кг), так и при их сравнении с контрольной группой, получавшей воду. [130].

В ходе проведенного исследования изучения **влияния на когнитивные функции лабораторных животных** введение водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в дозе 100 мг/кг не показало статистически значимых различий по сравнению с контролем, что свидетельствует об отсутствии их влияния на кратковременную и долговременную память у животных (ПРИЛОЖЕНИЕ Е) [106, 124].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. В эксперименте определения острой токсичности введение водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* в дозах 1000, 3000 и 5000 мг/кг, а также водных и спиртовых извлечений *Th. serpyllum* в дозах 1000 и 3000 мг/кг не вызывало гибели животных; в группах мышей, получавших водные и спиртовые извлечения *Th. serpyllum* в дозе 5000 мг/кг, зафиксирована гибель по одному животному из группы. По классификации К.К. Сидорова все извлечения относятся к группе «Относительно безвредно» (VI класс токсичности). При оценке биохимических показателей крови крыс после введения водных извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* показано отсутствие выраженных функциональных изменений со стороны печени, сердца и почек, что на биохимическом уровне подтверждает безопасность применения извлечений из данного вида растительного сырья.

2. Водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* обладают антибактериальной активностью в отношении как грамположительных (*S. aureus*), так и грамотрицательных (*E. coli* и *P. aeruginosa*) бактерий стандартных и клинических штаммов. В отношении *S. aureus* МИК установлены в диапазоне 6,25-12,5 мг/мл, *P. aeruginosa* МИК 12,5-25,0 мг/мл, *E. coli* МИК 12,5-50,0 мг/мл. Более выраженный эффект отмечался в отношении грамположительных микроорганизмов. В отношении клинических штаммов *C. albicans* водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* не показали антимикотической активности.

ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* показали антимикробную активность в отношении стандартных и клинических штаммов *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa*, которые не уступают тимолу. ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* обладают высокой антимикотической активностью в отношении грибов *C. albicans* в отличие от водных и спиртовых извлечений. ЭМ *Th. marschallianus* показало более сильную антифунгальную активность в отношении *C. albicans*, чем *Th. serpyllum* (МИК ЭМ *Th. marschallianus* 18,75 мкл/мл; МИК ЭМ *Th. serpyllum* 42,87 мкл/мл). МИК тимол для опытных штаммов составили 500-250 мкг/мл.

3. Извлечения *Th. marschallianus* обладают более выраженной антирадикальной способностью в отношении DPPH радикала по сравнению с извлечениями *Th. serpyllum*, при этом водное извлечение (27,07 мг/мл) и спиртовое извлечение (24,46 мг/мл) *Th. marschallianus* обладают схожей активностью, а водное извлечение *Th. serpyllum* (39,18) было активнее спиртового (51,52 мг/мл).

4. Спиртовое извлечение *Th. marschallianus* обладает концентрационнозависимой противоопухолевой активностью в отношении опухолевых клеток рака почки человека A498: цитостатическая активность проявляется при концентрациях извлечения спиртового извлечения

Th. marschallianus от 0,1 мг/мл; цитотоксическая – от 0,8 мг/мл, а апоптотическая активность наиболее выражена, наоборот, при более низких концентрациях от 0,01 до 0,5 мг/мл. По сравнению с цитостатиком спиртовое извлечение *Th. marschallianus* не обладает выраженным повреждающим действием на неопухолевые клетки – фибробласты.

5. Выявлено, что рост опухолей под влиянием как спиртового, так и водного извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, сопоставим с измерениями в контрольной группе, при этом во всех опытных группах крыс, получавших извлечения, наряду с некротическими изменениями отмечали разрастание волокон соединительной ткани. Установлено, что водные извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* проявили более выраженную противоопухолевую активность, чем спиртовые. Водное извлечение *Th. marschallianus* проявило более выраженную противоопухолевую активность, чем водное извлечение *Th. serpyllum* т.к. при его введении выявлены морфологические признаки апоптоза клеток опухоли: появление апоптотических телец, кариопикноз и конденсация ядерного хроматина в опухолевых клетках.

6. Скрининговое исследование водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* при концентрации 100 мг/кг с помощью психофармакологических тестов «подвешивание за хвост», «поведение отчаяния» по Porsolt, «приподнятый крестообразный лабиринт», «темно-светлая камера», «радиальный лабиринт» показало отсутствие влияния извлечений на ориентировочно-исследовательское поведение, двигательную активность, тревожность, депрессию, способность к обучению и пространственную память лабораторных животных, что свидетельствует об отсутствии у изучаемых извлечений антидепрессивной, анксиолитической активностей и воздействия на когнитивные функции животных.

ГЛАВА 5. РЕСУРСОВЕДЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА СЫРЬЕВЫХ ЗАПАСОВ *Th. marschallianus* В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

На территории нашей страны произрастают около 80 видов растений этого рода [60]. Большинство тимьянов растут в предгорьях и горах Кавказа [5, 37, 61, 69]. В Государственную фармакопею (ГФ) Российской Федерации из рода *Thymus* включены только тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) и тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.). При этом в Саратовской области *Th. serpyllum* ресурсного значения не имеет, т.к. найден в регионе как заносный редкий вид [96], а *Th. vulgaris* в дикой природе в России не произрастает [37]. По данным А.В. Панина (2009) на территории Саратовской области встречается 6 видов этого рода – тимьян Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.), тимьян Палласа (*Thymus pallasianus* Н. Вр.), тимьян киргизский (*Thymus kirgisorum* Dubjan.), тимьян клоповый (*Thymus cimicinus* Blumex. Ledeb.), тимьян губерлинский (*Thymus guberlinensis* Пjin), тимьян степной (*Thymus stepposus* Klok. et Shost.) [79], два из которых (*Th. cimicinus* и *Th. guberlinensis*) занесены в Красную книгу Саратовской области (2021) [53]. В монографии А.П. Забалуева «Ресурсы лекарственных растений Саратовской области» (2000) имеются сведения о произрастании *Th. serpyllum* и *Th. vulgaris* на данной территории [39], но согласно данным А.Г. Еленевского, приведенным в «Конспекте флоры Саратовской области» (2008), указание на произрастание этих видов на данной территории является ошибочными [38]. На территории Саратовской области из рода *Thymus* широко распространен *Th. marschallianus*, ресурсы которого в регионе не изучены.

Ресурсоведческое исследование *Th. marschallianus* проводили в течение летнего сезона 2023 г. Было совершено 16 выездов с целью выявления мест наибольшего произрастания. В ходе полевых выездов из 37 районов Саратовской области было исследовано 23 района, из которых в 14 выявлено обильное произрастание *Th. marschallianus*. Обилие вида оценивали согласно шкале Друдэ [17] (Таблица 16).

Таблица 16 – Шкала определения обилия видов растений в биогеоценозах (по О. Друдэ)

Обозначение обилия по О. Друдэ	Характеристика обилия	
Unicum (Un.)	В одном экземпляре	Растение встречается только в одном экземпляре на пробной площадке
Solitariae (Sol.)	Единично	Единичные растения
Sparsae (Sp.)	Рассеянно	Растение встречается в небольшом количестве – до 1/20 площадки
Copiosae 1 (Cop. 1)	Довольно обильно	Растений довольно много, покрывают надземными частями от 1/20 до 1/4 площадки
Copiosae 2 (Cop. 2)	Обильно	Встречаются обильно, покрывая от 1/4 до 1/2 площадки

Продолжение Таблицы 16

Copiosae 3 (Cop. 3)	Очень обильно	Встречается очень обильно, но нет сплошного смыкания надземных частей. Они покрывают от 1/2 до 3/4 площадки.
Socials (Soc.)	Сплошь	Растение встречается в столь большом количестве, что почти покрывает учетную площадку своими надземными частями.

Регулярные экспедиционные выезды осуществляли в период цветения *Th. marschallianus* в Саратовской области, перечисленные в таблице 17.

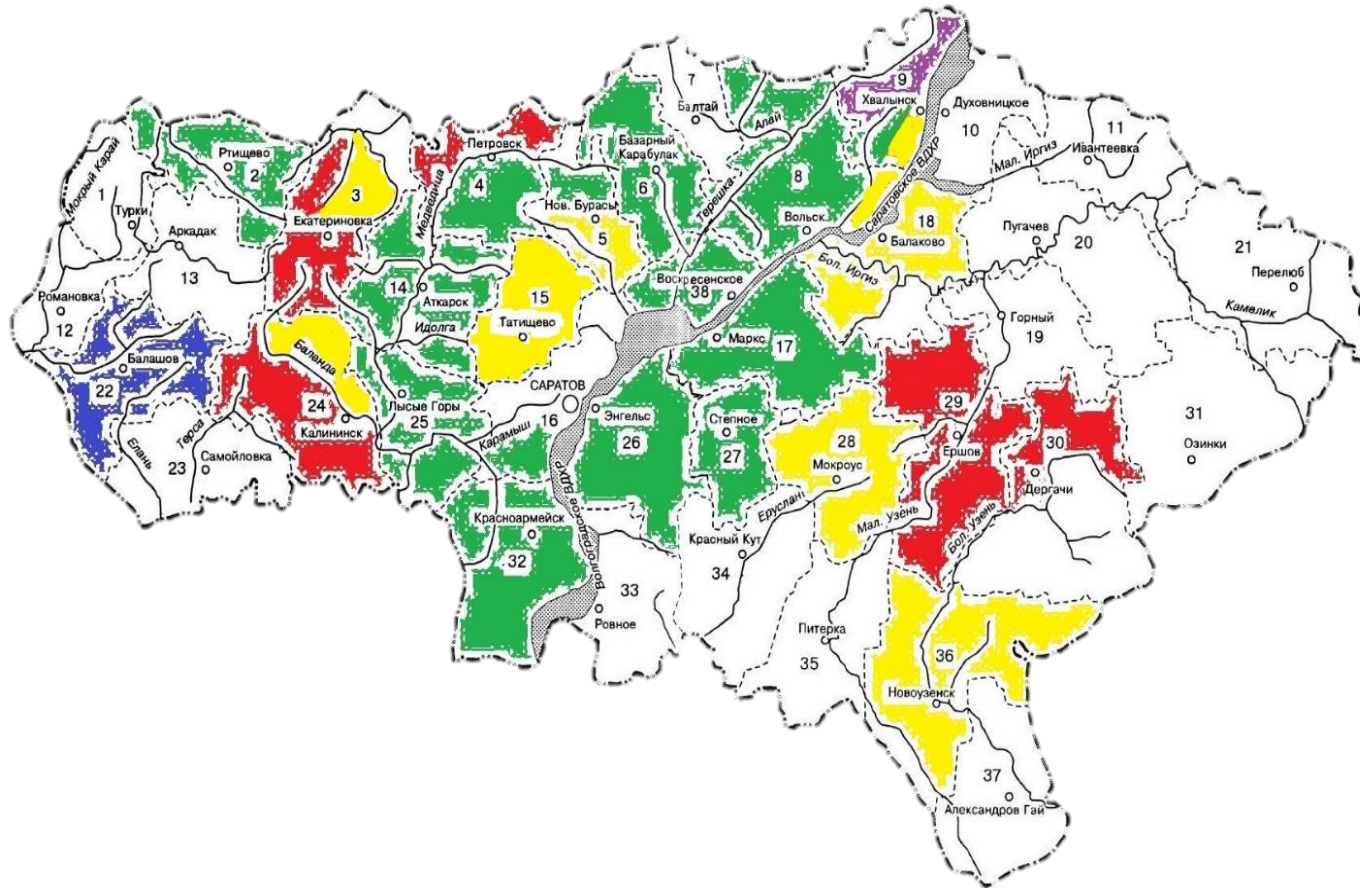
Таблица 17 – Районы полевых выездов в Саратовской области и обилие *Th. marschallianus*

Дата	Район полевых выездов	Обилие <i>Th. marschallianus</i>
03.06.2023	Советский район, окрестности села Золотая степь, балка Нахой	Довольно обильно
03.06.2023	Федоровский район, окрестности поселка Мокроус	Единично
04.06.2023	Ершовский район, окрестности села Моховое, река Моховая	Отсутствует
	Ершовский район	Отсутствует
04.06.2023	Дергачевский район, окрестности посёлка Славин	Отсутствует
	Дергачевский район, окрестности посёлка Славин	Отсутствует
	Дергачевский район, окрестности посёлка Дергачи, посёлок Новорасляевка	Отсутствует
04.06.2023	Новоузенский район, город Новоузенск	Единично
06.06.2023	Марковский район, окрестности села Георгиевка.	Довольно обильно
06.06.2023	Балаковский район, окрестности села Пылковка.	Отсутствует
	Балаковский район, окрестности села Еланка	Единично
08.06.2023	Энгельсский район, окрестности села Красноармейское	Довольно обильно
10.06.2023	Лысогорский район, окрестности села Урицкое	Довольно обильно, единично <i>Th. pallasianus</i>
11.06.2023	Балашовский район, окрестности села Тростянка	Отсутствует, единично <i>Th. pallasianus</i>
	Балашовский район, восточная окраина села Алмазово	Отсутствует, единично <i>Th. pallasianus</i>
11.06.2023	Калининский район, окрестности села Казачка.	Отсутствует
	Калининский район, окрестности села Варварина чайка	Единично
11.06.2023	Татищевский район, окрестности села Сторожевка.	Единично
13.06.2023	Аткарский район, окрестности села Барановка.	Довольно обильно
15.06.2023	Ртищевский район, окрестности села Змеевка.	Довольно обильно

Продолжение Таблицы 17

15.06.2023	Екатериновский район, окрестности села Корсакова поляна.	Отсутствует
	Екатериновский район, окрестности села Бутурлиновка.	Отсутствует
	Екатериновский район, окрестности села Андреевка.	Единично
17.06.2023	Городской округ Саратов, окрестности поселка Красный текстильщик.	Довольно обильно
18.06.2023	Красноармейский район, окрестности поселка Гусево	Довольно обильно
20.06.2023	Базарно-Карбулакский район, окрестности села Казанла.	Довольно обильно
22.06.2023	Новобурасский район, окрестности села Борисовка.	Единично
	Новобурасский район, окрестности села Старые Бурасы.	Довольно обильно
24.06.2023	Петровский район, окрестности села Тарумовка.	Отсутствует
	Петровский район, окрестности села Озерки.	Довольно обильно
25.06.2023	Воскресенский район, окрестности села Елшанка и села Андреевка.	Довольно обильно
28.06.2023	Вольский район, окрестности посёлка Шиханы.	Довольно обильно
02.07.2023	Хвалынский район, окрестности села Алексеевка.	Единично
	Хвалынский район, окрестности села Селитьба.	Довольно обильно
	Хвалынский район, окрестности села Сосновая Маза	Отсутствует, единично тимьян клоповый

Районы полевых выездов были визуализированы на карте Саратовской области с указанием обилия *Th. marschallianus* (Рисунок 37).



■ – районы, в которых найдено обильное произрастание *Th. marschallianus*;

■ – районы, в которых найдены единичные особи *Th. marschallianus*;

■ – районы, в которых не найден *Th. marschallianus*;

■ – районы, в которых не найден *Th. marschallianus*, найден *Th. pallasianus*;

■ – районы, в которых найдены *Th. marschallianus* и *Th. cimicinus*.

Рисунок 37 – Места полевых исследований *Th. marschallianus* в Саратовской области

Маршруты полевых выездов с целью выявления запасов сырья *Th. marschallianus* были проложены в разных направлениях от Саратова. В районах, которые по шкале О. Друдэ были охарактеризованы довольно обильным произрастанием *Th. marschallianus*, проводили оценку запаса сырья (Таблица 18 – Таблица 31).

Восточное направление.

1. Советский район – окрестности села Золотая степь, балка Нахой.

Координаты: 51,28358 с.ш., 46,86185 в.д. (Точка 1).

Растительное сообщество: слабоантропогенно нарушенная типчаково-полынная степь (полынь австрийская (*Artemisia austriaca* Jacq.), полынь Лерха (*Artemisia lerchiana* Web. ex Stehm.). Учетные площадки заложены с двух сторон реки Нахой:

- 1) житняково-типчаковая степь на склоне юго-западной экспозиция;
- 2) разнотравная степь, северо-восточная ассоциация.

Таблица 18 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Советского района

Площадь заросли, м ²	90 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	18,7±0,8
«цена» 1% проективного покрытия, г	5,4±0,3
Урожайность, г/м ²	100,9±6,6
Эксплуатационный запас, т	7,89
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	1,58
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,39

2. Федоровский район – окрестности села Золотая степь.

Координаты: 51,1759 с.ш., 47,4027 в.д. (Точка 2).

Растительное сообщество: типчаково-ковыльная ассоциация (ковыль Лессинга (*Stipa lessingiana* Trin. ex Rupr.), склон восточный экспозиции.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

3. Ершовский район – окрестности села Моховое, река Моховая.

Координаты: 51,2156 с.ш., 48,3053 в.д. (Точка 3)

Растительное сообщество: нарушенная разнотравная типчаково-ковыльная степь с набором видов характерных для сообщества *Th. marschallianus*.

Th. marschallianus не найден, не смотря на соответствие биотопа местам его обитания.

Координаты: 51,1458 с.ш., 48.131813 в.д. (Точка 4).

Растительное сообщество: житняково-ковыльная степь на плакоре.

Th. marschallianus не найден.

4. Новоузенский район – окрестности города Новоузенск.

Координаты: 50,2730 с.ш. 48,0704 в.д. (Точка 5).

Растительное сообщество: разнотравно-полынная степь на плакоре.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

5. Дергачевский район – окрестности поселка Славин.

Координаты: 51,1029 с.ш., 49,0808 в.д. (Точка 6).

Растительное сообщество: мортунково-ковыльно-полынная степь на плакоре.

Th. marschallianus не найден.

Координаты: 51,0826 с.ш., 49,11,6 в.д. (Точка 7).

Растительное сообщество: мятликово-полынная степь (мятлик луковичный (*Poa bulbosa* L.), полынь австрийская, полынь Лерха (*Artemisia lerchiana* Web. ex Stehm.).

Th. marschallianus не найден, т.к. такие опустыненные степи не характерны для мест его произрастания.

Дергачевский район – окрестности поселка Новорасляевка.

Координаты: 51,1611 с.ш., 48,5519 в.д. (Точка 8).

Растительное сообщество: житняково-типчаково-ковыльная степь на плакоре.

Th. marschallianus не найден.

В результате поездки выявлена тенденция уменьшения численности особей *Th. marschallianus* в популяции при движении на восток до его полного отсутствия в восточных районах Саратовского Заволжья. Наибольший объём ежегодных заготовок возможен в Советском районе.

Северо-восточное направлении Саратовской области по левому берегу реки Волга.

6. Марковский район – окрестности села Георгиевка.

Координаты: 51,91437 с.ш., 47,29359 в.д. (Точка 9).

Растительное сообщество: разнотравная степь на склоне северной и западной экспозиции.

Таблица 19 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Марковского района

Площадь заросли, м ²	35 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	16,7±0,8
«цена» 1% проективного покрытия, г	5,3±0,4
Урожайность, г/м ²	88,4±6,4
Эксплуатационный запас, т	2,65

Продолжение Таблицы 19

Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,53
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,132

7. Балаковский район – окрестности села Пылковка.

Координаты: 51,82531 с.ш., 47,846976 в.д. (Точка 10).

Растительное сообщество: типчаково-полынная степь на плакоре.

Th. marschallianus не найден.

Балаковский район – окрестности села Еланка.

Координаты: 51,934511 с.ш., 47,473546 в.д. (Точка 11).

Растительное сообщество: разнотравная степь на склоне западной экспозиции.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

8. Энгельский район – окрестности села Красноармейское.

Координаты: 51,20963 с.ш., 45,92073 в.д. (Точка 12).

Растительное сообщество: тимьяно-кастровая (кастер волжский (*Bromus wolgensis* Fisch. ex J. Jacq.)), тимьяно-типчаковая, разнотравная степь на склоне западной экспозиции.

Таблица 20 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Энгельского района

Площадь заросли, м ²	4 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	22,6±0,9
«цена» 1% проективного покрытия, г	5,4±0,3
Урожайность, г/м ²	122,0±8,0
Эксплуатационный запас, т	0,42
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,084
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,021

При движении с юго-запада на северо-восток выявлена тенденция уменьшения обилия *Th. marschallianus* в приволжских районах Саратовской области. Наибольший объем ежегодных заготовок возможен в Марксовском районе.

Западное направление.

9. Лысогорский район – окрестности села Урицкое.

Координаты: 51,430219 с.ш., 44,933576 в.д. (Точка 13).

Растительное сообщество: типчаково-мятликовая ассоциация на склоне юго-западной экспозиции.

Найдены заросли *Th. marschallianus* с обильным произрастанием особей. На данной территории также найдены особи *Th. pallasianus*.

Таблица 21 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Лысогорского района

Площадь заросли, м ²	37 500
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	24,3±0,9
«цена» 1% проективного покрытия, г	4,1±0,3
Урожайность, г/м ²	100,6±7,7
Эксплуатационный запас, т	3,2
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,64
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,16

10. Балашовский район – окрестности села Тростянка.

Координаты: 51,514414 с.ш., 43,075574 в.д. (Точка 14).

Растительное сообщество: песчаная степь на склоне западной экспозиции.

Th. marschallianus не найден, но на данной территории произрастают единичные особи *Th. pallasianus*.

Балашовский район – восточная окраина села Алмазово.

Координаты: 51,557759 с.ш., 42,926059 в.д. (Точка 15).

Растительное сообщество: песчаная степь в понижении, сообщество псаммофитных растений.

Th. marschallianus не найден, но на данной территории произрастают единичные особи *Th. pallasianus*.

11. Калининский район – окрестности села Казачка.

Координаты: 51,44973 с.ш., 43,84226 в.д. (Точка 16).

Растительное сообщество: разнотравная типчаковая степь на плакоре.

Th. marschallianus не найден, не смотря на характерный для вида биотоп.

Калининский район – окрестности села Варварина чайка.

Координаты: 51,4631 с.ш., 44,66182 в.д. (Точка 17).

Растительное сообщество: типчаково-грудницева степь на восточной экспозиции.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

При движении на запад Саратовской области популяция *Th. marschallianus* значительно уменьшается, но были найдены особи *Th. pallasianus*. Наибольший объем ежегодных заготовок возможен в Лысогорском районе.

Северо-западное направление.

12. Татищевский район – окрестности села Сторожевка.

Координаты: 51,65455 с.ш., 45,8007 в.д. (Точка 18).

Растительное сообщество: типчаково-ковыльная ассоциация на склоне северо-восточной экспозиции.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

13. Аткарский район – окрестности села Барановка.

Координаты: 51,899642 с.ш., 45,055731 в.д. (Точка 19).

Растительное сообщество: разнотравно-ковыльная степь на плакоре.

Таблица 22 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Аткарского района

Площадь заросли, м ²	3 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	25,1±1,7
«цена» 1% проективного покрытия, г	4,6±0,3
Урожайность, г/м ²	115,6±1,6
Эксплуатационный запас, т	0,27
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,055
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,013

14. Ртищевский район – окрестности села Змеевка.

Координаты: 52,118856 с.ш., 43,924249 в.д. (Точка 20).

Растительное сообщество: разнотравная степь на плакоре.

Таблица 23 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Ртищевского района

Площадь заросли, м ²	1 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	24,1±1,3
«цена» 1% проективного покрытия, г	4,3±0,4
Урожайность, г/м ²	103,2±11,5
Эксплуатационный запас, т	0,081
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,016

Продолжение Таблицы 23

Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,004
--	-------

15. Екатериновский район – окрестности села Корсакова поляна.

Координаты: 52,2256 с.ш., 44,3758 в.д. (Точка 21).

Растительное сообщество: разнотравная степь на плакоре.

Th. marschallianus не найден.

Екатериновский район – окрестности села Бутурлиновка.

Координаты: 52,2140 с.ш., 44,3315 в.д. (Точка 22).

Растительное сообщество: разнотравно-типчаковая степь на плакоре.

Th. marschallianus не найден.

Екатериновский район – окрестности села Андреевка.

Координаты: 52,1742 с.ш., 44,3536 в.д. (Точка 23).

Растительное сообщество: разнотравная степь на плакоре.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

При движении на север Саратовской области популяция *Th. marschallianus* значительно уменьшается. Наибольший объем ежегодных заготовок возможен в Аткарском районе.

Южное направление.

16. Городской округ Саратов – окрестности поселка Красный текстильщик.

Координаты: 51,360025 с.ш., 45,834096 в.д. (Точка 24).

Растительное сообщество: разнотравно-типчаковая степь на плакоре.

Таблица 24 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории городского округа Саратов

Площадь заросли, м ²	240 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	26,1±1,1
«цена» 1% проективного покрытия, г	4,5±0,4
Урожайность, г/м ²	116,6±11,4
Эксплуатационный запас, т	22,51
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	4,5
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	1,19

17. Красноармейский район – окрестности поселка Гусево.

Координаты: 50,4813 с.ш., 45,4146 в.д. (Точка 25).

Растительное сообщество: разнотравно-типчачковая степь на склоне восточной экспозиции.

Таблица 25 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Красноармейского района

Площадь заросли, м ²	80 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	19,9±0,8
«цена» 1% проективного покрытия, г	4,7±0,4
Урожайность, г/м ²	93,4±9,4
Эксплуатационный запас, т	5,97
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	1,2
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,03

На южной территории Саратовской области обнаружена обильная популяция *Th. marschallianus*. Наибольший объем ежегодных заготовок возможен в городском округе Саратов (окрестности поселка Красный текстильщик).

Северное направление.

18. Базарно-Карабулакский район – окрестности села Казанла.

Координаты: 52,174 с.ш., 46,3833 в.д. (Точка 26).

Растительное сообщество: разнотравно-типчачково-мятликовая степь на склоне южной экспозиции.

Таблица 26 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Базарно-Карабулакского района

Площадь заросли, м ²	40 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	21,4 ±1,1
«цена» 1% проективного покрытия, г	5,4 ±0,2
Урожайность, г/м ²	115,4 ±7,4
Эксплуатационный запас, т	4,021
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,8
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,2

19. Новобураский район – окрестности села Борисовка.

Координаты: 52,1530 с.ш., 46,0938 в.д. (Точка 27).

Растительное сообщество: типчачково-мятликовая степь на плакоре.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

Новобурасский район – окрестности села Старые Бурассы.

Координаты: 52,1545 с.ш., 46,0643 в.д. (Точка 28).

Растительное сообщество: разнотравно-типчаковая степь на склоне южной экспозиции.

Таблица 27 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Новобурасского района

Площадь заросли, м ²	60 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	13,2±1,0
«цена» 1% проективного покрытия, г	3,3± 0,2
Урожайность, г/м ²	43,5±4,5
Эксплуатационный запас, т	2,1
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,41
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,10

20. Петровский район – окрестности села Тарумовка.

Координаты: 52,1036 с.ш., 45,2216 в.д. (Точка 29).

Растительное сообщество: типчаково-мятликовая степь на плакоре.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

Петровский район – окрестности села Озерки.

Координаты: 52,0100 с.ш. 45,2920 в.д. (Точка 30).

Растительное сообщество: разнотравно-типчаковая степь на плакоре.

Таблица 28 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Петровского района

Площадь заросли, м ²	30 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	13,7±0,6
«цена» 1% проективного покрытия, г	5,0±0,3
Урожайность, г/м ²	68,2±4,9
Эксплуатационный запас, т	1,75
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,35
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,08

При движении в северном направлении Саратовской области популяция *Th. marschallianus* незначительно уменьшается. Наибольший объем ежегодных заготовок возможен в Базарно-Карабулакском районе.

Северо-восточное направление.

21. Воскресенский район – окрестности села Елшанка и села Андреевка.

Координаты: 51,85527 с.ш., 46,42017 в.д. (Точка 31).

Растительное сообщество: разнотравно-типчаковая, мятликовая степь на склоне юго-западной экспозиции.

Таблица 29 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Воскресенского района

Площадь заросли, м ²	30 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	19,7±0,8
«цена» 1% проективного покрытия, г	4,3±0,2
Урожайность, г/м ²	85,8±5,2
Эксплуатационный запас, т	22,6
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	4,5
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	1,1

22. Вольский район – окрестности посёлка Шиханы.

Координаты: 52,0821 с.ш., 47,1307 в.д. (Точка 32).

Растительное сообщество: мятливо-разнотравная степь на склоне северной экспозиции.

Таблица 30 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Вольского района

Площадь заросли, м ²	55 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	20,1±1,8
«цена» 1% проективного покрытия, г	2,0±0,1
Урожайность, г/м ²	40,8±4,3
Эксплуатационный запас, т	1,76
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,35
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,08

23. Хвалынский район – окрестности села Алексеевка.

Координаты: 52,30743 с.ш., 47,96184 в.д. (Точка 33).

Растительное сообщество: разнотравная степь на карбонатной почве на склоне южной экспозиции.

Найдены единичные особи *Th. marschallianus*. На данной территории заросль не перспективна для организации заготовок сырья.

Хвалынский район – окрестности села Селитьба.

Координаты: 52,3392 с.ш., 47,88586 в.д. (Точка 34).

Таблица 31 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Хвалынского района

Площадь заросли, м ²	10 000
Количество учетных площадок	15
% проективного покрытия в 1 м ²	17,5±0,9
«цена» 1% проективного покрытия, г	4,4±0,2
Урожайность, г/м ²	78,0±4,9
Эксплуатационный запас, т	0,618
Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	0,14
Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т	0,034

Хвалынский район – окрестности села Сосновая Маза.

Координаты: 52, 47994 с.ш., 47,91126 в.д. (Точка 35).

Растительное сообщество: крутой склон южной экспозиции.

Th. marschallianus не найден, но на данной территории обнаружены обильные заросли тимьяна клопового, который занесен в Красную книгу РФ [51, 141].

При движении в северо-восточном направлении Саратовской области популяция *Th. marschallianus* уменьшается. Наибольший объем ежегодных заготовок возможен в Воскресенском районе.

Таблица 32 – Характеристика запаса сырья *Th. marschallianus*, выявленного на территории Саратовской области

Район	Площадь заросли, м ²	Урожайность, г/м ²	Эксплуатационный запас, т	Объем возможной ежегодной заготовки (свежесобранного сырья), т	Объем возможной ежегодной заготовки (воздушно-сухого сырья), т
Советский (Точка 1)	90 000	100,9±6,6	7,89	1,58	0,39
Марксовский (Точка 9)	35 000	88,4±6,4	2,65	0,53	0,132
Энгельский (Точка 12)	4 000	122,0±8,0	0,42	0,084	0,021
Лысогорский (Точка 13)	37 500	100,6 ±7,7	3,2	0,64	0,16
Аткарский (Точка 19)	3 000	115,6±1,6	0,27	0,055	0,013
Ртищевский (Точка 20)	1 000	103,2±11,5	0,081	0,016	0,004
Городской округ Саратов (Точка 24)	240 000	116,6±11,4	22,51	4,5	1,19
Красноармейски (Точка 25)	80 000	93,4±9,4	5,97	1,2	0,03
Базарно-Карабулакский (Точка 26)	40 000	115,4±7,4	4,021	0,8	0,2
Новобурасский (Точка 28)	60 000	43,5±4,5	2,1	0,41	0,10
Петровский (Точка 30)	30 000	68,2±4,9	1,75	0,35	0,08
Воскресенский (Точка 31)	30 000	85,8±5,2	22,6	4,5	1,1
Вольский (Точка 32)	55 000	40,8±4,3	1,76	0,35	0,08
Хвалынский (Точка 34)	10 000	78,0±4,9	0,618	0,14	0,034

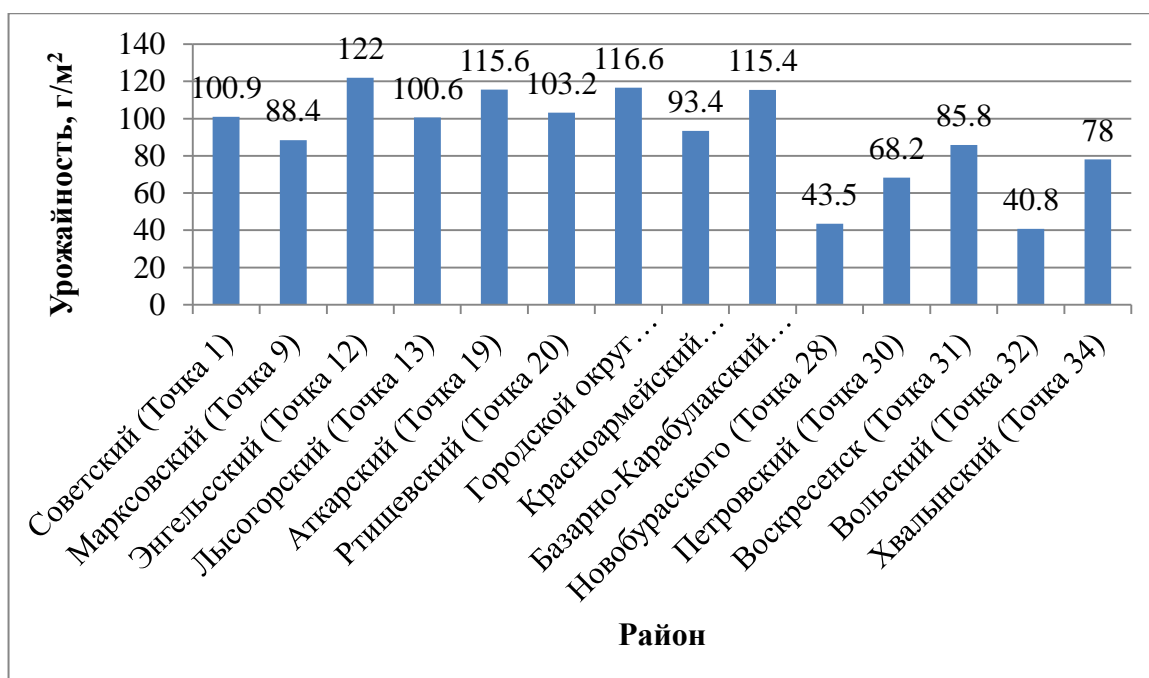


Рисунок 38 – Урожайность *Th. marschallianus* на территории районов Саратовской области, в которых выявлены заросли с обильным произрастанием

Наибольшая урожайность выявлена в Энгельском районе (окрестности села Красноармейское, Точка 12) – $122,0 \pm 8,0$ г/м², наименьшая обнаружена в Вольском районе (окрестности посёлка Шиханы, Точка 32) – $40,8 \pm 4,3$ г/м² (Рисунок 38).

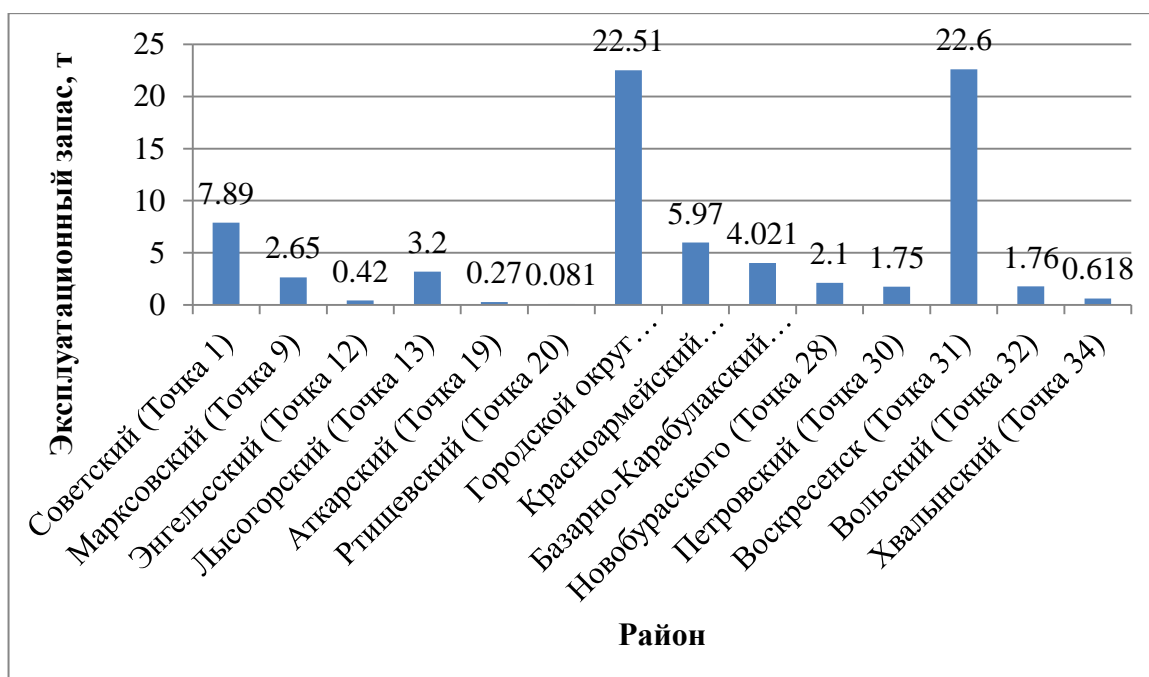


Рисунок 39 – Эксплуатационный запас *Th. marschallianus* на территории районов Саратовской области, в которых выявлены заросли с обильным произрастанием

Наибольший эксплуатационный запас сырья выявлен в Воскресенском районе (окрестности села Елшанка и села Андреевка, Точка 31) 22,6 т и в Муниципальном образовании

Саратов (окрестности поселка Красный Текстильщик, Точка 24) 22,51 т., а наименьший – в Ртищевском районе (окрестности села Змеевка, Точка 20) 0,081т. Эксплуатационный запас сырья зависит от площади заросли, поэтому в некоторых районах урожайность больше, а эксплуатационный запас меньше, например, в Энгельсском районе урожайность составила $122,0 \pm 8,0$ г/м², эксплуатационный запас 0,42 т (площадь заросли 4000м²), а в Новобурасском урожайность $43,5 \pm 4,5$ г/м², эксплуатационный запас 2,1 т (площадь заросли 60000 м²) (Рисунок 39).

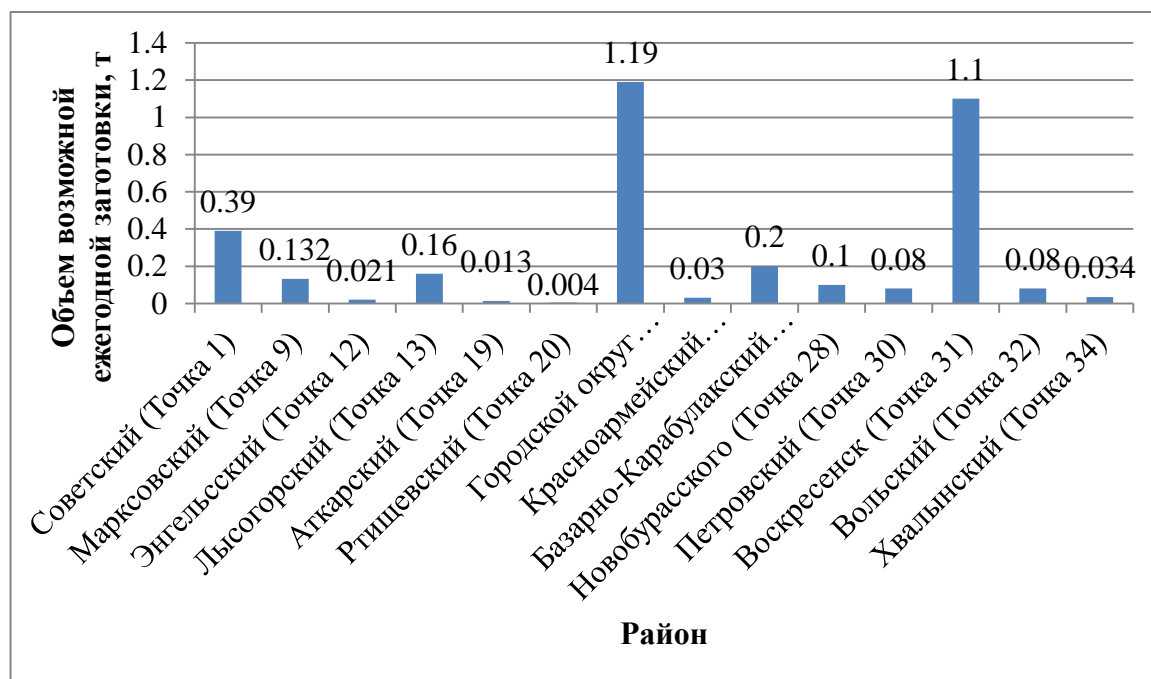


Рисунок 40 – Объем возможной ежегодной заготовки травы *Th. marschallianus* (в пересчете на воздушно-сухое сырье) на территории районов Саратовской области, в которых выявлены заросли с обильным произрастанием

Наибольший/наменьший объём возможной ежегодной заготовки в пересчете на воздушно-сухое сырье выявлен в тех же районах, что и наибольший/наименьший эксплуатационный запас, т.к. величины этих показателей прямо пропорциональны друг другу: наибольший – в Воскресенском районе (окрестности села Елшанка и села Андреевка, Точка 31) 1,1 т и в Муниципальном образовании Саратов (окрестности поселка Красный Текстильщик, Точка 24) 1,19 т., а наименьший – в Ртищевском районе (окрестности села Змеевка, Точка 20) 0,004 т. (Рисунок 40) [14, 44, 133].

Ранее *Th. marschallianus* упоминался в Красной книге Саратовской области (1996), где указано что он «подлежит охране» [52], вероятно, по причине малой изученности ресурсов данного вида. В более поздние издания Красной книги Саратовской области этот вид не был включен[53]. Наши исследования показали, что на территории 14-ти районов Саратовской

области находятся заросли *Th. marschallianus* с обильным произрастанием, что позволит проведение заготовок травы этого вида.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. В ходе полевых выездов из 37-и районов Саратовской области было исследовано 23 района, из которых в 14-и выявлено обильное произрастание *Th. marschallianus*: Советском, Марксовском, Энгельском, Лысогорском, Аткарском, Ртищевском, городском округе Саратов, Красноармейском, Базарно-Карабулакском, Новобураском, Петровском, Воскресенском, Вольском, Хвалынском.

2. Наибольшая площадь заросли *Th. marschallianus* (240 000 м²) выявлена в городском округе Саратов, а наименьшая (1 000 м²) – в Ртищевском районе.

3. Наибольшее значение урожайности показано в Энгельском районе – 122,0±8,0 г/м², а наименьшее – в Вольском районе (40,8±4,3 г/м²).

4. Наибольший эксплуатационный запас сырья *Th. marschallianus* выявлен в Воскресенском районе и в городском округе Саратов (22,6 т и 22,5 т соответственно), а наименьшее – в Ртищевском районе (81 кг).

5. Наибольший объёма возможных ежегодных заготовок травы *Th. marschallianus* определили в Воскресенском районе – свежесобранного сырья 4,5 т, в пересчете на воздушно-сухое 1,1 т, а наименьший в Ртищевском районе – 16 кг, и 4 кг соответственно.

ГЛАВА 6. ПРИМЕНЕНИЕ ИНФРАКРАСНОГО СПОСОБА СУШКИ ДЛЯ ТРАВЫ *Th. MARSCHALLIANUS*

6.1. Сравнительный анализ признаков внешнего вида травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами

С целью установления влияния инфракрасного способа сушки на морфолого-анатомические признаки и количественные показатели травы *Th. marschallianus* был проведен сравнительный анализ внешних и микроскопических признаков сырья, а также определено содержание экстрактивных веществ, суммы флавоноидов, дубильных веществ, эфирных масел.

Внешние признаки травы *Th. marschallianus* (Рисунок 41). Стебли округло четырехгранные, опушенные, зеленовато- или желтовато-коричневого цвета. Листья ланцетные, сидячие, голые, светло-зеленые, по поверхности с верхней и нижней стороны листа располагаются точечные эфиромасличные железки. Соцветия тирсы. Чашечка двугубая, пятизубчатая, опушенная, основной цвет – светло-зеленый, зубцы темно-зеленые; венчик двугубый, бледно-лилового цвета. Запах ароматный, вкус горьковато-пряный.



А



Б

Рисунок 41 – Внешний вид травы *Th. marschallianus* после сушки: А – воздушно-теневым способом; Б – инфракрасным способом

Внешний вид травы *Th. marschallianus*, высушенной инфракрасным и воздушно-теневым способами, идентичен и соответствует данным литературы [3, 112]. Цвет, запах и вкус сырья при двух способах сушки также идентичны, что показывает отсутствие влияния инфракрасной сушки на органолептические свойства травы *Th. marschallianus*.

6.2. Сравнительная характеристика показателей качества и содержания биологически активных веществ травы *Th. marschallianus* после сушки воздушно-теневым и инфракрасным способами

Необходимым этапом определения показателей качества растительного сырья является определение его влажности и коэффициента водопоглощения. В ходе анализа определена влажность образцов цельного сырья *Th. marschallianus*. Влажность травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым способом, составила $7,85 \pm 0,38\%$, а инфракрасным – $7,84 \pm 0,32\%$. Коэффициент водопоглощения травы *Th. marschallianus*, установленный экспериментально, одинаков и составил 7,5.

Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым ($34,97 \pm 1,43\%$) и инфракрасным ($33,33 \pm 2,39\%$) способами, практически идентично.

Содержание дубильных веществ в траве *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, также было сходным в сырье после двух сушек и составило $11,58 \pm 0,25\%$ при воздушно-теновом и $11,64 \pm 0,41\%$ при инфракрасном способах.

Содержание эфирных масел в сырье, высушенном инфракрасным способом ($1,25 \pm 0,15\%$), незначительно превышало аналогичный показатель сырья, высушенного воздушно-теневым способом ($1,12 \pm 0,15\%$).

Для анализа содержания суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид в сырье использовали спектральный анализ. Спектры поглощения водно-спиртовых извлечений из сырья *Th. marschallianus* двух видов сушек имеют два выраженных максимума, близкие по значениям и незначительно отличающиеся по интенсивности (Рисунок 42 А, Б). Форма спектров свидетельствует о наличии в извлечениях соединений фенольной природы. При добавлении алюминия хлорида спиртового раствора 5% наблюдали незначительный батохромный сдвиг длинноволновых полос поглощения (Рисунок 42 А, Б), что использовали для определения содержания суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии (Рисунок 43).

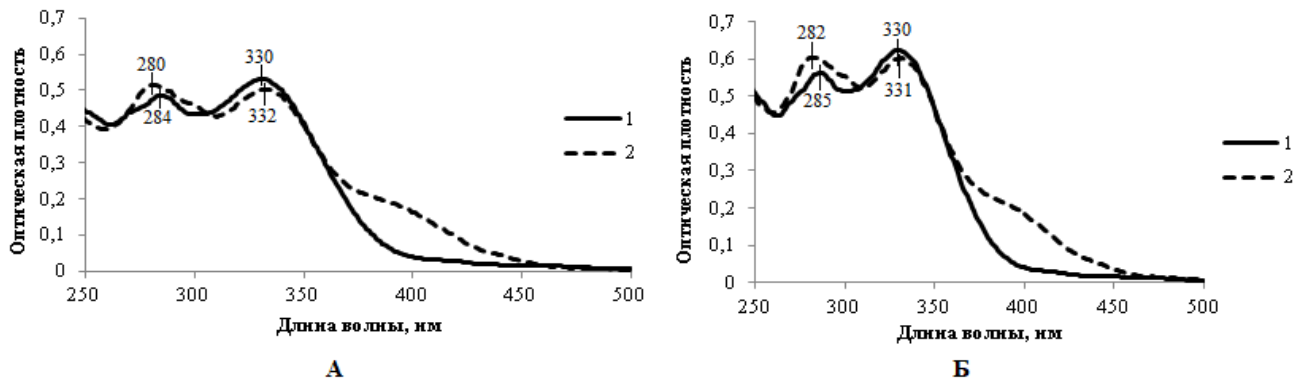


Рисунок 42 – Электронные спектры поглощения водно-спиртовых извлечений из травы *Th. marschallianus*, высушенной: А – естественным способом; Б – инфракрасным способом (1 – без добавления алюминия хлорида спиртового раствора 5%; 2 – с добавлением алюминия хлорида спиртового раствора 5%)

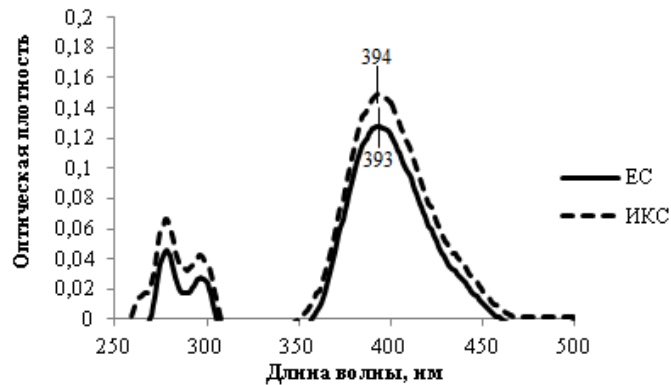


Рисунок 43 – Дифференциальные спектры поглощения водно-спиртовых извлечений из *Th. marschallianus*: ЕС – естественная сушка; ИКС – инфракрасная сушка

Оптическая плотность на дифференциальных спектрах (Рисунок 43) выше у травы *Th. marschallianus*, высушенной методом инфракрасной сушки, что свидетельствует о большем содержании флавоноидов ($1,37 \pm 0,06\%$) по сравнению с сырьем, высушенным естественным способом (сумма флавоноидов – $1,17 \pm 0,05\%$).

Хроматограммы извлечений, полученных из травы *Th. marschallianus*, высушенной инфракрасным и естественным способами, имеют одинаковые зоны адсорбции. На хроматограммах СО обнаруживали жёлто-оранжевую зону адсорбции рутин ($R_f 0,50 \pm 0,05$), жёлтую зону цинарозида ($R_f 0,68 \pm 0,04$), желто-зеленую зону лютеолина ($R_f 0,94 \pm 0,02$), зеленую зону кверцетина ($R_f 0,95 \pm 0,01$) и голубую зону розмариновой кислоты ($R_f 0,95 \pm 0,01$). Хроматограммы извлечений, полученных из сырья *Th. marschallianus*, высушенного двумя разными способами, не отличались количеством зон адсорбции и незначительно отличались интенсивностью некоторых зон, что проявлялось при облучении УФ-светом с длиной волны 365 нм (Рисунок 44). Наибольшее количество зон адсорбции проявлялось в виде зеленовато-жёлтых и голубых зон.

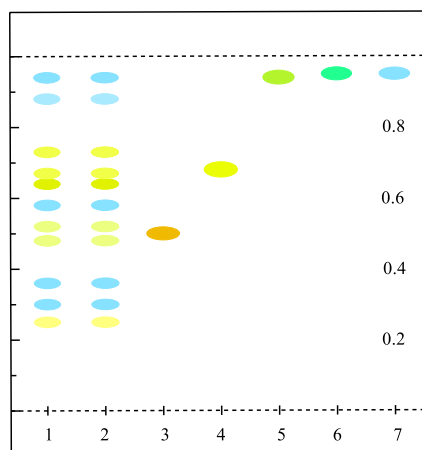


Рисунок 44 – Схема хроматограммы извлечений из травы *Th. marschallianus*: 1 – извлечение из травы *Th. marschallianus*, высушенной естественным способом; 2 – извлечение из травы *Th. marschallianus*, высушенной инфракрасным способом; 3 – СО рутина; 4 – СО цинарозида; 5 – СО лютеолина; 6 – СО кверцетина; 7 – СО розмариновой кислоты

На хроматограммах испытуемых образцов извлечений *Th. marschallianus* двух видов сушки обнаружено 11 зон адсорбции: зона бледно-желтого цвета (R_f $0,25 \pm 0,03$), 2 зоны темно-голубого цвета (R_f $0,30 \pm 0,04$; $0,36 \pm 0,04$), 2 зоны бледно-желтого цвета (R_f $0,48 \pm 0,03$; $0,52 \pm 0,03$), одна зона светло-голубого цвета (R_f $0,58 \pm 0,03$), зона желтого цвета (R_f $0,64 \pm 0,03$), 2 зоны светло-желтого цвета (R_f $0,67 \pm 0,03$; $0,73 \pm 0,03$), зона светло-голубого (R_f $0,88 \pm 0,02$) и голубого цвета (R_f $0,94 \pm 0,01$). Зона желтого цвета, имеющая R_f $0,67 \pm 0,03$, совпадает по цвету и положению с СО цинарозида (R_f $0,68 \pm 0,04$), а интенсивно голубая зона с R_f $0,94 \pm 0,01$ совпадает с СО розмариновой кислоты (R_f $0,95 \pm 0,01$), что свидетельствует об их наличии в этанольных извлечениях. В образцах обоих извлечений бледно-желтые зоны с R_f $0,48 \pm 0,03$ и $0,52 \pm 0,03$ по положению совпадают с СО рутина, но не соответствуют ему по цвету, а также отсутствуют зоны адсорбции, совпадающие по цвету с СО лютеолина и кверцетина, что свидетельствует об отсутствии этих флавоноидов. Следует отметить, что нами не подтверждено содержание рутина и кверцетина, ранее указанных в составе травы *Th. marschallianus* [56]. Таким образом, из фенольных соединений методом ТСХ обнаружены розмариновая кислота, относящаяся к оксикоричным кислотам, и цинарозид (флавоноид).

Методом ВЭЖХ в сырье, высушенном естественным и инфракрасным способами, определено содержание выявленных фенольных соединений. Содержание розмариновой кислоты варьировало от $1,61 \pm 0,02\%$ у травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теньевым способом, до $1,93 \pm 0,03\%$ – инфракрасным (Рисунок 45, Рисунок 46), а содержание цинарозида колебалось от $0,58 \pm 0,01\%$ (при воздушно-теньевой сушке) до $0,67 \pm 0,02\%$ (при инфракрасной сушке) [84]. Данные соединения являются БАВ, характерными для растений рода тимьян и могут быть использованы с целью количественного анализа [112].

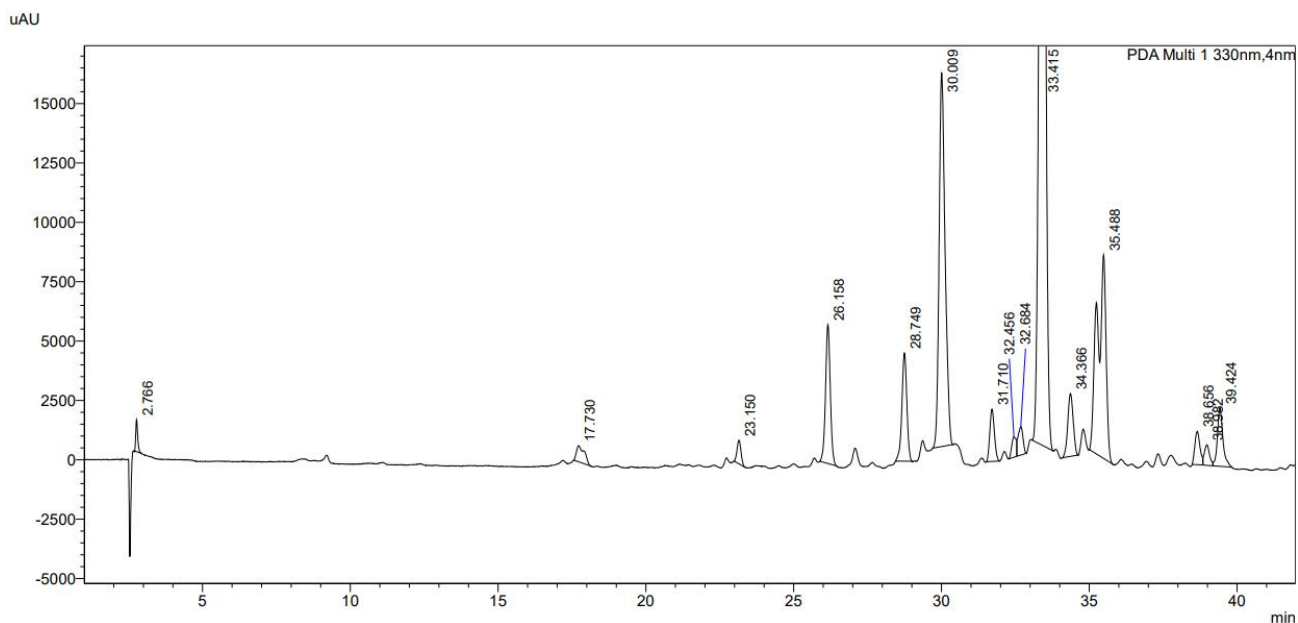


Рисунок 45 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа фенольных соединений сырья *Th. marschallianus*, высушенного воздушно-теньевым способом

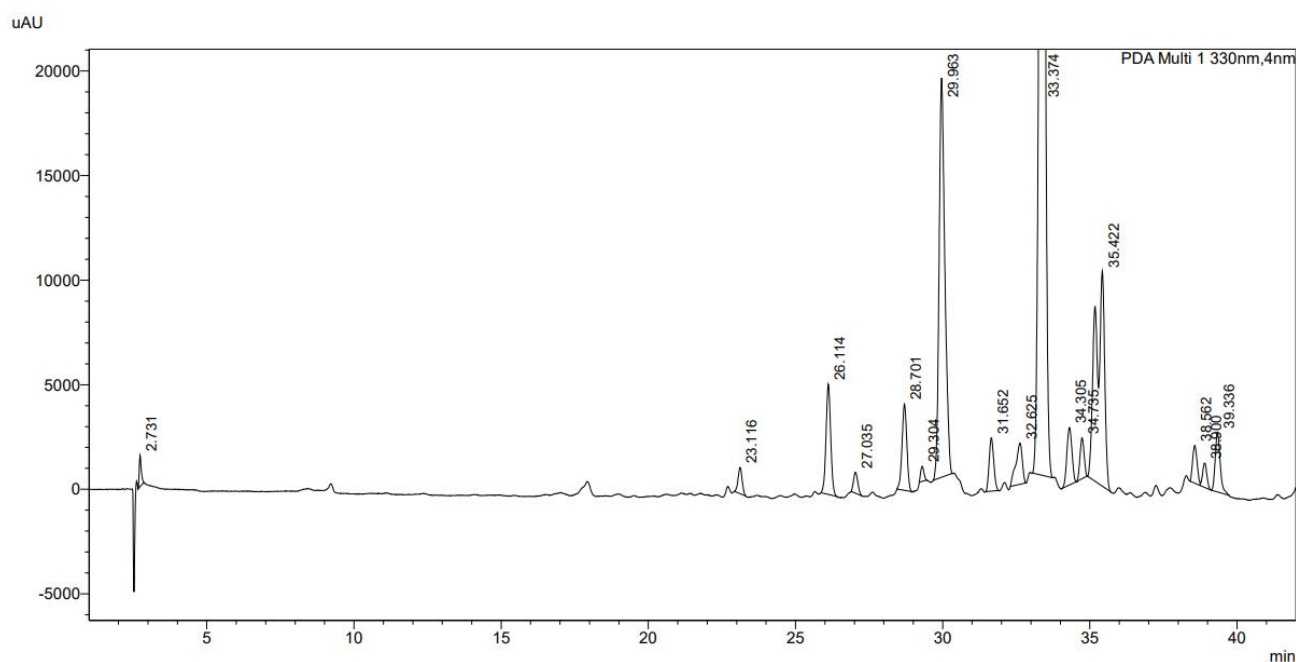


Рисунок 46 – Хроматограмма результатов ВЭЖХ анализа фенольных соединений сырья *Th. marschallianus*, высушенного инфракрасным способом

Для оценки корреляции между содержанием БАВ сырья, высушенного воздушно-теньевым и инфракрасным способами, и фармакологической активностью получаемых из него извлечений, нами проведено определение антирадикальной активности *in vitro*, которая в основном определяется качественным и количественным составом фенольных соединений [184].

Антирадикальную активность травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теньевым и инфракрасным способами, определяли для серии разведений в диапазоне концентраций от

50000 до 6,10 мг/мл в отношении DPPH радикала, рассчитывая процент их ингибирования. Способность поглощать 50% исходного DPPH (IC₅₀) устанавливали с помощью графика (Рисунок 47).

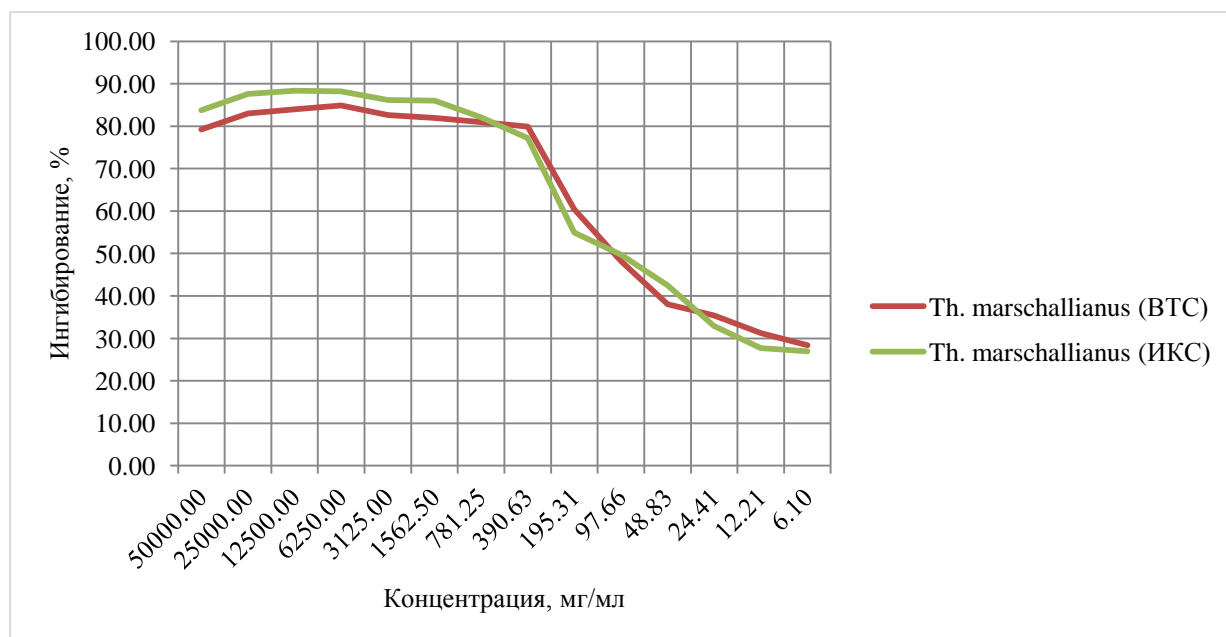


Рисунок 47 – Антирадикальная активность травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами

Антирадикальная активность (IC₅₀) травы *Th. marschallianus*, высушенной инфракрасным способом, была незначимо больше, чем у травы, высушенной воздушно-теневым и в целом они практически не отличались: IC₅₀ у сырья, высушенного воздушно-теневым способом, составила 112,58±5,41 мг/мл, а инфракрасным – 105,59±4,13 мг/мл.

Полученные результаты сравнительного анализа сырья двух способов сушек позволяют сделать заключение, что в траве *Th. marschallianus*, высушенной инфракрасным способом, сохраняется большее количество флавоноидов и ЭМ, не изменяются зоны адсорбции на хроматограммах и спектральные характеристики извлечений, не меняется сумма экстрактивных веществ, а также практически идентичны установленные показатели антирадикальной активности *in vitro* (Таблица 33).

Таблица 33 – Результаты влияния разных видов сушек травы *Th. marschallianus* на показатели качества и содержания БАВ

Показатели	Воздушно теневая сушка, %	Инфракрасная сушка, %
Влажность	7,85±0,38	7,84±0,32
Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой	34,97±1,43	33,33±2,39
Содержание дубильных веществ в пересчете на танин	11,58±0,25	11,64±0,41

Продолжение Таблицы 33

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид	1,17±0,05	1,37±0,06
Содержание ЭМ	1,12±0,15	1,25±0,15
Содержание розмариновой кислоты	1,61±0,11	1,93±0,18
Содержание цинарозида	0,58±0,03	0,67±0,05
IC ₅₀ (антирадикальная активность)	112,58±5,41	105,59±4,13

Наши данные подтверждают, что условия сушки (способ, температура, время) влияют на сохранность биологически активных веществ в растительном сырье. Для *Th. marschallianus* инфракрасная сушка при температуре 30-32°C позволяет сократить время сушки до 2-х суток, при этом такой способ позволяет сохранить большее количество и флавоноидов, не изменяя показатели качества и содержание дубильных веществ, эфирных масел.

Полученные результаты легли в основу технических условий, которые распространяются на высушенную цельную и измельченную траву *Th. marschallianus*, предназначенную для использования в качестве растительного сырья (ПРИЛОЖЕНИЕ А).

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. Анализ внешних признаков травы *Th. marschallianus* показал, что морфологические признаки сырья двух видов сушки идентичны.

2. Проведен сравнительный анализ спектральных характеристик, характеристик зон адсорбции на хроматограммах, а также содержания экстрактивных веществ, суммы флавоноидов, дубильных веществ и ЭМ в траве *Th. marschallianus* двух видов сушки. Установлено сходство спектральных характеристик и идентичность зон адсорбции на хроматограммах сырья. При высушивании травы *Th. marschallianus* инфракрасным способом сохраняется большее количество ЭМ и флавоноидов, в т.ч. выявленных методом ВЭЖХ фенольных соединений – розмариновой кислоты и цинарозида, при этом не изменяется содержание дубильных веществ и показатели качества.

3. Показатели антирадикальной активности (IC_{50}) у травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами, практически не отличались.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время траву *Th. marschallianus* применяют только в народной медицине, однако накопленные экспериментальные данные показывают, что проанализированные к настоящему времени извлечения, полученные из этого растительного сырья, уже показали различные направления фармакологической активности. Кроме того, проведенные ранее исследования доказывают, что по проявлениям фармакологической активности извлечения *Th. marschallianus* не уступают извлечениям применяемого в медицине *Th. serpyllum*.

Сравнительный люминесцентный анализ микроскопических признаков травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, а также анализ спектральных характеристик и характеристик зон адсорбции на хроматограммах водно-спиртовых извлечений сырья этих видов, позволил предложить комплексный подход к идентификации этих видов.

Химический анализ водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* методами ТСХ, титриметрии, спектрофотометрии, ВЭЖХ, и ЭМ из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* методом ГЖХ-МС показали различия в качественном и количественном содержании БАС.

Исследования безопасности на лабораторных животных выявили, что все водные и спиртовые извлечения из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* относительно безвредны по результатам эксперимента острой токсичности. Биохимические показатели крови показали отсутствие выраженных функциональных изменений со стороны печени, сердца и почек, что подтверждает безопасность применения водных извлечений из данного вида растительного сырья. Скрининговые исследования фармакологической активности выявили у водных и спиртовых извлечений антимикробную, противоопухолевую, антирадикальную активности и отсутствие влияние на поведенческие реакции животных.

Ресурсный потенциал *Th. marschallianus*, произрастающего на территории Саратовской области, эксплуатационный запас и объем возможной ежегодной заготовки его травы позволяют рекомендовать регион для сбора данного сырья.

Инфракрасный способ сушки не повлиял на внешние признаки травы *Th. marschallianus*, характеристики зон адсорбции на хроматограммах, спектральные характеристики, позволил сохранить большее количество флавоноидов, при этом не изменяя показатели качества и содержание дубильных веществ, эфирных масел. Показатели антирадикальной активности у травы *Th. marschallianus*, высушенной воздушно-теневым и инфракрасным способами практически не отличались.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Выполнено информационно-аналитическое изучение литературных источников, необходимых для комплексного подхода к идентификации *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Проведенная оценка и систематизация данных литературы позволили установить актуальность изучения ресурсного потенциала *Th. marschallianus* в Саратовской области, проведения анализа химического состава и фармакологической активности извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*.

2. Предложен комплексный подход к идентификации травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* на основе сравнительного люминесцентного анализа микроскопических признаков, спектральных характеристиках и характеристиках зон адсорбции на хроматограммах сырья этих видов. Спектры поглощения водно-спиртовых извлечений сырья *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* имеют два выраженных максимума, близких по значениям: для *Th. serpyllum* одинаковых по интенсивности, для *Th. marschallianus* – различающихся. На хроматограммах извлечений из травы *Th. marschallianus* различимы 11 зон адсорбции, из травы *Th. serpyllum* – 8, с наличием зон желтого цвета на уровне адсорбции цинарозида.

3. В сравнительном аспекте изучены водные и спиртовые извлечения травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Показано, что водные и спиртовые извлечения из травы *Th. marschallianus* характеризовались большим содержанием циннарозида (на 61% и 51% соответственно) и розмариновой кислоты (на 76% и 84% соответственно), чем аналогичные извлечения из сырья *Th. serpyllum*. Содержание суммы флавоноидов в водных извлечениях из травы *Th. marschallianus* было больше на 46%, чем в водных извлечениях из травы *Th. serpyllum*, а в спиртовых извлечениях из травы *Th. marschallianus* их содержание было меньше на 35%, по сравнению со спиртовыми извлечениями травы *Th. serpyllum*. Содержание дубильных веществ в спиртовых и водных извлечениях травы *Th. marschallianus* было ниже, чем в аналогичных извлечениях травы *Th. serpyllum* (на 11% и 9,5% соответственно). Содержание ЭМ в траве *Th. marschallianus* превышало аналогичные показатели в траве *Th. serpyllum* в 3 раза. В ЭМ *Th. serpyllum* идентифицировано 66 веществ, а в ЭМ *Th. marschallianus* – 64, основную долю среди которых составляют ароматические соединения.

4. Установлено, что водные и спиртовые извлечения травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* относятся к практически нетоксичным. Скрининговое исследование водных и спиртовых извлечений травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* показало отсутствие у них антидепрессивной, анксиолитической активностей и воздействия на когнитивные функции животных. Доказано, что извлечения травы *Th. marschallianus* обладают более выраженной антирадикальной способностью в отношении DPPH радикала по сравнению с извлечениями

травы *Th. serpyllum*. Впервые выявлено, что извлечения *Th. marschallianus* обладают противоопухолевой активностью: *in vitro* спиртовые извлечения *Th. marschallianus* показали цитотоксическую, цитостатическую, апоптотическую активности, а также активность, приводящую к нарушению ploидности клеток в отношении опухолевых клеток рака почки человека A498; *in vivo* установлено, что водные извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* проявили более выраженную противоопухолевую активность, чем спиртовые, а водное извлечение *Th. marschallianus* было активнее, чем водное извлечение *Th. serpyllum* т.к. при его введении выявлены морфологические признаки апоптоза клеток опухоли.

5. Изучена антимикробная активность извлечений (спиртовых и водных) и эфирного масла травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Выявлена антибактериальная активность в отношении грамположительных (*S. aureus*) и грамотрицательных (*E. coli* и *P. aeruginosa*) бактерий. При этом эфирные масла обладают антимикотической активностью в отношении грибов *C. albicans* в отличие от водных и спиртовых извлечений.

6. Проведены ресурсоведческие исследования *Th. marschallianus*, произрастающего в Саратовской области. На основе оценки характеристик запаса травы *Th. marschallianus* (урожайность, эксплуатационной запас и объем возможной ежегодной заготовки), определены 14 районов для заготовки данного вида сырья.

7. Изучено влияние инфракрасной сушки на морфологические признаки, содержание БАВ, показатели качества и антирадикальную активность травы *Th. marschallianus*. При высушивании травы *Th. marschallianus* инфракрасным способом сохраняется большее количество флавоноидов, при этом не изменяется содержание эфирных масел, дубильных веществ, экстрактивных веществ, извлекаемых водой, влажность, и антирадикальная активность (IC₅₀) по сравнению с воздушно-теновой сушкой.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты диссертационного исследования расширяют знания о перспективном растительном сырье – траве *Th. marschallianus*, которое может быть внедрено в медицинскую и фармацевтическую практику в качестве лекарственного растительного препарата или источника БАВ для разработки фитопрепаратов на его основе антимикробного, антиоксидантного, противоопухолевого действия с дальнейшей оценкой доклинических и клинических исследований. Саратовская область может быть рекомендована для массовой заготовки травы *Th. marschallianus* с целью замещения импортируемого сырья официального вида *Th. serpyllum*. Результаты экспериментальных исследований по изучению подходов к идентификации травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* могут быть использованы в контрольно-аналитических лабораториях для контроля качества сырья. Результаты исследований могут быть использованы в учебном и научном процессе в рамках дисциплины фармакогнозия. Проект инструкции по сбору и сушке травы тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) может быть использован при разработке нормативных документов, регламентирующих качество данного сырья.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, могут быть использованы для идентификации близкородственных видов *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*. Изученная в работе трава *Th. marschallianus* перспективна к внедрению в медицинскую и фармацевтическую практику в качестве лекарственного растительного сырья или источника БАВ для разработки фитопрепаратов на ее основе. Полученные данные в результате ресурсоведческих исследований *Th. marschallianus* могут быть использованы или взяты за основу для продолжения изучения растительных ресурсов, как Саратовской области, так и других регионов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

БАВ – биологически активные вещества

БАС – биологически активные соединения

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ГЖХ-МС – газожидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

ГФ – государственная фармакопея

ЛДГ – лактатдегидрогеназы

ЛР – лекарственные растения

ЛРС – лекарственное растительное сырье

МИК – минимальная ингибирующая концентрация

СО – стандартный образец

ТАГ – триглицеридов

ТСХ – тонкослойная хроматография

ЩФ – щелочной фосфатазы

ЭМ – эфирное масло

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева, Л. И. Биологическая активность растений рода *Thymus* / Л. И. Алексеева, Л. В. Тетерюк // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. – 2008. – № 8. – С. 26-28.
2. Анализ устойчивости к осмотическому стрессу биопленок почвенных бактерий *Azospirillum Brasilense* / Д. И. Мокеев, И. В. Волохина, Е. М. Телешева, [и др.] // Микробиология. – 2022. – Т. 91. – №6. – С. 695-707.
3. Анатомо-диагностические признаки травы тимьяна Маршалла при разных видах сушки / А. А. Адамович, А. С. Шереметьева, Т. В. Абуталиева, Е. В. Минзюк, В. Н. Стрижевская, И. В. Симакова // Биологические науки: традиции, достижения, инновации : сборник материалов I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященная 100-летию со дня рождения профессора К. А. Кузьминой / редколл. : Н. А. Дурнова, Н. В. Полуконова, М. А. Березуцкий, А. М. Мыльников, А. С. Федонников. – Саратов: СГМУ им. В. И. Разумовского, 2023. – С. 60-61.
4. Анищенко, И. Е. Культура тимьян (*Thymus* L.) в Республике Башкортостан / И. Е. Анищенко, О. Ю. Жигунов // Аграрная Россия. – 2014. – № 4. – С. 8-11.
5. Анищенко, И. Е. Тимьян – ценная пряно-ароматическая культура и ее применение / И. Е. Анищенко, С. В. Кучерова, О. Ю. Жигунов // ФГБУН Ботанический сад-институт УНЦ РАН. – 2001. – С. 63-64.
6. Антибактериальная активность эфирных масел тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) и тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) / О. Г. Шаповал, А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, Н. К. Мухамадиев, Г. Т. Раббимова, М. Х. Назирбеков, М. А. Купряшина // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т. 12. – № 3. – С. 143-150.
7. Антимикробная активность основных компонентов эфирных масел и их некоторых производных / А. К. Торина, Г. Н. Бисенова, А. А. Шегебаева // ЫЛЫМ ЖАРШЫСЫ. – 2014. – Т. 82. – № 3. – С. 54-62.
8. Антимикробная активность экстрактов тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего в отношении клинических штаммов микроорганизмов / А. С. Шереметьева, О. Г. Шаповал, А. В. Фролкова, Н. А. Дурнова // Традиционная медицина. – 2021. – Т. 3. – № 66. – С. 27-32.
9. Антимикробная активность эфирных масел *Thymus serpyllum* L. и *Thymus marschallianus* Willd. в отношении *Candida albicans* / О. Г. Шаповал, А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, Н. К. Мухамадиев, Г. Т. Раббимова, М. Х. Назирбеков // Химико-фармацевтический журнал. – 2023. – Т. 57. – № 9. – С. 26-31.

10. Антимикробная активность эфирных масел тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего в отношении возбудителей урогенитальных инфекций / А. С. Шереметьева, О. Г. Шаповал, Д. В. Белоусова, Д. В. Гнилицкий, Н. А. Дурнова // Эффективный менеджмент здравоохранения: стратегии инноваций : сборник материалов III Международной научно-практической конференции. – Саратов: СГМУ им. В. И. Разумовского, 2022. – С. 376-379.
11. Антимикробные свойства эфирного масла растения рода *Monarda*, культивируемые в Беларуси / Н. А. Коваленко, В. Н. Леонтьев, Г. Н. Супиченко, [и др.] // Химия растительного сырья. – 2021. – №2. – С. 137–144.
12. Антропова, Г. А. Необходимость проведения фармацевтического консультирования в системе обращения лекарственных средств / Г. А. Антропова, Т. И. Оконенко, Л. Г. Прошина // Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого. – 2022. – № 1. – С. 75-80.
13. Арушанян, Э. Б. Особенности временной организации поведенческого ответа крыс на кофеин / Э. Б. Арушанян, А. В. Попов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68. – № 1. – С.10-12.
14. Бабкина, А. А. Ресурсоведческое исследование тимьяна Маршалла, произрастающего на территории Саратовской области / А. А. Бабкина, А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова // Week of Russian science (WeRuS-2024). – Саратов: Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, 2024. – С. 1053-1054.
15. Банаева, Ю. А. Исследование химического состава эфирного масла представителей рода *Thymus* L., произрастающих на Алтае / Ю. А. Банаева, Л. М. Покровский, А. В. Ткачев // Химия растительного сырья. – 1999. – Т. 3. – С. 41-48.
16. Барабанова, Л. В. Изучение мутагенных эффектов генетически модифицированной сои у дрозофилы и мыши / Л. В. Барабанова, Е. В. Ковтун // Экологическая генетика. – 2015. – Т. 13. – № 2. – С. 136-141.
17. Березуцкий, М. А. Учебно-полевая практика по систематике растений с основами геоботаники: учебно-методическое пособие для студентов второго курса / М. А. Березуцкий, А. П. Забалуев, Р. Д. Иванова. – Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 1994. – 23 с.
18. Биологические ресурсы растительного мира: курс лекций / сост. Л. А. Осинцева. – Новосибирск : Новосибирский государственный аграрный университет, 2016. – 98 с.
19. Борисова, Н. А. Методика исследований: к методике учета и картирования ресурсов лекарственных растений / Н. А. Борисова, А. И. Шретер // Растительные ресурсы. – 1966. – Т. 2. – № 2. – С. 481-491.
20. Бубенчикова, В. Н. Изучение отхаркивающей активности растений рода Тимьян / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т. 8. – № 5. – С. 78-80.

21. Бубенчикова, В. Н. Исследование эфирного масла тимьяна блошиного. / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – С. 116-118.
22. Бубенчикова, В. Н. Карбоновые кислоты травы тимьяна Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак, А. А. Безъязычная. // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2–15. – С. 3316-3318.
23. Бубенчикова, В. Н. Тимьян Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) – источник пектиновых веществ / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак, Е. С. Лапина // Успехи современного естествознания. – 2015. – №1. – С. 1139-1141.
24. Бубенчикова, В. Н., Аминокислотный и минеральный состав травы тимьяна Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.). / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак // Ученые записки Орловского Государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2012. – № 6-1. – С. 214-216.
25. Бурчинский, С. Г. Препараты гинкго в современной стратегии нейропротекции: возможности и перспективы / С. Г. Бурчинский // Международный неврологический журнал. – 2011. – Т. 39. – №1. – С. 7-14.
26. Винокурова, О. А. Сравнительная характеристика различных видов тимьяна: состав, свойства, применение (обзор) / О. А. Винокурова, О. В. Тринеева, А. И. Сливкин // Разработка и регистрации лекарственных средств. – 2016. – Т. 17. – №4. – С. 134-150.
27. Влияние различной аверсивной среды на потребление кислорода в мышцах и крови у мышей в условиях теста «Принудительного плавания» / А.В. Воронков, А.Д. Геращенко, Д.И. Поздняков, [и др.] // Фармация и фармакология. – 2019. – Т. 7. – № 3. – С. 148-157.
28. Влияние условий экстракции на содержание флавоноидов в извлечениях из травы тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего / А. С. Шереметьева, Ю. А. Фомина, Н. Б. Шестопалова, Н. А. Дурнова // Фармация. – 2021. – Т. 70. – № 7. – С. 41-46.
29. Гагуева, А. У. Лекарственные препараты отхаркивающего действия. Роль растительных источников в терапии кашля: изученность, ассортимент, востребованность, Фармакология, клиническая фармакология / А.У. Гагуева, Э.Ф. Степанова // Медицинские науки. – 2018. – С. 23-27.
30. Гармонизация исследований по проведению острой токсичности в соответствии с российскими и зарубежными требованиями / О. И. Авдеева, И. Е. Макаренко, М. Н. Макарова, [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 1. – С. 103-109.
31. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. / С. Гланц ; пер. с англ. Ю. А. Данилова; под ред. Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. – Москва : Практика, 1999. – 459 с.

32. Горина, Я. В. Восьмирукавный радиальный лабиринт как инструмент для оценки пространственного обучения и памяти у мышей / Я. В. Горина // Сибирское медицинское обозрение. – 2016. – № 5. – С. 46-52.

33. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. – Москва : Министерство здравоохранения РФ, 2018. – Текст : электронный. – [Офиц. сайт] URL: <https://femb.ru/record/pharmacopeia14>.

34. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV изд. – Москва : Министерство здравоохранения РФ, 2023 – Текст : электронный. – [Офиц. сайт] URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15>.

35. Гржибовский, А. М. Сравнение количественных данных трех и более независимых выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии / А.М. Гржибовский, С.В. Иванов, М.А. Горбатова // Наука и здравоохранение. – 2016. – № 4. – С. 5-37.

36. Григорьева, Л. М. Ресурсы лекарственных растений юго-восточных районов Тюменской области и вопросы их рационального использования : специальность 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Григорьева Людмила Михайловна ; Санкт-Петербургский химико-фармацевтический институт Министерства здравоохранения и медицинской промышленности РФ. – СПб, 1996. – 20 с.

37. Дурнова, Н. А. Химический состав эфирного масла *Thymus marschallianus* Willd и *Thymus pallasianus* Н. Вг., произрастающих на территории саратовской области / Н. А. Дурнова, Ю. В. Романтеева, А. Н. Ковтун // Химия растительного сырья. – 2014. – № 2. – С. 115-119.

38. Еленевский, А. Г. Конспект флоры Саратовской области / А. Г. Еленевский, Ю. И. Буланый, В. И. Радыгина. – Саратов : Издательский центр «Наука», 2008 – 232 с.

39. Забалуев, А. П. Ресурсы лекарственных растений Саратовской области / А. П. Забалуев. – Саратов: Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, 2000. – 144 с.

40. Завалий, А. А. Ресурсосберегающие технологии и оборудование инфракрасной сушки растительного сырья в условиях сельскохозяйственных предприятий как инструмент сохранения нативных свойств ягод, плодов, лекарственных и эфирноносных растений и их подготовки к глубокой переработке / А. А. Завалий, В. С. Паштецкий // Энергоресурсоэффективные экологически безопасные технологии и оборудование. – 2019. – С. 80-84.

41. Злобин, А. А. Антиоксидантная и антимикробная активность пектинов ряда растений Европейского Севера России / А. А. Злобин, Е. В. Мартинсон, Ю. С. Оводов // Известия Коми НЦ УрО РАН. – 2011. – Т. 7. – № 3. – С. 33–37.
42. Изучение содержания флавоноидов в надземной части видов рода тимьян, произрастающих на территории Волгоградской области / И. К. Саркисян, А. В. Яницкая, О. В. Недилько, [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – 2020. – № 75. – С. 92–97.
43. Ишмуратова, М. Ю. К оценке сырьевых запасов лекарственных растений гор Улытау (Карагандинская область) // Вестник Карагандинского университета. Серия Биология. Медицина. География. – 2015. – № 1. – С. 43-49.
44. К изучению ресурсного потенциала тимьяна Маршалла на территории Саратовской области / А. С. Шереметьева, Д. В. Белоусова, Д. В. Гнилицкий, Н. А. Дурнова // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2024. – № 2. – С. 129-135.
45. Каретникова, А. Ю. Изучение острой токсичности извлечений из травы тимьяна Маршалла и их влияния на биохимические показатели крови. / А. Ю. Каретникова, А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2022. – Т. 6. – № 2. – С. 7-17.
46. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: рекомендации». – Межрегиональная ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, 2021. – Текст : электронный. – [Офиц. сайт] URL: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf>
47. Комиссаренко, С. Н. Пектины их свойства и применение. / С. Н. Комиссаренко, В. Н. Спиридонов // Растительные ресурсы. – 1998. – Т. 34. – № 1. – С. 111–119.
48. Комплекс фенольных соединений экстракционных препаратов из травы тимьяна Маршалла: прогнозирование биологической активности методом *in silico* // Вестник современной клинической медицины. – 2023. – Т. 16. - №52. – С. 55-60.
49. Комплексный подход к определению подлинности травы тимьяна ползучего и тимьяна Маршалла / А. С. Шереметьева, Ю. А. Фомина, Н. Б. Шестопалова, Н. А. Дурнова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2023. – Т. 26. – № 3. – С. 21-26.
50. Коросов, А. В. Количественные методы экологической токсикологии : учебно-методическое пособие / А. В. Коросов, Н. М. Калинин. – Петрозаводск : Петрозаводск гос. ун-т, 2003. – 52 с.

51. Красная книга Российской Федерации, том «Животные» ; под редакцией академика РАН Д. С. Павлова. – 2-ое издание. – М.: ФГБУ «ВНИИ Экология», 2021. – 1128 с.
52. Красная книга Саратовской области : Растения, грибы, лишайники. Животные. / Комитет охраны окружающей среды и природных ресурсов Саратовской области . – Саратов : Региональное Приволжское издательство «Детская книга», 1996 – 264 с.
53. Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные ; под редакцией РАЕН Г. В. Шляхтин. – 3-е издание. Министерство природных ресурсов и экологии Саратовской области. – Саратов : Папирус, 2021. – 496 с.
54. Кулакова, Ю. Ю. Ботанико-ресурсоведческая характеристика рода *Thymus* L. на территории Нижнего Поволжья : специальность 06.01.06 «Луговодство и лекарственные и эфиромасличные культуры» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Кулакова Юлиана Юрьевна ; ГНУ ВИЛАР РАН. – Москва, 2011. – 24 с.
55. Куркин, В. А. Особенности количественной оценки содержания флавоноидов в препаратах коры ореха черного / В. А. Куркин, Н. И. Зименкина // Фармация и фармакология. – 2022. – Т. 10. – № 1. – С. 31-43.
56. Кусова, Р.Д. Исследование флавоноидов и оксикоричных кислот в траве *Thymus marschallianus* Willd / Р. Д. Кусова // Ежемесячный научный журнал. – 2014. – Т. 2. – 142-144.
57. Лужников, Е. А. Медицинская токсикология / Лужников Е. А. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 928 с.
58. Лушников, Е. Ф. Рапорт о патоморфозе: прошлое и настоящее / Е. Ф. Лушников, А. Ю. Абросимов, Я. Л. Учение // Архив патологии. – 2013. – № 4. – С. 62-66.
59. Люминесцентная микроскопия в идентификации близкородственных видов на примере рода *Persicaria* Mill. / А. А. Гудкова, А. С. Чистякова, А. И. Сливкин, [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т. 13. – №1. – С. 110-119.
60. Маевский, П. Ф. Флора средней полосы европейской части России / Маевский П.Ф. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 635 с.
61. Машанов, В. И. Пряно-ароматические растения / В. И. Машанов, А. А. Покровский. – Москва : ВО «Агропромиздат», 1991. – С. 99.
62. Мирзаева Х. А. Содержание основных действующих веществ в траве и экстракционных препаратах травы тимьяна Маршалла / Х. А. Мирзаева, Ф. М. Юнусова // Химия растительного сырья. – 2017. – № 2 – С. 75-79.
63. Мирзаева, Х. А. Содержание основных действующих веществ в траве и экстракционных препаратах травы *Thymus marshallianus* Willd / Х. А. Мирзаева, Ф. М. Юнусова // Химия растительного сырья. – 2017. – №. 2. – С. 75-79.

64. Морозов, С. В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений / С. В. Морозов, Н. И. Ткачева, А. В. Ткачев // Химия растительного сырья. – 2018. – Т. 4. – С. 5-28.
65. Муллагулов, Р. Т. Изучение антиоксидантной активности лекарственных трав методом хемиллюминесценции в опытах *in vitro* / Р. Т. Муллагулов, В.Н. Козлов, Л. Ф. Пономарева // Вестник ВУиТ. – 2012. – Т. 9. – № 1. – С. 231-234.
66. Наумова, Н. Л. Современный взгляд на проблему исследования антиоксидантной активности пищевых продуктов / Н. Л. Наумова // Вестник ЮУрГУ, Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2014. – Т.1. – № 2. – С. 5-6.
67. Неверов, П. А. Анализ рынка фитопрепаратов России и Алтайского края: тенденции развития потребительского спроса, проблемы и прогнозы / П. А. Неверов, Н. В. Пислегина // Гуманитарные, социально-экономические и общественные науки. – 2019. – № 5. – С. 217-222.
68. Николаева, И. Г. Разработка и стандартизация средств растительного происхождения, обладающих адаптогенной активностью : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук / Николаева Ирина Геннадьевна ; ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН. – Улан-Удэ, 2012. – 304 с.
69. Новикова, В. С. Флора средней полосы России: Атлас-определитель / под ред. В. С. Новикова, К. В. Киселева, С. Р. Майорова. – М.: ООО «Фитон XXI», 2013. – С.544.
70. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина / Е. И. Рябина, Е. Е. Зотова, Е. Н. Ветрова, [и др.] // Химия растительного сырья. – 2011. – №3. – С. 117–121.
71. Нотова, С. В. Технология производства, качество продукции и экономика в мясном скотоводстве / С. В. Нотова, Т. В. Казакова, О. В. Маршинская // Животноводство и кормопроизводство. – 2018. – Т. 101. – № 1. – 106-115.
72. Обзор рода *Thymus* L. на территории Нижнего Поволжья: экология, ресурсы, фитохимия сырья / Ю. Ю. Кулакова, Л. Н. Зайко, Л. Б. Дмитриев, [и др.] // Аграрная Россия. – 2009. – № 1. – С. 48-50.
73. Орзабаева, П. З. Химический состав и биологические свойства ультразвукового экстракта тимьяна ползучего флоры Центрального Казахстана, перспективы его применения в медицине : специальность 6D110400 «Фармация» : диссертация на соискание степени доктора философии (PhD) / Орзабаева Перизат Зарухановна ; НАО «Медицинский университет Караганды». - Республика Казахстан, Караганда, 2023. – 158 с.
74. Особенности влияния отдельных производных тетрагидропиридо [2, 1-b][1, 3, 5] тиадиазина на эффекты леводопы в тесте подвешивания за хвост / Е. Ю. Бибики, И. А. Некраса,

А. В. Деменко, [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2020. – Т. 27. – № 3. – С. 65-77.

75. Оценка безопасности водных и спиртовых извлечений травы тимьяна Маршала / А. С. Шереметьева, А. В. Ивасенко, Е. А. Лисицына, К. Д. Назарова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. – Пятигорск : ООО «Рекламно-информационное агентство на КМВ», 2022. – С. 126-130.

76. Оценка безопасности извлечений из травы тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего при анализе общетоксического действия / А. С. Шереметьева, А. Ю. Каретникова, У. А. Матвиенко, Н. А. Дурнова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2023. – Т. 22. – № 1. – С. 175-182.

77. Оценка противоопухолевой и антикахекической активности экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) у крыс с перевитой саркомой / Н. А. Наволокин, Д. А. Мудрак, Н. А. Полуконова, [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2016. – Т. 15. – № 1. – С. 37-43.

78. Оценка цитотоксического действия экстрактов из лекарственных растений на клеточную линию М HeLa / А. А. Балакина, Е. А. Кузьмина, А. Н. Древова, [и др.] // Вестник Рязанского государственного агротехнического университета имени П. А. Костычева. – 2015. – Т. 4 – № 28. – С. 127-131.

79. Панин, А. В. Род тимьян (*Thymus* L.) в Саратовской области / А. В. Панин // Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета. – 2009. – № 8. – С. 22-25.

80. Патент № 2482863 Российская Федерация, МПК А61К 36/80(2006.01), В01D 11/02(2006.01). Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью : № 2012105384/15 : завл. 15.02.2012 : опубл. 27.05.2013 / Полуконова Н.В., Наволокин Н.А., Дурнова Н.А., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б. – 11 с.

81. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т. В. Самбукова, Б. В. Овчинников, В. П. Ганапольский, [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – №. 2. – С. 55-62.

82. Поведенческие признаки андегонии и отсутствие поведения «отчаяния» на модели старческой депрессии у 18-месячных мышей C57BL/6 / О. М. Редкозубова, А. В. Болкунов, Г. И. Ванькин, [и др.] // Патогенез. – 2013. – Т. 11. – № 1. – С. 64-69.

83. Преимущества и возможности флуоресцентных методов для визуализации апоптоза и аутофагии в опухолевых клетках человека *in vitro* / Н. А. Наволокин, Д. А. Мудрак, Н. А. Полуконова, [и др.] // Оптика и спектроскопия. – 2019. – Т. 126. – № 6. – С. 771-780.

84. Применение технологии инфракрасной сушки для обезвоживания травы тимьян Маршалла / А. С. Шереметьева, А. В. Фролкова, Н. А. Дурнова, Ю. А. Фомина, Н. Б. Шестопалова, В. Н. Стрижевская, И. В. Симакова, А. В. Никулин // Химия растительного сырья. – 2024. – № 2. – С. 365-373.

85. Разработка методики количественного анализа биологически активных веществ и оценка динамики их накопления в зависимости от фазы вегетации цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) / О. Л. Сайбель, Т. Д. Даргаева, А. Н. Цицилин, [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т. 19. – № 6. – С. 20-24.

86. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов / В. Н. Каркищенко, Г. Д. Капанадзе, С. Е. Деньгина, [и др.] // Биомедицина. – 2011. – № 1. – С. 72-74.

87. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Н. Д. Бунятян, А. Н. Васильев, О. Л. Верстакова, [и др.] ; отв. ред. А.Н. Миронов. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

88. Савков, И. А. Разработка и валидация методики количественного определения дубильных веществ в таблетках сухого экстракта листьев малины обыкновенной / И. А. Савков, О. М. Хишова // Вестник фармации. – 2022. – Т. 97. – № 3. – С. 65-72.

89. Самылина, И. А. Фармакогнозия : учебник / И. А. Самылина, Г. П. Яковлев – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 976 с.

90. Сапарклычева, С. Е. Виды тимьяна (*Thymus* L.), произрастающие на ландшафтах Урала / С. Е. Сапарклычева, Н. М. Пояркова // Вестник биотехнологии. – 2020. – Т. 22. – № 1. – С. 1.

91. Сафонова, Н. В. Обзор российского рынка растительных препаратов / Н. В. Сафонова, Е. О. Трофимова // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2021. – № 3. – С. 11-22.

92. Сергалиева, М. У. Биологическая активность экстрактов растений рода *Astragalus* / М. У. Сергалиева, М. В. Мажитова, М. А. Самотруева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 1-12.

93. Сергунова, Е. В. Перспективы использования замораживания для консервации лекарственного растительного сырья / Е. В. Сергунова, А. А. Сорокина // Фармация. – 2018. – Т. 67. – № 3. – С. 8-13.

94. Серебряная, Ф. К. Эколого-ботанический мониторинг перспективных ресурсных видов флоры Северного Кавказа / Ф. К. Серебряная // Ботаника в современном мире. Труды XIV Съезда Русского ботанического общества и конференции «Ботаника в современном мире»

(г. Махачкала, 18-23 июня 2018 г.). Т. 2: Геоботаника. Ботаническое ресурсосведение. Интродукция растений. Культурные растения. – Махачкала: АЛЕФ, 2018. – С. 195-197.

95. Середенин, С. Б. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола / С. Б. Середенин, М.В. Воронин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72. – № 1. – С. 19-21.

96. Скворцова, И. В. Флора железнодорожных насыпей южной части Приволжской возвышенности / И. В. Скворцова, М. А. Березуцкий // Поволжский экологический журнал. – 2008. – № 1. – С. 55-64.

97. Скрининговая оценка антибактериальной активности эфирных масел *Thymus serpyllum* L., *Thymus marschallianus* Willd. и *Pimpinella anisum* L. в отношении уропатогенов, выделенных от беременных женщин / О. Г. Шаповал, А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, Н. К. Мухамадиев, Г. Т. Раббимова, М. Х. Назирбеков // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2023. – Т. 18. – № 2. – С. 167-175.

98. Сметник, В. П. Опыт применения фитопрепарата «Циклодинон» («Агнукастон») у пациенток с недостаточностью функции желтого тела и гиперпролактинемией / В. П. Сметник, Л. Б. Бутарева // Проблемы репродукции. – 2005. – № 5. – С. 1-4.

99. Смирнова, Ю. А. Новые виды лекарственных растений для отечественной фармакопеи / Ю. А. Смирнова, Т. Л. Киселева // Фармация. – 2009. – № 7. – С. 6-7.

100. Совершенствование методик идентификации и установления подлинности растительного сырья, «подземные органы» пряно-ароматических культур культур / А. И. Попов, Д. Н. Шпанько, Е. А. Черкасова, [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2009. – Т. 3. – С. 75-78.

101. Современные методы оценки уровня тревожности грызунов в поведенческих тестах, основанных на моделях без предварительного обусловливания / А. Х. Каде, С. В. Кравченко, А. И. Трофименко, [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2018. – Т. 25. – № 6. – С. 171-176.

102. Содержание и антимикробная активность эфирных масел в траве тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего / А. С. Шереметьева, А. В. Фролкова, О. Г. Шаповал, Н. А. Дурнова, М. А. Березуцкий // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24. – № 3. – С. 27-32.

103. Сравнение тестов «восьмирукавный радиальный лабиринт» и «водный лабиринт Морриса» при оценке пространственной памяти у экспериментальных животных в ходе нейроповеденческого тестирования / А. М. Иптышев, Я. В. Горина, О. Л. Лопатина, [и др.] // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2017. – Т. 2. – № 2. – С. 62-68.

104. Сравнительная оценка антибактериальной активности эфирных масел *Thymus serpyllum* L., *Thymus marschallianus* Willd. и *Pimpinella anisum* L. в отношении грамотрицательных бактерий – возбудителей уроинфекций у беременных женщин / О. Г. Шаповал, А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, Н. К. Мухамадиев, Г. Т. Раббимова, М. Х. Назирбеков // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2022. – Т. 18. – № 3. – С. 63-69.

105. Сравнительное исследование антидепрессивной активности экстрактов тимьяна маршалла и тимьяна ползучего в тесте "подвешивание за хвост" на беспородных мышах-самцах / А. Ю. Каретникова, А. С. Шереметьева, А. О. Москвина, Н. А. Дурнова // Традиционная медицина. – 2022. – Т. 3. – № 69. – С. 52-58.

106. Сравнительное исследование влияния экстрактов тимьяна Маршалла на когнитивные функции мышей в радиальном лабиринте / А. С. Шереметьева, А. Ю. Каретникова, Н. А. Дурнова, А. С. Дердюк, В. И. Скиба // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2021. – Т. 19. – № 4. – С. 443-449.

107. Сравнительное фитохимическое изучение надземной части дикорастущего и культивируемого растения цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) / О. Л. Сайбель, А. И. Радимич, Г. В. Адамов, [и др.] // Химия растительного сырья. – 2020. – № 3. – С. 187-195.

108. Сравнительный анализ номенклатуры лекарственного растительного сырья, используемого в отечественной и мировой фармакопейной практике / Л. Н. Фролова, Е. Л. Ковалева, Е. И. Саканян, [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2020. – Т. 1. – № 10. – С. 29-40.

109. Сравнительный анализ химического состава эфирных масел *Thymus serpyllum* L. и *Thymus marschallianus* Willd. методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием / А. С. Шереметьева, Л. В. Караваева, Н. А. Дурнова, О. Г. Шаповал, Н. К. Мухамадиев, Г. Т. Раббимова, М. Х. Назирбеков // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27. – № 2. – С. 48-56.

110. Старчак, Ю. А. Антимикробная активность водных извлечений и эфирных масел тимьянов флоры средней полосы европейской части России / Ю. А. Старчак, В. Н. Бубенчикова // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2014. – № 6. – С. 144-147.

111. Старчак, Ю.А. Изучение анатомического строения травы тимьяна Маршалла (*Thymis marchallianus* Willd). / Ю. А. Старчак // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2014. – № 3. – С. 263-266.

112. Старчак, Ю.А. Фармакогностическое изучение растений рода тимьян (*Thymus* L.) как перспективного источника получения фитопрепаратов: специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия»: диссертация на соискание учёной степени доктора фармацевтических наук / Старчак Юлия Анатольевна; ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Курск, 2016. – 470 с.

113. Тепляшин, В. Н. Технологии и оборудование для сушки растительного сырья: учебное пособие / В. Н. Тепляшин, Л. И. Ченцова, В. Н. Невзоров. – Красноярск, Красноярский государственный аграрный университет, 2019. – 173 с.

114. Терехин, А. А. Технология возделывания лекарственных растений / А. А. Терехин, В. В. Вандышев. – М.: РУДН, 2008. – 201 с.

115. Токтоналиев, И. У. Маркетинговый анализ фармацевтического рынка фитопрепаратов в Кыргызской Республике / И.У.Токтоналиев // Уральский медицинский журнал. – 2018. – № 3. – С. 122-125.

116. Филимонова, Е.С. Формирование основ корейской традиционной медицины/ Е. С. Филимонова // Актуальные проблемы востоковедения: сборник научных трудов по итогам работы VIII Международной научно-практической конференции по востоковедению; под редакцией И.Н. Гузиной. – Хабаровск: Тихоокеанский государственный университет, 2019. – С. 120-127.

117. Филипенко, Т.А. Антиоксидантное действие экстрактов лекарственных растений и фракции их фенольных соединений / Т. А. Филипенко, Н. Ю. Грибова // Химия растительного сырья. – 2012. – № 1. – С. 77-81.

118. Фитохимический анализ и стандартизация лекарственного растительного сырья: учебно-методическое пособие / И. М. Коренская, Н. П. Ивановская, О. А. Колосова, А. А. Мальцева. – Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2017. – 78 с.

119. Флора европейской части СССР: в 11 т. Род Тимьян – *Thymus* L. / В. Н. Гладкова, Ю. Л. Меницкий (ред. Ю.Л. Меницкий); под ред. А.А. Федорова. – Л.: Наука. Ленингр. отделение, 1978. – Т. 3. – С. 191-204.

120. Фролова, Г.А. Этологические эффекты антиэстрогенного и антиандрогенного воздействия на самок и самцов белых крыс, отличающихся по уровню депрессивности / Г.А. Фролова // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2016. – № 4. – С. 110-116.

121. Шафиева, Д. З. Изучение анатомо-диагностических признаков травы тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего с помощью люминесцентной микроскопии / Д. З. Шафиева, А. С. Шереметьева. // Биологические науки: традиции, достижения, инновации: сборник

материалов I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященная 100-летию со дня рождения профессора К. А. Кузьминой. – Саратов : СГМУ им. В. И. Разумовского, 2023. – С. 58-59.

122. Шереметьева, А. С. Антимикробная активность экстракта *Thymus marshallianus* в отношении клинических штаммов *S. aureus* и *C. albicans* / А. С. Шереметьева, О. Г. Шаповал, Н. А. Дурнова // Аспирантский вестник Поволжья. – 2022. – Т. 22. – № 4. – С. 69-72.

123. Шереметьева, А. С. Антимикробная активность эфирных масел, содержащихся в траве тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего / А. С. Шереметьева // Теоретические и практические аспекты современной медицины : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания медицинского вуза в Крыму. – Симферополь: Медицинская академия им. С. И. Георгиевского, 2021. – С. 541-542.

124. Шереметьева, А. С. Влияние водного и спиртового извлечения тимьяна Маршала на когнитивные функции / А. С. Шереметьева, А. С. Бирюкова, А. А. Бабкина // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции; под общей редакцией А. С. Беленовой, А. А. Гудковой. – Воронеж: ВГУ, 2022. – С. 616-621.

125. Шереметьева, А. С. Влияние извлечений тимьяна Маршалла на опухоль печени РС-1 *in vivo* / А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, А. М. Напшева // Innovations in life sciences: сборник материалов IV международного симпозиума; отв. редактор А. А. Присный. – Белгород: НИУ «БелГУ», 2022. – С. 316-317.

126. Шереметьева, А. С. Влияние условий экстракции на качественный состав извлечений из травы тимьяна Маршалла / А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, А. В. Фролова // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2020. – Т. 9. – № S4. – С. 104-105.

127. Шереметьева, А. С. Влияние экстрактов тимьяна Маршалла на антиоксидантные процессы в опыте *in vivo* и *in vitro* / А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, Ю. Г. Чернышева // Аспирантский вестник Поволжья. – 2021. – № 5-6. – С. 127-131

128. Шереметьева, А. С. Влияние эфирных масел *Thymus serpyllum* и *Thymus marshallianus* на клинические штаммы / А. С. Шереметьева, О. Г. Шаповал, Н. А. Дурнова // От биохимии растений к биохимии человека : сборник материалов Международной научной конференции. – Москва : ФГБНУ ВИЛАР, 2022. – С. 432-434.

129. Шереметьева, А. С. Изменение уровня глюкозы в крови мышей под влиянием экстрактов тимьяна Маршалла / А. С. Шереметьева, А. Ю. Каретникова // Студенческая медицинская наука XXI века. VI Форум молодежных научных обществ : материалы XXI

международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых и VI Форума молодежных научных обществ. – Витебск : Витебский государственный медицинский университет, 2021. – С. 885-887.

130.Шереметьева, А. С. Изучение анксиолитической активности экстрактов тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» и «тёмно-светлая камера» / А. С. Шереметьева, А. Ю. Каретникова, Н. А. Дурнова // Биологические науки: традиции, достижения, инновации : сборник материалов I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященная 100-летию со дня рождения профессора К.А. Кузьминой. – Саратов : СГМУ им. В. И. Разумовского, 2023. – С. 88-89.

131.Шереметьева, А. С. Исследование антимикробной активности водно-спиртового экстракта тимьяна Маршалла / А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, С. В. Райкова // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения. – М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2019. – С. 509-514.

132.Шереметьева, А. С. Противоопухолевая активность *in vivo* водного и спиртового экстрактов *Thymus marschallianus* Willd / А. С. Шереметьева, А. М. Напшева, Н. А. Дурнова // Фармация и фармакология. – 2021. – Т. 9. – № 6. – С. 476-484.

133.Шереметьева, А. С. Ресурсный потенциал тимьяна Маршалла, произрастающего на территории Гагаринского района Саратовской области / А. С. Шереметьева, А. А. Бабкина, Н. А. Дурнова // Интеграционные связи фармацевтической экологии – 2023. – М.: Издательство Сеченовского Университета, 2024. – С. 116-118.

134.Шереметьева, А. С. Содержание эфирных масел в траве разных видов рода тимьян (*Thymus* L.) / А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, М. А. Березуцкий // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 15-19.

135.Шереметьева, А.С. Влияние условий экстракции на качественный состав извлечений из травы тимьяна Маршалла / А.С. Шереметьева, А.В. Фролкова, Н.А. Дурнова // Гармонизация подходов к фармацевтической разработке : сборник тезисов III Международной научно-практической конференции. – Москва : Российский университет дружбы народов, 2020. – С. 133-136.

136.Шереметьева, А.С. Сравнительный анализ антидепрессивной активности экстрактов из тимьяна Маршалла и тимьяна ползучего с использованием теста Порсолта / А. С. Шереметьева, А. Ю. Каретникова, Н. А. Дурнова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2023. – Т. 18. – № 4 (106). – С. 66-71.

137.Эффективность применения эфирных масел при вульво-вагинальных инфекциях у беременных / Г. Т. Раббимова, Н. К. Мухамадиев, Н. Р. Насимова, Н. А. Дурнова, А. С. Шереметьева // Новый день в медицине. – 2021. – Т. 38. – № 6-1. – С. 390-394.

138. A comprehensive review of clinical studies with herbal medicine on polycystic ovary syndrome (PCOS) / A. Moini Jazani, H. Nasimi Doost Azgomi, A. Nasimi Doost Azgomi, [et al.] // DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2019. – Vol. 27. – P. 863-877.

139. A proprietary extract from the echinacea plant (*Echinacea purpurea*) enhances systemic immune response during a common cold / V. Goel, R. Lovlin, C. Chang, [et al.] // Phytotherapy Research. – 2005. – Vol. 19. – № 8. – P. 689-694.

140. A randomised double-blind placebo-controlled pilot trial of a combined extract of sage, rosemary and melissa, traditional herbal medicines, on the enhancement of memory in normal healthy subjects, including influence of age / N. S. L. Perry, R. Menziesb, F. Hodgsonb, [et al.] // Phytomedicine. – 2018. – Vol. 39. – P. 42-48.

141. A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. / S. M. Patil, R. Ramu, P. S. Shirahatti, [et al.] // Heliyon. – 2021. – Vol. 7. – № 5. – P. e07054.

142. Afonso, A. F. Health-promoting effects of *Thymus* phenolic-rich extracts: Antioxidant, anti-inflammatory and antitumoral properties / A. F. Afonso, O. R. Pereira, S. M. Cardoso // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9. – № 9. – P. 814-834.

143. Aljabeili, H. S. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) / H. S. Aljabeili, H. Barakat, H. A. Abdel-Rahman // Food and Nutrition Sciences. – 2018. – Vol. 9. – № 5. – P. 433-446.

144. Antibacterial activity evaluation of selected essential oils in liquid and vapor phase on respiratory tract pathogens / K. Acs, V. L. Balazs, B. Kocsis, [et al.] // BMC complementary and alternative medicine. – 2018. – Vol. 18. – P. 1-9.

145. Antibacterial and biofilm inhibitory activity of medicinal plant essential oils against *Escherichia coli* isolated from UTI patients / R. Lagha, F. Ben Abdallah, B.O. AL-Sarhan, [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24. – № 7. – P. 1161-1173.

146. Anticancer activities of *Thymus vulgaris* L. in experimental breast carcinoma in vivo and in vitro / P. Kubatka, S. Uramova, M. Kello, K., [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20. – № 7. – P. 1749-1778.

147. Anticancer agents and phytotherapy: Interactions that are often unrecognized / V. Laurent, J. Saillard, M. Thierry, [et al.] // Journal of Oncology Pharmacy Practice. – 2021. – Vol. 27. – № 2. – P. 322-328.

148. Anti-cancer and anti-oxidant properties of ethanolic leaf extract of *Thymus vulgaris* and its bio-functionalized silver nanoparticles / Z. Heidari, A. Salehzadeh, S. A. Sadat Shandiz, [et al.] // 3 Biotech. – 2018. – Vol. 8. – № 3. – P. 1-14.

149. Antifungal activity of essential oils against *Candida* species isolated from clinical samples / S. Cordoba, W. Vivot, W. Szusz, [et al.] // *Mycopathologia*. – 2019. – Vol. 184. – P. 615-623.
150. Anti-inflammatory action ferulic acids / T. Hirabayashi, H. Ochiai, S. Sakai, [et al.] // *Planta medica*. – 1995. – Vol. 61. – № 3. – P. 221-226.
151. Antimicrobial activity of *Thymus serpyllum* L. and *Thymus marschallianus* Willd. essential oils against *Candida albicans* / O. G. Shapoval, A. S. Sheremetyeva, N. A. Durnova, N. Q. Mukhamadiev, G. T. Rabbimova, M. H. Nazirbekov // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2023. – P. 1449-1453.
152. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: a systematic review / M. Valdivieso-Ugarte, C. Gomez-Llorente, J. Plaza-Diaz, [et al.] // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11. – № 11 – P. 2786-2815.
153. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition / S. Moreno, T. Scheyer, C. S. Romano, [et al.] // *Radical Research*. – 2006. – Vol. 40. – № 2. – P. 223-231.
154. *Apium graveolens* extract influences mood and cognition in healthy mice / P. Boonruamkaew, W. Sukketsiri, P. Panichayupakaranant, [et al.] // *Journal of natural medicines*. – 2017. – Vol. 71. – P. 492-505.
155. Binutu, O. A. Antibacterial and antifungal compounds from *Kigelia pinnata* / O. A. Binutu, K. E. Adesogan, J. I. Okogun // *Planta-Med*. – 1996. – Vol. 62. – № 4. – P. 352-353.
156. Biological activity of *Thyme white* essential oil stabilized by cellulose nanocrystals / J. Shin, K. Na, S. Shin, [et al.] // *Biomolecules*. – 2019. – Vol. 9. – № 12. – P. 799-813.
157. Caffeine prevents memory impairment induced by hyperhomocysteinemia / K. H. Alzoubi, N. M. Mhaidat, E. A. Obaid, [et al.] // *Journal of molecular neuroscience*. – 2018. – Vol. 66. – P. 222-228.
158. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco / B. Imelouane, H. Amhamdi, J. P. Wathelet, [et al.] // *International Journal Of Agriculture & Biology*. – 2009. – Vol. 11. – № 2. – P. 205-208.
159. Chemical composition and bioactivity of essential oils and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. Reut. from the Algerian Saharan Atlas / M. Rezzoug, B. Bakchiche, A. Gherib, [et al.] // *BMC complementary and alternative medicine*. – 2019. – Vol. 19. – № 1. – P. 1-10.
160. Clovamide and rosmarinic acid induce neuroprotective effects in vitro on neuronal death models / S. Fallarini, G. Miglio, T. Paoletti, [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 2009. – № 157. – P. 1072-1084.

161. Colalto, C. What phytotherapy needs: Evidence-based guidelines for better clinical practice / C. Colalto // *Phytotherapy research*. – 2018. – Vol. 32. – № 3. – P. 413-425.

162. Comparative analysis of the antimicrobial activity of essential oils and their formulated microemulsions against foodborne pathogens and spoilage bacteria / R. Campana, M. Tiboni, F. Maggi, [et al.] // *Antibiotics*. – 2022. – Vol. 11. – № 4. – P. 447.

163. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of some *Lamiaceae* species essential oils from Tunisia / S. Moumni, A. Elaissi, A. Trabelsi, [et al.] *BMC complementary medicine and therapies*. – 2020. – Vol. 20. – C. 103-118.

164. Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines / H. Niksic, F. Becic, E. Koric, [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 1-9.

165. Differential localization of flavonoid glucosides in an aquatic plant implicates different functions under abiotic stress / L. Böttner, V. Grabe, S. Gablenz, [et al.] // *Plant, cell & environment*. – 2021. – Vol. 44. – № 3. – P. 900-914.

166. Donaldson, L. Autofluorescence in plants / L. Donaldson // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – № 10. – P. 2393-2413.

167. Doosti, M. H. The effect of ethanolic extract of *Thymus kotschyanus* on cancer cell growth in vitro and depression-like behavior in the mouse / M. H. Doosti, K. Ahmadi, M. Fasihi-Ramandi // *Journal of traditional and complementary medicine*. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 89–94.

168. Edeas, M. Antivirus action of herbs containing polyphenolic connections / M. Edeas // *Seances Soc. Biol. Fil.* – 1995. – Vol. 189. – № 3. – P. 367–373.

169. Effect of different format-solvent rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis*) in frozen chicken nuggets quality / R. M. Rocio-Teruel, M. D. Garrido, M. C. Espinosa, [et al.] // *Food Chemistry*. – 2015. – Vol. 172. – P. 40-46.

170. Effects of *Centella asiatica* (L.) Urb. on cognitive function and mood related outcomes: a systematic review and meta-analysis / P. Puttarak, P. Dilokthornsakul, S. Saokaew, [et al.] // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 1-12.

171. Effects of *Thymus serpyllum* extract on cell proliferation, apoptosis and epigenetic events in human breast cancer cells / E. Bozkurt, H. Atmaca, A. Kisim, [et al.] // *Nutrition and cancer*. – 2012. – Vol. 64. – № 8. – P. 1245-1250.

172. Essential oils and their components are a class of antifungals with potent vapour-phase-mediated anti-Candida activity / A. F. Feyaerts, L. Mathe, W. Luyten, [et al.] // *Scientific reports*. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 3958-3968.

173. Farrington, R. Evidence for the efficacy and safety of herbal weight loss preparations / R. Farrington, I. F. Musgrave, R. W. Byard // *Journal of integrative medicine*. – 2019. – Vol. 17. – № 2. – P. 87-92. очаговое полнокровие центральной вены

174. Huang, S. Concentrations and antioxidant activity of anserine and carnosine in poultry meat extracts treated with demineralization and papain / S. Huang, J. C. Kuo // *Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life sciences*. – 2000. – Vol. 24. – № 4. – P. 193-201.

175. Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolics caffeic, ellagic, chlorogenic and ferulic acids / T. Tanaka, T. Kojima, T. Kawamori, [et al.] // *Carcinogenesis*. – 1993. – Vol. 14. – № 7. – P. 1321-1325.

176. Investigation of Kazakhstani flora. I. GC/MS analysis of *Thymus marschallianus* Willd essential oil obtained by supercritical CO₂ extraction / E. M. Suleimenov, S. Machmudah, M. Yu. Ishmuratova, [et al.] // *Химия растительного сырья*. – 2010. – № 1. – С. 161-163.

177. Jafri, H. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. / H. Jafri, I. Ahmad // *Journal de mycologie Medicale*. – 2020. – Vol. 30. – № 1. – С. 100911-100929.

178. Jang, Y.G. Rosmarinic acid, a component of rosemary tea, induced the cell cycle arrest and apoptosis through modulation of HDAC2 expression in prostate cancer cell lines/ Y. G. Jang, K. A. Hwang, K. C. Choi // *Nutrients*. – 2018. – Vol. 10. – № 11. – P. 234-254.

179. Kulišić, T. Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, thyme and wild thyme / T. Kulišić, V. Dragović-Uzelac, M. Miloš // *Food Technology & Biotechnology*. – 2006. – Vol. 44. – № 4. – P. 485-492.

180. Liu, J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid / J. Liu // *Journal of ethnopharmacology*. – 1995. – Vol. 49. – № 2. – P. 57-68.

181. Lopresti, A. L. alvia (Sage): A review of its potential cognitive-enhancing and protective effects / A. L. Lopresti // *Drugs in R&D*. – 2017. – Vol. 17. – № 1. – P. 53–64.

182. Mahdavi, V. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger / V. Mahdavi, S. E. Hosseini, A. Sharifan // *Food science & nutrition*. – 2018. – Vol. 6. – № 2. – P. 269-279.

183. Miura, K. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method / K. Miura, H. Kikuzaki, N. Nakatani // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2002. – № 7. – P. 1845-1851.

184. Moazzen A. et al. Structure-antiradical activity relationships of 25 natural antioxidant phenolic compounds from different classes // *Heliyon*. – 2022. – T. 8. – № 9.

185. Morteza-Semnani, K. Effects of essential oils and extracts from certain *Thymus*. Species on swimming performance in mice / K. Morteza-Semnani, M. Mahmoudi, G. Riahi // *Pharmaceutical Biology*. – 2007. – Vol. 45 – № 6. – P. 464-467.
186. Nandagopal, S. Phytochemical and antibacterial studies of Chicory (*Cichorium intybus* L.) –A multipurpose medicinal plant / S. Nandagopal, B. D. Ranjitha Kumari // *Advances in Biological Research*. – 2007. – Vol. 1. – № 1-2. – P. 17-21.
187. Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications / J. Chen, S. Mangelinckx, A. Adams, [et al.] // *Natural product communications*. – 2015. – Vol. 10. – № 1. – P. 187-200.
188. Ovesna, Z. Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells / Z. Ovesna, K. Kozics, D. Slamenova // *Mutation Research*. – 2006. – Vol. 600. – № 1-2. – P. 131–137.
189. Ozaki, Y. Antiinflammatory effect of tetramethylpyrazine and ferulic acid / Y. Ozaki // *Chemical and pharmaceutical bulletin*. – 1992. – Vol. 40. – № 4. – P. 954-956.
190. Patel, D. S. Evaluation of in vitro antioxidant and free radical scavenging activities of *Withania somnifera* and *Aloe vera* / D. S. Patel, P. B. Shah, N. B. Managoli // *Asian Journal of Pharmacy and Technology* – 2012. – T. 2. – № 4. – P. 143-147.
191. Phytochemical constituents as future antidepressants: a comprehensive review / R. Bahramsoltani, M. Farzaei, M. Farahani, [et al.] // *Reviews in the Neurosciences*. – 2015. – Vol. 26. – № 6. – P. 699-719.
192. Phytochemical fingerprinting and in vitro antimicrobial and antioxidant activity of the aerial parts of *Thymus marschallianus* Willd. and *Thymus seravschanicus* Klokov growing widely in southern Kazakhstan / B. S. Zhumakanova, I. Korona-Główniak, K. Skalicka-Woźniak, [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 11. – P. 3193-3206.
193. Phytochemical profile and antimicrobial potential of extracts obtained from *Thymus marschallianus* Willd. / M. Niculae, D. Hanganu, I. Oniga, [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24. – № 17. – P. 3101-3113.
194. Phytotherapy in endometriosis: an up-to-date review / L. Della Corte, M. Noventa, M. Ciebiera, [et al.] // *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. – 2020. – Vol. 17. – № 3. – P. 84.
195. Phytotherapy in obstetrics—therapeutic indications, limits, and dangers / C. Grigoriu, V. Varlas, G. Calinescu, [et al.] // *Journal of Medicine and Life*. – 2021. – Vol. 14. – № 6. – P. 748-755.
196. Phytotherapy in the management of denture stomatitis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / Y. Shui, J. Li, X. Lyu, [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2021. – Vol. 35. – № 8. – P. 4111-4126.

197. Phytotherapy in the management of diabetes: a review / P. Governa, G. Bainsi, V. Borgonetti, [et al.] // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23. – № 1. – P. 105-127.

198. Posadzki, P. Adverse effects of herbal medicines: an overview of systematic reviews / P. Posadzki, L. K. Watson, E. Ernst *Clinical medicine*. – 2013. – Vol. 13. – № 1. – P. 7-12.

199. Rauha, J.-P. The search for biological activity in Finnish plant extracts containing phenolic compounds : academic dissertation / Jussi-Pekka Rauha ; University of Helsinki. – Helsinki, 2001. – 72 p.

200. Rosmarinic acid attenuates cell damage against UVB radiation-induced oxidative stress via enhancing antioxidant effect in human HaCaT cells / P. M. Fernando, M. J. Piao, K. A. Kang, [et al.] // *Biomolecules & Therapeutics*. – 2016. – №24. – P. 75-84.

201. Sakkas, H. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils / H. Sakkas, C. Papadopoulou // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2017. – Vol. 27. – № 3. – P. 429-438.

202. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method / L. L. Mensor, F. S. Menezes, G. G. Leitao, [et al.] // *Phytotherapy research*. – 2001. – Vol. 15. – № 2. – P. 127-130.

203. 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. – Vol. 121. – № 6. – P. 1530-1545.

204. Somova, L. O. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension / L. O. Somova // *Phytomedicine*. – 2003. – №10. – P. 115–121.

205. Subcritical water extraction of rosmarinic acid from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) and its effect on plant cell wall constituents / A. Atanasova, A. Petrova, D. Teneva, [et al.] // *Antioxidants*. – 2023. – Vol. 12. – № 4. – P. 888-903.

206. Sultana, N. Oleanolic acid and related derivatives as medicinally important compounds / N. Sultana, A. Ata // *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. – 2008. – Vol. 23. – № 6. – P. 739-756.

207. Sun, H. Structure-activity relationships of oleanane- and ursane type triterpenoids / H. Sun, W. Z. Wang, C. Hu // *Botanical Studies*. – 2006. – № 47. – P. 339-368.

208. Targeting oxidative stress reduction and inhibition of HDAC1, MECP2, and NF- κ B pathways in rats with experimentally induced hyperglycemia by administration of *Thymus marschallianus* Willd. extracts / A. C. Sevastre-Berghian, I. Ielciu, A. O. Mitre, [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1-18.

209. Thymol and thyme essential oil – new insights into selected therapeutic applications / A. Kowalczyk, M. Przychodna, S. Sopata, [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – № 18. – P. 4125-4142.

210. Thymol Isolated from *Thymus vulgaris* L. inhibits colorectal cancer cell growth and metastasis by suppressing the Wnt/ β -catenin pathway / Q. Zeng, Y. Che, Y. Zhang, [et al.] // *Drug Design, Development and Therapy*. – 2020. – Vol. 14. – P. 2535-2547

211. Tohidi, B. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran / B. Tohidi, M. Rahimmalek, A. Arzani // *Food chemistry*. – 2017. – Vol. 220. – P. 153-161.

212. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Thymus broussonetii* / H. Ismaili, S. Sosa, D. Brkic, [et al.] // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2010. – Vol. 54. – № 8. – P. 1137–1140.

213. Tran, H. N. H. In vitro antifungal activity of *Cinnamomum zeylanicum* bark and leaf essential oils against *Candida albicans* and *Candida auris* / H. N. H. Tran, L. Graham, E. C. Adukwu // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2020. – Vol. 104. – P. 8911-8924.

214. Vaiciulyte, V. Impact of edaphic and climatic factors on *Thymus pulegioides* essential oil composition and potential prevalence of chemotypes / V. Vaiciulyte, K. Loziene, R. Taraskevicius // *Plants*. – 2022. – Vol. 11. – № 19. – P. 2536-2560.

215. Wu, D. F. Sodium ferulate alleviates prednisolone induced liver toxicity in mice / D. F. Wu, R.X. Peng, H. Wang // *Yao xue xue bao=Acta Pharmaceutica Sinica*. – 1995. – Vol. 30. – №11. – P. 801–805.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе –
 директор института подготовки кадров
 высшей квалификации и ДПО
 ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ
 им. В.И.Разумовского Минздрава России
 д-р мед. наук, профессор

И.О. Бугаева



« 09 » февраля 20 24 г.

АКТ
 О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НИР В ПРАКТИКУ УЧЕБНОЙ РАБОТЫ
 № 1118

1. Наименование кафедры, дисциплины:
Кафедра общей биологии, фармакогнозии и ботаники. Наименование цикла «Эфирномасличное сырье и эфирные масла в медицине и фармации».
 2. Курс, факультет:
Дополнительная профессиональная программа повышения квалификации для специалистов с высшим фармацевтическим образованием 36 часов.
 3. Место и время использования (лекция, практическое занятие):
Институт подготовки кадров высшей квалификации и дополнительного профессионального образования – центр дополнительного профессионального образования. 09.10. - 13.10.2023; 13.11. - 17.11.2023; 04.12. - 08.12.2023 лекция, практическое занятие
 4. Краткая аннотация:
Дополнительная профессиональная образовательная программа повышения квалификации «Эфирномасличное сырье и эфирные масла в медицине и фармации» имеет своей целью повышение квалификации, в ходе которого идет совершенствование и расширение знаний об эфирномасличном растительном сырье и биологически активных соединениях на его основе; овладение комплексом знаний в области использования растительного сырья в медицинской и фармацевтической практике.
 В программе рассматриваются современные представления о биологической активности, качественном и количественном анализе и использовании эфирных масел и эфирномасличного сырья.
 5. Форма внедрения:
Дополнительная профессиональная программа повышения квалификации
- Автор: Шереметьева Анна Сергеевна, старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники
 Ф.И.О., должность, ученая степень, подразделение
- Заведующий кафедрой: Дурнова Наталья Анатольевна, д.б.н., доцент
 Ф.И.О., должность, ученая степень
- Заведующий учебной частью кафедрой: Белоногова Юлия Владимировна, к.б.н.
 Ф.И.О., должность, ученая степень
- Директор ДООД
 канд.социол. наук, доцент Н.А. Клоктунова
- Дата: « 09 » февраля 20 24 г.

**Проект инструкции по сбору и сушке
травы тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.)**

Тимьян Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) – многолетний полукустарничек. Стебли короткие, почти неразвитые, у основания приподнимающиеся или прямостоячие, одревесневшие; опушение стеблей равномерное отстоящими волосками особенно заметными под соцветием; цветоносные ветви 12-37 см, обычно около 25 см высотой. Листья светло-зеленые, сидячие, продолговато эллиптические, 12,5-30 мм длиной, 2,5-7,5 мм шириной, с клиновидным основанием и слегка заостренной верхушкой, голые или рассеянно волосистые, по краю у основания с редкими ресничками, точечные желёзки многочисленные, мелкие и малозаметные. Цветки мелкие, собраны в полумутовки. Соцветия цилиндрические, прерывистые, удлинённые, до 18 см, цветоножки опушены. Чашечка колокольчатая, длиной около 2,5 мм длиной, имеющая короткую волосистую трубочку. Зубчики верхней губы чашечки имеют остроугольную форму, почти одинаковые, край их длиннореснитчатый. Венчик воронковидный, около 5 мм длиной, имеющий мало заметную трубку, бледно-лилового цвета. Плод – ценобий. Плодики – орешки, шаровидной формы, 0,5-0,7 мм в диаметре, почти черные (Рисунок А.1).

Цветет тимьян Маршалла в июне – июле, плоды созревают в августе. Размножение семенами и вегетативно с помощью укореняющихся побегов.



А



Б

Рисунок А.1 – Внешний вид: А – цветущего *Th. marschallianus*; Б – соцветие *Th. marschallianus*

Тимьян Маршалла распространен в южной полосе Европейской части России, в Предкавказье, в лесостепной и степной зонах Западной Сибири. В Средней России встречается

во всех областях черноземной полосы. Произрастает на лугах, в степях, степных склонах, опушках и полянах, степных дубравах, реже каменистых обнажениях.

В качестве лекарственного растительного сырья заготавливают траву, получаемую после обмолота срезанных надземных цветущих побегов тимьяна Маршалла. Сырье заготавливают в фазе цветения растения (июне – июле) в сухую погоду, срезая верхние части облиственных побегов без грубых одревесневших оснований стеблей. Не следует выдергивать растение с корнями, т.к. это ведет к уничтожению его зарослей. Естественную сушку сырья тимьяна Маршалла осуществляют в тени, в хорошо проветриваемых помещениях, на чердаках или под навесами разложив его тонким слоем толщиной 5-7 см и периодически перемешивая. В сушилках сырье следует сушить при температуре 35-40°C. Сушку прекращают, когда листья и цветки при перемешивании начинают легко осыпаться и растираются пальцами в порошок.

Цельное сырье тимьяна Маршалла состоит из смеси тонких стеблей, листьев и цветкови (Рисунок А.2). Листья и чашечка зеленые, венчик лиловый. Стебли округлочетырехгранные, опушение равномерное отстоящими волосками особенно заметными под соцветием. Листья сидячие, продолговато эллиптические, 12,5-30 мм длиной, 2,5-7,5 мм шириной, с клиновидным основанием и слегка заостренной верхушкой. При рассмотрении под лупой (10х) или стереомикроскопом (16х) листья голые или рассеянно волосистые, по краю у основания с редкими ресничками, по всей поверхности листа видны точечные многочисленные коричневатые эфиромасличные железки. Цветки мелкие, собраны в полумутовки. Соцветия цилиндрические, прерывистые, удлинённые, до 18 см, цветоножки опушены. Чашечка колокольчатая, длиной около 2,5 мм длиной; зубчики верхней губы чашечки имеют остроугольную форму, почти одинаковые, край их длиннореснитчатый. Венчик воронковидный, имеющий мало заметную трубку, бледно-лилового цвета. Цвет листьев светло-зеленый, чашечки – светло-зеленый, зубцы темно зеленые, иногда пурпуровые, венчика – бледно-лиловый. Запах ароматный, вкус водного извлечения горьковато-пряный.



Рисунок А.2 – Внешний вид высушенного цельного сырья *Th. marschallianus*

Числовые показатели: экстрактивных веществ, извлекаемых водой – не менее 18%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 30% – не менее 18%, суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин- 7-О-глюкозид – не менее 0,9%; влажность не более 13%, общей золы не более 12%, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте растворе 10% – не более 5%, кусочки стеблей толщиной более 0,5 мм – не более 10%, органической примеси (части других неядовитых растений) – не более 1%, минеральной примеси земля, песок, камешки) – не более 1%. Не допускается наличие в сырье ядовитых растений и их частей, помета грызунов и птиц, плесени и гнили, а также устойчивого постороннего запаха, не исчезающего при проветривании.

Готовое сырье упаковывают в тюки по 40-50 кг или мешки по 15-20 кг. Транспортирование осуществляют всеми видами транспорта в чистых, сухих, без постороннего запаха, не зараженных амбарными вредителями транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующих на транспорте конкретных видов. Хранят цельное сырье на стеллажах в сухих, хорошо проветриваемых помещениях. Срок годности сырья 2 года.

Трава тимьяна Маршалла обладает антимикробной, антирадикальной, отхаркивающей, противовоспалительной, противоопухолевой активностью.

УТВЕРЖДАЮПроректор по научной работе
ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ

им. В.И. Разумовского

Минздрава России

д-р мед. наук, доцент

А.С. Федонников

2024 г.**АКТ О ВНЕДРЕНИИ
РЕЗУЛЬТАТОВ НИР В ПРАКТИКУ НАУЧНОЙ РАБОТЫ**№ 166

1. Наименование предложения:

ТУ 01.28.30-002-37799972-2022 Трава тимьяна Маршалла высушенная.

2. Краткая аннотация:

Настоящие технические условия распространяются на высушенную цельную и измельченную траву многолетних травянистых растений тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.), сем. Яснотковых – *Lamiaceae*, предназначенную для использования в качестве растительного сырья в фармацевтической и пищевой промышленности.

3. Эффект от внедрения:

Апробация разработанных технологий в производственных условиях, выпуск небольших партий продукции.

4. Место и время использования предложения:

Научно-производственный центр технологий здорового питания Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Срок действия с 20.08.2022 г. без ограничений

5. Название кафедры:

Общей биологии, фармакогнозии и ботаники

6. Тематика научного направления:

АААА-А20-120011590047-2 Получение и исследование экстрактов растений, и установление влияния их химического состава на биологическую активность

Автор: Шереметьева Анна Сергеевна, старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники

(Ф.И.О., должность, ученая степень, подразделение)

Заведующий кафедрой: Дурнова Наталья Анатольевна, д.б.н., доцент

(Ф.И.О., должность, ученая степень)

Директор научно-образовательного центра
клинических и биомедицинских исследований

канд. мед. наук Т.Ю. Калюта

Дата: «09» 02 2024 г.

ТУ 01.28.30 - 001 – 37799972 - 2022

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «ЗДОРОВОЕ
ПИТАНИЕ»

ОКПД 2 01.28.30.120

Группа Р 64

ОКС: 11.120.99

УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО «Здоровое питание»

И.В. Симакова
« 20 » августа 2022




**ТРАВА ТИМЬЯНА МАРШАЛЛА
ВЫСУШЕННАЯ**

Технические условия

ТУ 01.28.30- 002 – 37799972 - 2022

Дата введения в действие «20» августа 2022
Срок действия (без ограничений)

РАЗРАБОТАНО
МИП ООО «Здоровое питание»


д.т.н., профессор
И.В. Симакова


к.т.н., доцент
В.Н. Стрижевская


Шереметьева А.С.

Саратов 2022

1 Область применения

Настоящие технические условия распространяются на высушенную цельную и измельченную траву многолетних травянистых растений тимьяна Маршалла – *Thymus marschallianus* Willd., сем. Яснотковых – *Lamiaceae*, предназначенную для использования в качестве растительного сырья в фармацевтической и пищевой промышленности.

Обязательные требования к продукции, направленные на обеспечение ее безопасности для жизни, здоровья населения, изложены в таблице 1.

2 Требования к качеству и безопасности

2.1 Травя тимьяна Маршалла должна соответствовать требованиям настоящих технических условий и изготавливаться с соблюдением требований ГОСТР 59425-2021 Продукция органическая из дикорастущего сырья. Правила сбора, заготовки, переработки, хранения, транспортирования и маркировки [1], Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» [2] и Технического регламента Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [3] по технологической инструкции, утвержденной в установленном порядке.

2.1.1 Травя тимьяна Маршалла должна быть собрана во время цветения, при этом при сборе надземная часть должна быть срезана до одревесневшей части, подвергнута обезвоживанию и по показателям качества соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Характеристика и норма для сырья	
	цельного	измельченного
1. Внешний вид	Смесь цельных или частично измельченных тонких стеблей, листьев и цветков. Стебли четырехгранные, тонкие, покрыты волосками. Листорасположение – супротивное. Листья простые, сидячие, ланцетные. Под лупой или стереомикроскопом по всей поверхности листа видны многочисленные коричневые точки – эфиромасличные железки, у основания листьев – редкие длинные волоски. Цветки мелкие, собраны в полумутовки. Венчик двугубый, чашечка опушенная.	Кусочки стеблей, листьев, цветков, размером 0,18-3,0 мм. Под лупой или стереомикроскопом должны быть видны признаки цельного сырья.

ТУ 01.28.30 - 001 – 37799972 - 2022

	Допускается деформация высушенного сырья.	
2. Цвет		
стеблей	От сизовато-зеленого до серовато-зеленого	
листьев	От зеленого до серовато-зеленого	
лепестков	От светло-лилового до лилового	
3. Запах	Характерный, ароматный, свойственный данному сырью, без посторонних запахов	
4. Вкус	горьковато-пряный	
5. Влажность, %, не более	13,0	
6. Массовая доля суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид, %, не менее	0,9	
7. Массовая доля экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом 70%, , %, не менее	25,0	
8. Массовая доля экстрактивных веществ, извлекаемых водой, %, не менее	18,0	
9. Массовая доля эфирного масла, %, не менее	0,1	
10. Массовая доля золы, нерастворимой в 10%-ном растворе хлористоводородной кислоты, %, не более	5,0	
11. Массовая доля частиц, более 7,0/3,0 мм, %, не более	5,0	5,0
12. Массовая доля частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3,0/0,18 мм, %, не более	5,0	5,0
13. Массовая доля посторонних примесей:		
органической (части других неядовитых растений), %, не более	1,0	
минеральной (земля, песок, камешки), %, не более	1,0	

2.1.2 Не допускается II и III степени зараженности сырья амбарными вредителями, а также наличие в сырье ядовитых растений и их частей, помета грызунов и птиц, плесени и гнили, устойчивого постороннего запаха, не исчезающего при про встряхивании.

3 Идентификационные характеристики

Анатомическое строение травы тимьяна Маршалла должно соответствовать следующему описанию.

Лист: При рассмотрении листа с поверхности видны извилистые клетки верхнего и нижнего эпидермиса. Устьица диацитного типа имеются на обеих сторонах листовой пластинки, на нижней стороне их значительно больше. Эфиромасличные железки крупные, состоят из 8 выделительных клеток, расположенных радиально; клетки эпидермиса вокруг места прикрепления железки образуют розетку. Волоски 3-х типов: у края листа простые одноклеточные со слегка бугристой поверхностью, расположенные под углом по отношению поверхности листа; у основания листовой пластинки – простые толстостенные одноклеточные с заостренной верхушкой и неровной поверхностью и простые 2-5-х клеточные (рис. 1 А).

Стебель: Клетки эпидермиса стебля прямоугольные с утолщением клеточных стенок. Эпидермис опушен волосками 4-х типов: в межреберье – простыми одноклеточными толстостенными колпачковидной формы с неровной поверхностью, у основания которых может находиться цистолит; простыми 1-2-х клеточными толстостенными с неровной поверхностью; простыми многоклеточными с неровной поверхностью с зернистым содержимым, расположенными в большей степени на ребрах; головчатыми на одноклеточной ножке. Встречаются эфиромасличные железки (рис. 1 Б).

Чашечка: клетки эпидермиса листочков чашечки извилистые; волоски 4 типов: в основании зубцов чашечки – простые многоклеточные с гладкой кутикулой и заостренной верхушкой; по краю зубцов – простые многоклеточные толстостенные с неровной поверхностью; в основании – простые многоклеточные тонкостенные с тупой закругленной верхушкой и головчатые волоски на одно- или двухклеточной ножке. По эпидермису чашечки встречаются эфиромасличные железки (рис. 1 В).

Венчик: Эпидермис трубки венчика прямостенный, где встречаются мелкие кристаллы. Нижняя и верхняя губы покрыты эпидермисом, образующим сосочковидные выросты, имеются одноклеточные и многоклеточные простые волоски с неровной поверхностью. Головчатые волоски двух типов: с одноклеточной головкой, на одноклеточной или на многоклеточной ножке (рис. 1 Г, Д).

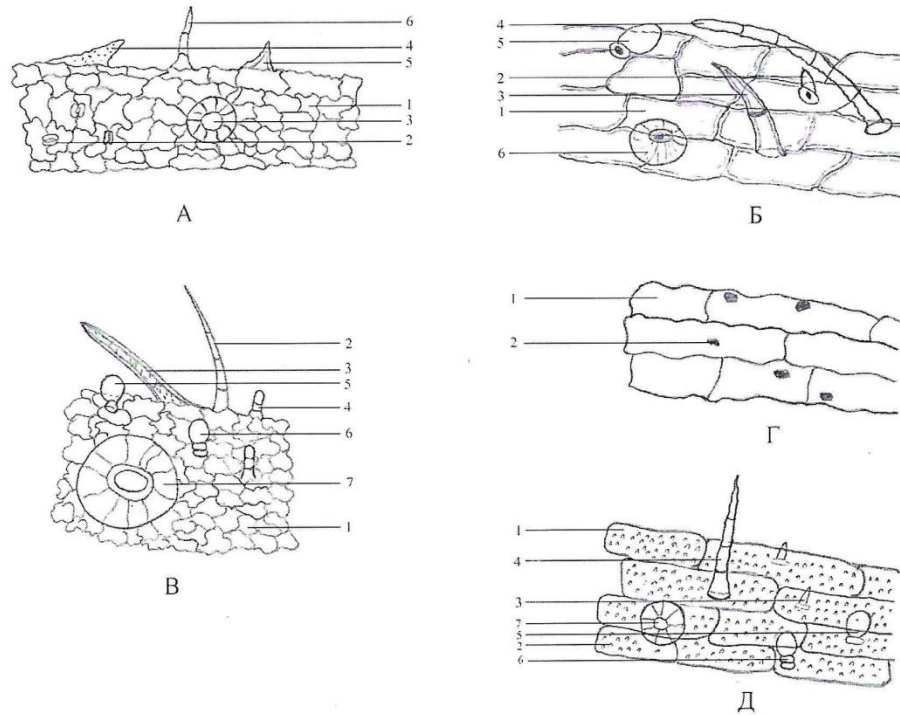


Рис. 1. Схема анатомического строения травы тимьяна Маршалла: А – лист: 1 – извилистые клетки эпидермиса, 2 – устьица диацитного типа, 3 – эфиромасличные железы, 4 – одноклеточные волоски со слегка бугристой поверхностью, расположенные под углом по отношению поверхности листа, 5 – простые толстостенные одноклеточные волоски с заостренной верхушкой и неровной поверхностью, 6 – простые 2-5-х клеточные волоски; Б – стебель: 1 – прямоугольные клетки эпидермиса стебля с утолщением клеточных стенок, 2 – простые одноклеточные толстостенные волоски колпачковидной формы с неровной поверхностью, 3 – простые 1-2-х клеточные толстостенные волоски с неровной поверхностью, 3 – простые многоклеточные волоски с неровной поверхностью с зернистым содержимым, 4 – головчатые волоски на одноклеточной ножке, 5 – эфиромасличные железы; В – чашечка: 1 – извилистые клетки эпидермиса; 2 – простые многоклеточные волоски с гладкой кутикулой и заостренной верхушкой, 3 – простые многоклеточные толстостенные волоски с неровной поверхностью, 4 – простые многоклеточные тонкостенные волоски с тупой закругленной верхушкой, 5 – головчатые волоски на одноклеточной ножке, 6 – головчатые волоски на двухклеточной ножке, 7 – эфиромасличные железы; Г – трубка венчика: прямостенные клетки эпидермиса, 2 – кристаллы; Д – губа венчика: 1 – клетки эпидермиса, 2 – сосочковидны выросты, 3 – одноклеточные простые волоски с неровной поверхностью, 4 – многоклеточные простые волоски с неровной поверхностью, 5 – головчатые волоски на одноклеточной ножке, 6 – головчатые волоски на многоклеточной ножке.

4 Требования к сырью

4.1 Траву тимьяна Маршалла высушенную вырабатывают из травы тимьяна Маршалла (лат. *Thymus marschallianus* Willd.) – травянистого растения; рода Тимьян (*Thymus* L.) семейства Яснотковые (*Lamiaceae*) воздушно-теневым способом или с применением ИК-дегидраторов.

4.2 Содержание пестицидов, токсичных элементов, микотоксинов и радионуклидов в сырье травы тимьяна Маршалла (лат. *Thymus marschallianus* Willd.) не должно превышать установленных норм [3].

5 Маркировка

5.1 Маркировка – по ГОСТ 6077.

5.2 Маркировка транспортной тары – по ГОСТ 14192.

6 Упаковка

6.1 Траву тимьяна Маршалла высушенную упаковывают по ГОСТ 6077 со следующим дополнением: цельное сырье упаковывают в мешки ГОСТ 30090 массой нетто не более 30 кг и тюки из ткани по ГОСТ 30090 массой нетто не более 40 кг.

7 Приемка и методы анализа

7.1 Правила приемки – по ГОСТ 24027.0.

7.2 Методы анализа – по ГОСТ 24027.0 – ГОСТ 24027.2 со следующими дополнениями, указанными в 7.2, 7.3.

7.2.1 Определение содержания флавоноидов

7.2.1.1 Аппаратура, материалы и реактивы

Мельница лабораторная.

Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104-2001.

Весы аналитические по ГОСТ 24104.

Колбы конические вместимостью 150 см по ГОСТ 25336.

Холодильник стеклянный лабораторный по ГОСТ 25336.

Колбы мерные вместимостью 25 и 100 см по ГОСТ 1770.

Воронки стеклянные конические по ГОСТ 25336.

Спектрофотометр.

Пипетки вместимостью 1 и 5 см .

Пробирки по ГОСТ 25336.

Вата.

Сито с отверстиями диаметром 1 мм по ТУ 23.2.2068.

Баня водяная лабораторная с электрическим подогревом.

Шкаф сушильный, обеспечивающий устойчивую температуру нагрева 130°С-135°С.

Спирт этиловый по ГОСТ Р 51652-2000.

Алюминий хлористый 6-водный по ГОСТ 3759.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота уксусная по ГОСТ 61.

7.2.1.2 Подготовка к анализу

Приготовление раствора хлористого алюминия с массовой долей 5% в этиловом спирте с объемной долей 95% (5,00±0,01) г хлористого алюминия растворяют в 40 мл этилового спирта с объемной долей 95% в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки этиловым спиртом той же концентрации и перемешивают. Раствор годен в течение трех месяцев.

7.2.2 Проведение анализа

7.2.2.1 Качественная реакция на флавоноиды

1 мл извлечения, полученного согласно методике, описанной в 7.2.3.2, помещают в пробирку, прибавляют 2 мл раствора с массовой долей алюминия хлорида 5% в этиловом спирте с объемной долей 95% и 7 мл этилового спирта той же концентрации; раствор должен окраситься в зеленовато-желтый цвет.

7.2.2.2 Количественное определение суммы флавоноидов

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл спирта этилового 70% и взвешивают с погрешностью ±0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы спиртом 70%. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, смоченный тем же спиртом, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (раствор А). 2,5 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл алюминия хлорида раствора 5% в спирте 70% и через 10 мин – 1 мл уксусной кислоты раствора 3%, доводят объем раствора тем же спиртом до метки, перемешивают и оставляют на 30 мин (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряют через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 396 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 2,5 мл раствора А, 1 мл уксусной кислоты раствора 3%, доведенный спиртом 70% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

7.2.3 Обработка результатов

Массовую долю суммы флавоноидов в процентах в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид и абсолютно сухое сырье, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \times a \times 2.5 \times (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность раствора Б;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения лютеолин-7-О-глюкозида с алюминия хлоридом спирте 70% при длине волны 365 нм, равный 345;

А – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

7.3 Определение содержания экстрактивных веществ

Определение экстрактивных веществ проводят по ГОСТ 24027.2 со следующим дополнением: в качестве растворителя используют раствор этилового спирта с объемной долей 70%; в качестве растворителя используют воду дистиллированную

7.4 Определение содержания эфирного масла

Определение содержания эфирного масла проводят по ГОСТ 24027.2

8 Транспортирование и хранение

8.1 Транспортирование травы тимьяна Маршалла – по ГОСТ 6077.

8.2 Хранение травы тимьяна Маршалла – по ГОСТ 6077.

8.3 Гарантийный срок хранения травы тимьяна Маршалла – два года с момента заготовки.

Библиография

- [1] ГОСТ Р 59425 – 2021 Продукция органическая из дикорастущего сырья. Правила сбора, заготовки, переработки, хранения, транспортирования и маркировки
- [2] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012 Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств
- [3] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 "О безопасности пищевой продукции", утвержденный Комиссией Таможенного союза от 09.12/2011 г. № 880
- [4] Федеральный закон от 3 августа 2018 г. № 280-ФЗ Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации
- [5] Кодекс РФ от 4 декабря 2006 г. № 200-ФЗ Лесной кодекс Российской Федерации
- [6] Постановление Правительства Российской Федерации от 25 декабря 1992 г. № 1008 О режиме территорий, подвергшихся радиоактивному загрязнению вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС
- [7] Федеральный закон от 7 мая 2001 г. № 49-ФЗ О территориях традиционного природопользования коренных малочисленных народов Севера, Сибири и Дальнего Востока Российской Федерации
- [8] Постановление Правительства РФ от 21 сентября 2020 г. № 1509 Об особенностях использования, охраны, защиты, воспроизводства лесов, расположенных на землях сельскохозяйственного назначения
- [9] СанПиН 2.3.2.1078-01 Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов
- [10] Приказ Минприроды России от 28 июля 2020 г. № 494 Правила заготовки пищевых лесных ресурсов и сбора лекарственных растений
- [11] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011 Пищевая продукция в части ее маркировки
- [12] СанПиН 2.1.3684-21 Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному

воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий

- [13] Технический регламент Таможенного союза ТРТС 005/2011 О безопасности упаковки
- [14] Приказ Минсельхоза России от 19 ноября 2019 г. № 634 Форма и порядок использования графического изображения (знака) органической продукции единого образца
- [15] ГОСТ 10131 Ящики из древесины и древесных материалов для продукции пищевых отраслей промышленности, сельского хозяйства и спичек.
- [16] Технические условия ГОСТ 13511 Ящики из гофрированного картона для пищевых продуктов, спичек, табачных изделий и моющих средств. Технические условия
- [17] ГОСТ 14192 Маркировка грузов
- [18] ГОСТ 6077 Сырье лекарственное растительное. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение. *Vegetal medicine raw staff. Packing, marking, transportation and storage*
- [19] ГОСТ Р 56104 Продукты пищевые органические. Термины и определения
- [20] ГОСТ Р 57022 Продукция органического производства. Порядок проведения добровольной сертификации органического производства

**ПРИЛОЖЕНИЕ Б. ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ
TH. MARSCHALLIANUS И *TH. SERPYLLUM***

При введении животным водных и спиртовых извлечений из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в дозах 1000 и 3000 мг/кг (экспериментальные группы № 1, 2, 4, 5, 7, 8, 10, 11) (Таблица 3), а также спиртового извлечения *Th. marschallianus* в дозе 5000 мг/кг (группа № 3) не происходило гибели мышей, их общее состояние и поведение не изменились, признаков интоксикации не отмечено. Водное извлечение из травы *Th. marschallianus* в дозе 5000 мг/кг (группа №6) привело через 15 минут после введения у одного животного к нарушению координации, развитию тахикардии, учащенного дыхания и угнетению физического состояния. Признаки интоксикации прошли в течение 1-го часа. Состояние остальных животных этой группы не отличалось от контрольных. В группах мышей, получавших водные и спиртовые извлечения из травы *Th. serpyllum* в дозе 5000 мг/кг (группы № 9, 12), зафиксирована гибель по одному животному из группы, двигательная активность других животных этих групп была снижена, при этом нарушений дыхания и сердцебиения не отмечено. На 2-е сутки признаков интоксикации у животных всех групп отмечено не было. Среднелетальная доза (LD₅₀) в эксперименте не была установлена, т.к. в группах животных, получавших водные и спиртовые извлечения из травы *Th. marschallianus*, введение максимальной дозы (5000 мг/кг) не вызвало гибели мышей. Для водных и спиртовых извлечений *Th. serpyllum* пробит-анализом [50] также не удалось установить LD₅₀ в связи с низкой смертностью [75, 76]. Таким образом, исследуемые извлечения из травы *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, учитывая способ введения, по классификации К.К. Сидорова относятся к группе «Относительно безвредно» (VI класс токсичности), т.к. LD₅₀>3000мг/кг [30].

Для оценки функционального состояния органов и систем при введении водных извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* были определены биохимические показатели крови экспериментальных животных:

- уровень глюкозы (определяли состояние углеводного обмена);
- содержание общего белка и альбуминов (для изучения белково-синтезирующей функции печени);
- концентрацию АСТ, АЛТ, ЩФ, содержание холестерина, ТАГ (для исследования возможных нарушений в функциональном состоянии печени), концентрацию АСТ, ЛДГ (сердца);
- уровни мочевины и креатинина (для оценки функционального состояния почек) [45, 129].

Уровень глюкозы (Таблица Б.1) после введения водных извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в течение 28-и суток статистически значимо снижался, что согласуется с ранее проведёнными исследованиями, которые продемонстрировали гипогликемическую активность

полифенольных соединений [187, 208]. Результаты анализа уровня глюкозы у крыс экспериментальных групп свидетельствуют о более выраженном гипогликемическом эффекте водных извлечений из травы *Th. marschallianus* [45, 129].

Содержание общего белка и альбуминов (Таблица Б.1) в течение 28-и суток эксперимента у животных исследуемых групп статистически значимо не отличалось от показателей контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии нарушений биосинтетической функции печени [45, 129].

Активность АЛТ, АСТ увеличивалась к 28-м суткам при введении животным, как водного извлечения *Th. marschallianus*, так и водного извлечения *Th. serpyllum*, что может быть связано с повышением проницаемости клеточных мембран под влиянием данных извлечений, при этом активность ЩФ статистически значимо увеличивалась только при введении водного извлечения *Th. serpyllum*. Значимых отклонений в активности ЛДГ, содержании холестерина, ТАГ в течение эксперимента установлено не было (Таблица Б.1). Указанные изменения показателей свидетельствуют об отсутствии значимых изменений в функциональном состоянии печени и сердца. [45, 129].

При анализе уровня мочевины и креатинина у животных, получавших водное извлечение *Th. marschallianus*, отмечали увеличение уровня мочевины к 28-м суткам и отсутствие значимых отличий в показателях уровня креатинина (Таблица Б.1). По динамике данных показателей можно говорить об отсутствии значимых функциональных изменений со стороны почек. Введение животным водного извлечения *Th. serpyllum* приводило к увеличению уровня креатинина к 21-28-м суткам исследования, при этом отсутствовали значимые изменения в уровне мочевины (Таблица Б.1).

Таблица Б.1 – Биохимические показатели крови экспериментальных животных

Показатели	Группы животных	Значения биохимических показателей крови				p
		Ме (Q ₁ ; Q ₃)				
		7 сутки	15 сутки	21 сутки	28 сутки	
Глюкоза (ммоль/л)	Контрольная (интактные животные)	5,19 (3,86; 6,28)	5,21 (4,93; 5,54)	5,14 (4,07; 5,44)	4,77 (4,66; 4,86)	0,572
	ВИ <i>Th. marschallianus</i>	5,52 (4,98; 6,21)	4,80 (4,22; 4,56)	4,23 (3,40; 4,42)	3,96 (3,16; 4,10)	0,009
	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	5,63 (5,24; 5,77)	5,23 (4,80; 4,93)	5,55 (5,36; 5,63)	4,66 (4,09; 4,96)	0,005
Общий белок (г/л)	Контрольная (интактные животные)	1,22 (1,20; 1,24)	1,58 (1,00; 1,70)	1,21 (1,05; 1,56)	0,99 (0,83; 1,02)	0,249
	ВИ <i>Th. marschallianus</i>	1,16 (1,03; 1,45)	1,50 (1,14; 1,63)	1,12 (0,76; 1,25)	1,27 (1,25; 1,32)	0,171

Продолжение Таблицы Б.1

	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	1,25 (1,09; 1,29)	1,40 (1,31; 1,34)	1,22 (1,07; 1,28)	1,04 (0,81; 2,06)	0,235
Альбумин (г/л)	Контрольная (интактные животные)	73,97 (63,81; 79,79)	73,04 (43,47; 76,74)	78,23 (73,83; 83,67)	78,54 (74,04; 81,17)	0,457
	ВИ <i>Th. marschallianus</i>	78,46 (72,19; 85,95)	75,62 (52,66; 60,67)	78,56 (75,65; 83,08)	76,93 (81,89; 87,59)	0,060
	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	75,51 (64,79; 84,92)	71,56 (69,61; 72,81)	69,68 (66,24; 82,39)	76,4 (91,51; 99,94)	0,062
АЛТ (ЕД/л)	Контрольная (интактные животные)	36,22 (30,28; 38,83)	35,38 (30,28; 38,24)	38,27 (36,01; 48,94)	37,09 (30,29; 38,85)	0,068
	ВИ <i>Th. marschallianus</i>	36,75 (34,04; 40,75)	45,82 (34,86; 42,51)	51,92 (37,55; 74,12)	54,62 (51,42; 56,80)	0,014
	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	41,81 (32,32; 44,79)	64,47 (61,34; 66,93)	70,06 (62,96; 77,23)	71,50 (68,33; 70,06)	0,003
АСТ (ЕД/л)	Контрольная (интактные животные)	116,42 (108,72 124,68)	108,94 (97,71; 122,78)	113,89 (104,07; 126,15)	114,08 (110,26; 116,52)	0,886
	ВИ <i>Th. marschallianus</i>	122,32 (91,50; 153,52)	103,81 (88,42; 113,74)	113,85 (88,65; 99,79)	125,38 (121,88; 126,16)	0,026
	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	124,19 (112,08; 143,33)	126,75 (124,33; 127,72)	133,75 (129,68; 142,20)	147,17 (130,48; 135,05)	0,171
Щелочная фосфатаза (ЕД/л)	Контрольная (интактные животные)	48,59 (17,98; 57,02)	44,09 (25,48; 54,14)	59,69 (49,47; 67,93)	46,03 (44,39; 47,03)	0,501
	ВИ <i>Th. marschallianus</i>	55,46 (47,76; 66,26)	53,68 (51,66; 54,65)	56,92 (41,38; 79,13)	54,29 (47,05; 57,67)	0,978
	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	57,49 (51,52; 109,84)	59,47 (54,82; 55,21)	68,48 (42,11; 83,80)	73,66 (54,45; 75,82)	0,001
ЛДГ (ЕД/л)	Контрольная (интактные животные)	591,37 (392,35; 823,04)	591,37 (392,35; 823,04)	521,65 (453,41; 621,55)	575,32 (512,58; 779,08)	0,965
	ВИ <i>Th. marschallianus</i>	596,67 (502,03; 780,44)	589,9 (516,13; 549,42)	559,32 (488,47; 703,74)	588,85 (547,67; 711,64)	0,896
	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	592,81 (506,99; 668,56)	645,48 (510,46; 561,03)	620,71 (531,36; 768,36)	606,05 (568,33; 828,09)	0,724

Продолжение Таблицы Б.1

Холестерин (ммоль/л)	Контрольная (интактные животные)	4,91 (4,72; 5,24)	4,65 (3,70; 5,22)	3,26 (3,10; 3,27)	3,53 (3,15; 4,24)	0,160
	ВИ <i>Th.</i> <i>marschallianus</i>	5,22 (4,61; 5,65)	4,20 (2,74; 3,23)	3,48 (2,98; 3,55)	3,81 (2,83; 4,66)	0,457
	ВИ <i>Th.</i> <i>serpyllum</i>	4,36 (3,81; 4,92)	4,75 (4,17; 4,31)	3,69 (3,17; 3,83)	3,90 (3,66; 4,61)	0,167
Триглицериды (ммоль/л)	Контрольная (интактные животные)	78,31 (73,05; 84,16)	77,18 (72,67; 79,49)	82,35 (72,26; 89,48)	81,49 (76,04; 89,87)	0,314
	ВИ <i>Th.</i> <i>marschallianus</i>	84,17 (72,33; 110,93)	85,24 (83,94; 87,23)	87,28 (81,52; 93,00)	91,57 (84,19; 107,45)	0,261
	ВИ <i>Th.</i> <i>serpyllum</i>	84,29 (72,27; 94,20)	87,24 (76,42; 79,06)	100,58 (95,23; 109,38)	117,60 (109,21; 119,35)	0,672
Мочевина (ммоль/л)	Контрольная (интактные животные)	33,08 (28,86; 34,89)	37,66 (31,82; 41,81)	36,99 (28,83; 38,42)	36,33 (34,65; 42,76)	0,108
	ВИ <i>Th.</i> <i>marschallianus</i>	32,45 (27,49; 36,75)	32,72 (27,86; 28,02)	37,71 (35,07; 40,56)	48,83 (38,13; 55,41)	0,009
	ВИ <i>Th.</i> <i>serpyllum</i>	34,38 (25,56; 37,04)	36,62 (31,78; 32,88)	43,36 (35,85; 44,87)	46,38 (44,96; 52,18)	0,192
Креатинин (мкмоль/л)	Контрольная (интактные животные)	1,72 (1,54; 1,79)	1,81 (1,67; 1,97)	1,81 (1,67; 1,97)	1,95 (1,75; 2,00)	0,843
	ВИ <i>Th.</i> <i>marschallianus</i>	1,50 (1,43; 1,58)	1,77 (1,55; 1,94)	1,77 (1,32; 1,93)	1,63 (1,20; 1,76)	0,724
	ВИ <i>Th.</i> <i>serpyllum</i>	1,64 (1,24; 1,46)	1,84 (1,65; 1,91)	1,77 (1,55; 2,04)	1,81 (1,16; 1,98)	0,014
Примечание: ВИ <i>Th. marschallianus</i> – группа животных, получавших водное извлечение <i>Th. marschallianus</i> ; ВИ <i>Th. serpyllum</i> – группа животных, получавших водное извлечение <i>Th. serpyllum</i> ; Me – медиана, Q ₁ – нижний квартиль, Q ₃ – верхний квартиль; p – значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса.						

Оценивая указанные показатели можно сделать вывод об отсутствии выраженных функциональных изменений в почках [45, 129].

**ПРИЛОЖЕНИЕ В. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИМИКРОБНОЙ
АКТИВНОСТИ**

Извлечения

Водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в диапазоне исследуемых концентраций 3,1-50,0 мг/мл показали разную антимикробную активность в отношении взятых в эксперимент стандартных и клинических штаммов микроорганизмов (Таблица В.1).

Таблица В.1 – Антимикробная активность извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в отношении стандартных и клинических штаммов микроорганизмов (МИК, мг/мл)

Извлечение				<i>Th. marschallianus</i>		<i>Th. serpyllum</i>	
				водный	спиртовой	водный	спиртовой
Штаммы микроорганизмов							
Стандартные штаммы	<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P			12,5	12,5	12,5	12,5
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			50,0	25,0	25,0	12,5
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853			12,5	12,5	12,5	25,0
Клинические штаммы	<i>Staphylococcus aureus</i>	полость носа	1	6,25	6,25	6,25	6,25
			2	6,25	6,25	6,25	6,25
			3	6,25	6,25	6,25	6,25
			4	6,25	6,25	6,25	6,25
			5	6,25	6,25	6,25	12,5
		зев	6	6,25	6,25	6,25	6,25
			7	6,25	6,25	6,25	6,25
			8	6,25	6,25	6,25	12,5
		мокрота	9	6,25	12,5	6,25	12,5
		абсцесс	10	6,25	12,5	6,25	12,5
	<i>Escherichia coli</i>	зев	11	не установлена	50,0	не установлена	50,0
		перитонеальные выпоты	12	не установлена	50,0	не установлена	50,0
			13	не установлена	не установлена	не установлена	25,0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	полость носа	14	25,0	12,5	25,0	12,5
	<i>Candida albicans</i>	зев	15	не установлена	50,0	не установлена	50,0
			16	не установлена	не установлена	не установлена	не установлена
			17	не установлена	не установлена	не установлена	не установлена
		моча	18	не установлена	50,0	не установлена	не установлена
			19	не установлена	не установлена	не установлена	не установлена

Все исследуемые извлечения показали противостафилококковую активность. Установлено, что в отношении стандартного *S. aureus* МИК спиртовых и водных извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* составили 12,5 мг/мл, а в отношении клинических штаммов извлечения обоих видов проявили разную антимикробную активность при концентрациях 6,25 мг/мл и 12,5 мг/мл (Таблица В.1). В отношении стандартного штамма *E. coli*: МИК водного извлечения *Th. marschallianus* составила 50,0 мг/мл, а *Th. serpyllum* – 25,0 мг/мл; МИК спиртовых извлечений – 25,0 мг/мл и 12,5 мг/мл соответственно. В отношении клинических штаммов кишечной палочки антимикробное действие проявили только спиртовые извлечения обоих видов (МИК 25,0 и 50,0 мг/мл), при этом в отношении штамма кишечной палочки, полученного из перитониальных выпотов, продемонстрировало активность только спиртовое извлечение *Th. marschallianus* (МИК 25,0 мг/мл). Все исследуемые извлечения показали активность в отношении *P. aeruginosa*: МИК спиртовых и водных извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* составили 12,5 и 25,0 мг/мл.

МИК водных извлечений тимьянов обоих видов в отношении большинства клинических штаммов *C. albicans* не установлена в виду видимого роста во всех разведениях, взятых в эксперимент. Спиртовое извлечение *Th. serpyllum* оказалось активным в отношении двух штаммов грибов, а *Th. marschallianus* – в отношении одного штамма, МИК в двух случаях, при которых наблюдался эффект, составили по 50,0 мг/мл [8, 122, 131].

Эфирные масла

Ранее нами были проведены скрининговые исследования по изучению антимикробной активности паров ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, в ходе которых установлено, что оба испытуемых образца полностью подавили видимый рост стандартных штаммов *E. coli* и *S. aureus* ($p \leq 0,05$) при его наличии в контрольных вариантах в течение всего периода инкубации. В отношении *P. aeruginosa* отмечен видимый рост в присутствии каждого из эфирных масел, однако достоверно меньшее количество колоний между опытом и контролем установлены только для ЭМ *Th. marschallianus* ($p \leq 0,05$) (Таблица В.2) [102].

Таблица В.2 – Антимикробная активность паров эфирных масел *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*

Штамм микроорганизмов	Количество выросших колоний		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC
Эфирное масло			
ЭМ <i>Th. marschallianus</i>	нет роста ($p \leq 0,05$)	нет роста ($p \leq 0,05$)	38±10 ($p \leq 0,05$)
ЭМ <i>Th. serpyllum</i>	нет роста ($p \leq 0,05$)	нет роста ($p \leq 0,05$)	124±9 ($p \geq 0,05$)
Контроль (без эфирного масла)	654±70	677±45	166±24

Также нами было проведено изучение антимикробной активности ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* методом серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона в отношении клинических штаммов *E. coli*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Наибольшую активность исследуемые извлечения продемонстрировали в отношении *S. aureus*. В отношении всех опытных штаммов бактерий установлены МИК (Таблица В.3) [6, 10, 104, 123, 128, 137].

Таблица В.3 – МИК эфирных масел *Thymus serpyllum* и *Thymus marschallianus*, установленные методом серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона

Штамм	Разведения эфирных масел и соответствующие им концентрации (мкг/мл) тимола и его изомеров															
	<i>Thymus serpyllum</i>								<i>Thymus marschallianus</i>							
	50 (8780)	100(4390)	200 (2195)	400 (1097,5)	800 (548,75)	1600 (274,38)	3200 (137,19)	6400 (68,6)	50 (7680)	100 (3840)	200 (1920)	400 (960)	800 (480)	1600 (240)	3200 (120)	6400 (60)
<i>S. aureus</i> 209P	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>S. aureus</i> 2963	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>S. aureus</i> 3473	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>S. aureus</i> 3239	-	-	-	-	*	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>S. aureus</i> 3282	-	-	-	*	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>S. aureus</i> 2977	-	-	-	-	*	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. coli</i> 3	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27835	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> 7728	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+

Примечание: знак «-» – отсутствие видимого роста; знак «+» – наличие видимого роста; «*» – бактериостатическая концентрация

Воздействие ЭМ на микроорганизмы изучали диско-диффузионным методом в отношении стандартных и клинических штаммов бактерий *P. aeruginosa*, *E. coli* и клинических штаммов грибов *C. albicans*. При определении чувствительности опытных штаммов к антимикробным химиопрепаратам получены следующие результаты: три из пяти клинических штамма *E.coli* проявили устойчивость к аминопенициллинам, в том числе один штамм - к гентамицину. Все клинические штаммы *E.coli* оказались чувствительны к цефотаксиму и левофлоксацину, три штамма продемонстрировали промежуточное отношение к цефтазидиму. Клинический штамм *P. aeruginosa* проявил промежуточное отношение к цефтазидиму и чувствительность к левофлоксацину. Следует отметить, что в результате определения антимикробной активности ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* отмечено формирование опытными штаммами слабого бактериального газона вплоть до его отсутствия, в связи с чем

для получения газона всех опытных штаммов, были использованы разведения ЭМ бульоном Мюллера-Хинтон в 3 и 6 раз, которыми пропитывали диски. Качественная оценка активности ЭМ *Th. marschallianus* при диффузии в агар в опытных разведениях (исходя из диаметра зон задержки роста – очень сильное 22 мм и более, сильное – 18-21, умеренное – 14-17, слабое – 13 мм и менее [152]) показала слабое антимикробное действие на стандартный штамм *P. aeruginosa* и один клинический штамм *E.coli*, очень сильное – в отношении оставшихся пяти клинических штаммов *E.coli*. ЭМ *Th. serpyllum* во взятых разведениях умеренно подавляет стандартный штамм *P. aeruginosa* и сильно – все опытные клинические штаммы. В отношении стандартного штамма *E.coli* отмечено недостаточное формирование газона под влиянием взятых разведений обоих ЭМ. Зоны задержки роста удалось установить для неразведенных ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в отношении стандартного штамма *P. aeruginosa*. Диаметр зон задержки роста составил 42 и более 50 мм соответственно. Согласно статистической обработке результатов значимых различий между антимикробной активностью эфирных масел обоих видов не установлено [97].

Диско-диффузионным методом была определена антимикотическая активность в отношении 6 клинических штаммов *C. albicans*. Предварительно определена чувствительность опытных штаммов к 5 противогрибковым химиопрепаратам – амфотерицину, клотримазолу, флюконазолу, итраконазолу, кетоконазолу и нистатину. Пять опытных штаммов оказались чувствительны ко всем взятым противогрибковым препаратам (сильное и очень сильное антифунгальное действие), один штамм проявил промежуточное отношение к итра- и кетоконазолу и чувствительность к другим антимикотикам (амфотерицину, клотримазолу, флюконазолу и нистатину).

При анализе антифунгальной активности диско-диффузионным методом установлено, что при выбранном объеме ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* (10 мкл), наносимом на диск, ни один штамм не образовал газон на питательном агаре при наличии достаточного роста в контроле и агаре с антимикотическими препаратами (Рисунок В.1).

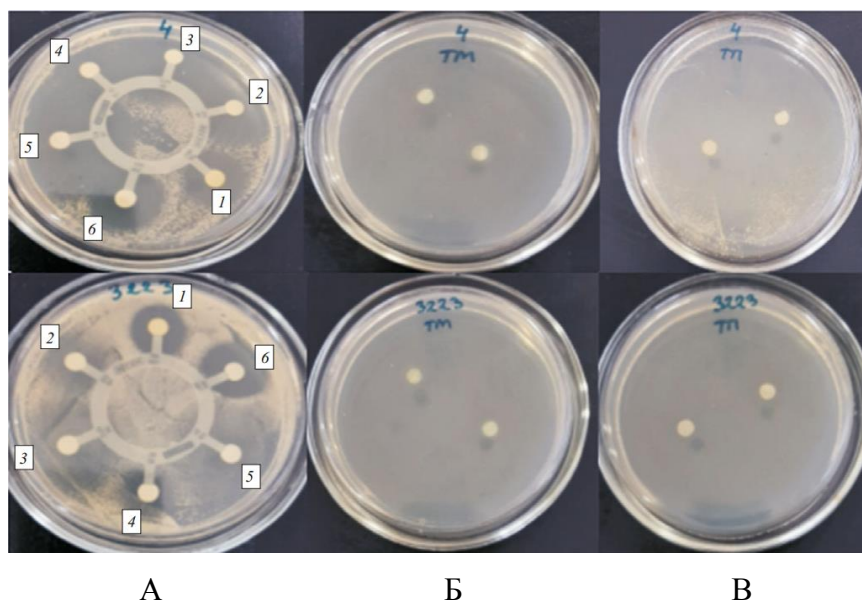


Рисунок В.1 – Результаты диско-диффузионного метода на примере двух штаммов (№№ 4, 3223): А – с антимикотическими химиопрепаратами (1 – амфотерицин, 2 – клотримазол, 3 – флюконазол, 4 – итраконазол, 5 – кетоконазол, 6 – нистатин), Б – с эфирным маслом *Th. marschallianus*, В – с эфирным маслом *Th. serpyllum*

С учетом химического состава ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* по преобладающему антимикробному компоненту (массовой доли тимола и его изомеров) методом микроразведений установлены МИК ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* для штаммов грибов, которые составили 18,75 и 42,87 мкг/мл соответственно. Все опытные концентрации, задерживающие рост, были фунгицидными (Таблица В.4). МИК тимола для опытных штаммов составили 500-250 мкг/мл и носили фунгицидный характер. [9, 151].

Таблица В.4 – МИК эфирных масел *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* и их эмульсий, установленные методом микроразведений

Штамм <i>Candida albicans</i>	Разведения эфирных масел и соответствующие им концентрации (мкг/мл) timoла и его изомеров											
	<i>Thymus serpyllum</i>						<i>Thymus marschallianus</i>					
	128 (342,99)	256 (171,48)	512 (85,72)	1024 (42,87)	2048 (21,44)	4096 (10,72)	128 (300,0)	256 (150,0)	512 (75,0)	1024 (37,50)	2048 (18,75)	4096 (9,36)
	<i>Thymus serpyllum</i>						<i>Thymus marschallianus</i>					
№ 4	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
№ 3223	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
№ 3397	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
№ 3497	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
№ 3787	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
№ 6291	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+

Продолжение Таблицы В.4

Примечание: знак «-» - отсутствие видимого роста; знак «+» – наличие видимого роста; «- » – бактериостатическая концентрация

Таким образом, диско-диффузионным методом установлено, что ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* оказывают антимикробное действие в отношении стандартных и клинических штаммов *P. aeruginosa* и *E.coli*. Статистически значимых различий между антимикробной активностью эфирных масел обоих видов не установлено. ЭМ *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* показали сильную антифунгальную активность в отношении *C. albicans*. Все опытные концентрации, задерживающие рост, были бактерицидными.

**ПРИЛОЖЕНИЕ Г. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ *Th. marschallianus* И
*Th. serpyllum in vitro***

Влияние спиртового извлечения *Th. marschallianus* на культуру опухолевых клеток почки человека А498

Живые клетки рака почки человека А498 в контроле имели полигональную форму (Рисунок Г.1 А). Мертвые клетки в контроле были единичны.

Цитотоксическая активность извлечения. Большая часть живых клеток рака почки человека А498 даже при низких концентрациях извлечения (0,001; 0,01 мг/мл) имело округлую форму (Рисунок Г.1 Б), что свидетельствует о потере контакта клеток с подложкой. Количество мертвых опухолевых клеток (Рисунок Г.1 В) к общему количеству клеток рака почки человека А498 под воздействием спиртового извлечения *Th. marschallianus* заметно увеличивалось по сравнению с контролем (3,8%) с увеличением концентрации извлечения (мг/мл): 0,8; 1,5; 3,0 и 6,5 мг/мл (9,8; 20,3; 23,9; 99,6% соответственно, $p < 0,01$), что свидетельствует о наличии у данного извлечения цитотоксической активности.

Цитостатическая активность извлечения. Количество живых опухолевых клеток снижалось в 1,4-100 раз по сравнению с контролем (96%) при действии спиртового извлечения *Th. marschallianus* в концентрациях 1,5 мг/мл (90,2%) и 3,0 мг/мл (76,1%), а при концентрации 6,5 мг/мл живые клетки практически отсутствовали (0,04%). В отличие от контроля (1%) при действии спиртового извлечения *Th. marschallianus* в концентрациях 1,5; 3,0 и 6,5 мг/мл отсутствовали делящиеся клетки, что подтверждает цитостатическую активность. Кроме того, при концентрациях 0,5 и 1,0 мг/мл у данного извлечения выявлена активность, приводящая к увеличению количества клеток с нарушенной ploидностью (3,4 и 6,1% соответственно, в контроле 1,4%). Увеличение ploидности клеток также приводит к остановке деления клетки.

Апоптотическая активность извлечения. При действии спиртового извлечения *Th. marschallianus* при концентрации 0,01 мг/мл увеличивалось количество и процент клеток с ядрами в виде серпа до 4% (в контроле такие клетки отсутствовали). При действии извлечений в концентрациях 0,1 мг/мл и 0,5 мг/мл увеличивался процент клеток с пикнозом ядра (3 и 5% соответственно, в контроле 1%). При действии извлечения в концентрации 0,1 мг/мл увеличивался процент клеток с ядрами в виде серпа (4,1%), а также в 10 раз увеличивалось количество клеток, распавшихся на апоптотические тельца (10,9%, в контроле 1,04%) (Рисунок Г.1 Г). Полученные нами данные свидетельствуют о наличии апоптотической активности у спиртового извлечения *Th. marschallianus* в концентрациях 0,01; 0,1 и 0,5 мг/мл.

В результате исследования выявлено, что спиртовое извлечение *Th. marschallianus* в отношении клеток рака почки человека проявляет активность, начиная от концентрации 0,01 мг/мл, и оказывает на опухолевые клетки цитотоксическое, цитостатическое и апоптотическое воздействие. При этом все перечисленные активности имеют концентрационную зависимость.

Влияние спиртового извлечения *Th. marschallianus* на фибробласты эмбриона человека

Цитотоксическая активность извлечения. Количество мертвых фибробластов под воздействием спиртового извлечения *Th. marschallianus* не превышало контроль (4,6%) в исследованном диапазоне концентраций 0,1; 1,0; 6,5 мг/мл (1,8; 0,8; 3,0% соответственно), что свидетельствует об отсутствии у данного извлечения цитотоксической активности в отношении неопухолевых клеток человека – фибробластов (Рисунок Г.1 Д).

Цитостатическая активность извлечения. Количество делящихся фибробластов снижалось в 2 раза по сравнению с контролем при действии спиртового извлечения *Th. marschallianus* только при высокой концентрации – 6,5 мг/мл.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии цитотоксической и цитостатической активности спиртового извлечения *Th. marschallianus* в отношении неопухолевых клеток человека в концентрациях до 6,5 мг/мл, при этом в отношении опухолевых клеток человека противоопухолевая активность извлечения уже проявляется при более низких концентрациях.

Таким образом, цитостатическая активность проявляется при концентрациях спиртового извлечения *Th. marschallianus* от 0,1 мг/мл; цитотоксическая – от 0,8 мг/мл, а апоптотическая активность наиболее выражена, наоборот, при более низких концентрациях от 0,01 до 0,5 мг/мл. Следовательно, в диапазоне концентраций от 0,01 до 6,5 мг/мл можно говорить о наличии избирательного действия спиртового извлечения *Th. marschallianus* в отношении опухолевых клеток человека. Такие результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения противоопухолевой активности данного извлечения.

Сравнительная цитостатическая активность спиртового извлечения *Th. marschallianus* и цитостатика циклофосфана в отношении фибробластов эмбриона человека. В эксперименте проведено сравнение извлечения и цитостатика в одинаковых концентрациях 0,3 мг/мл в течение 24 ч.

При воздействии спиртового извлечения *Th. marschallianus* на фибробласты эмбриона человека значимых изменений не наблюдали (количество мертвых фибробластов 5,6%). При действии циклофосфана уже через 24 ч количество живых фибробластов в поле зрения по сравнению с контролем (95,3%) становится меньше в 1,4 раза меньше (66,7%). Количество мертвых фибробластов при действии циклофосфана по сравнению с контролем (4,7%)

возрастает в 7 раз (33,3%), что свидетельствует о выраженной цитотоксической активности циклофосфана в отношении неопухолевых клеток человека (Рисунок Г.1 Е).

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии цитостатической активности спиртового извлечения *Th. marschallianus* по сравнению с цитостатиком циклофосфаном.

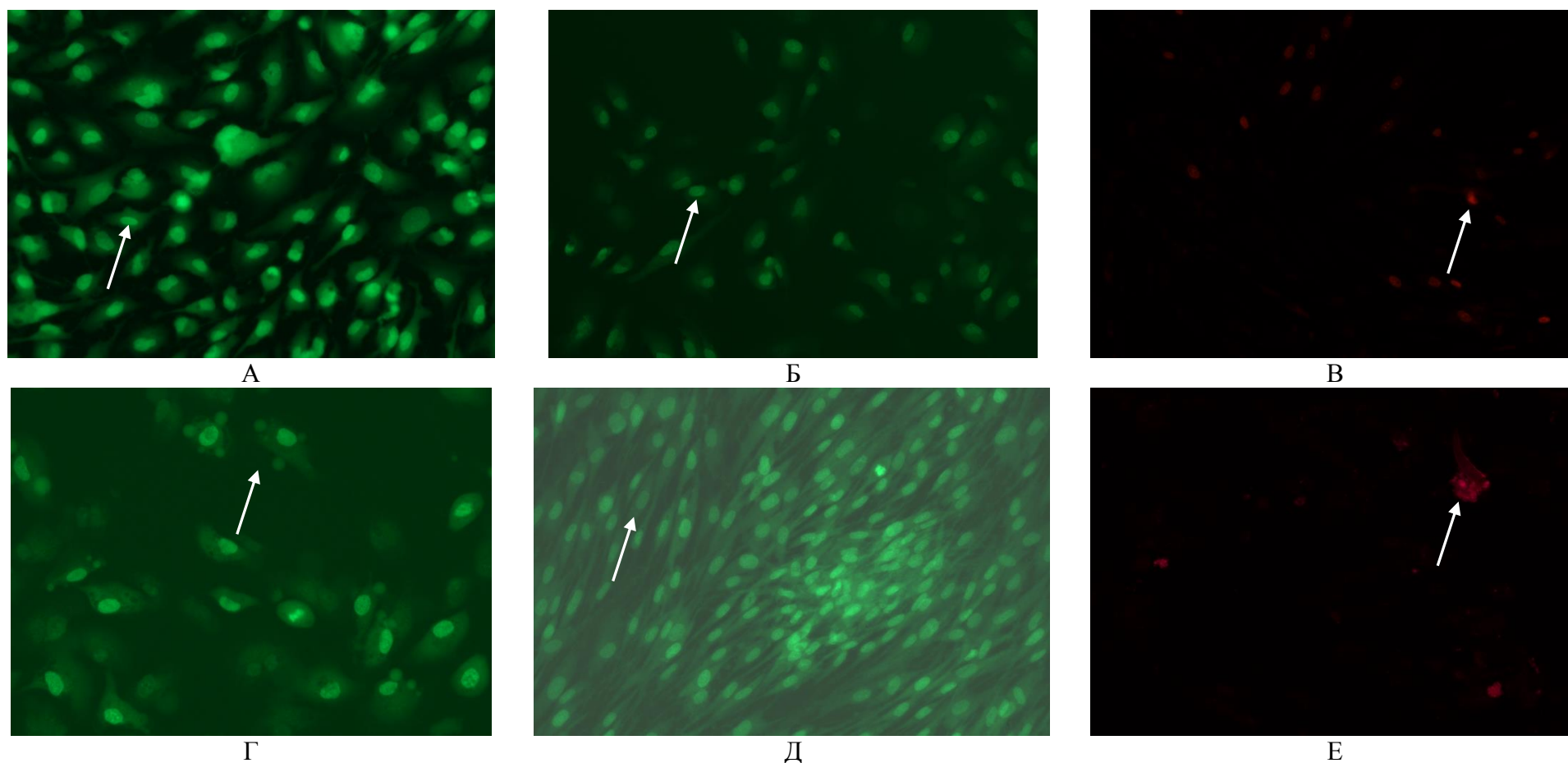


Рисунок Г.1 – Культура опухолевых клеток почки человека A498 и культура фибробластов: А – живые клетки рака почки человека A498 в контроле; Б – живые клетки рака почки человека A498 при воздействии спиртового извлечения *Th. marschallianus* концентрация 0,1 мг/мл; В – мертвые клетки рака почки человека A498 при воздействии спиртового извлечения *Th. marschallianus* концентрация 6,5 мг/мл; Г – опухолевые клетки рака почки человека A498, распавшиеся на апоптотические тельца; Д – фибробласты эмбриона человека в контроле; Е – мертвые фибробласты эмбриона человека при воздействии циклофосфаном

**ПРИЛОЖЕНИЕ Д. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ
АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ *Th. marschallianus* И *Th. serpyllum in vivo***

Противоопухолевая активность извлечений *Th. marschallianus*

У животных, как контрольной группы, так и получавших водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* наблюдали рост опухоли, достоверных отличий от контроля не установлено ($p=0,427$ и $p=0,919$ соответственно).

При морфологическом исследовании выявлено, что перевиваемая опухоль в группе контроля микроскопически состояла из ячеистых структур разной формы и величины, разделенными тонкими прослойками соединительной ткани (Рисунок Д.1 А). Опухолевые клетки овальной или округлой формы, в цитоплазме которых расположены крупные вакуоли, содержащие слизь и оттесняющие овальное ядро на периферию клетки. Количество митозов составило до 6 в одном поле зрения. Отмечены единичные опухолевые клетки в состоянии некроза.

При морфологическом и морфометрическом изучении ткани опухоли в группе крыс, получавших спиртовое извлечение *Th. marschallianus*, обращал на себя внимание выраженный патоморфоз преимущественно в центральных отделах опухоли, где отмечалось большое количество «клеток-теней», уменьшение размеров опухолевых клеток, обширные зоны некроза. Сохранные клетки опухоли представлены мелкими округлыми клетками с ядрами округлой или бобовидной формы, с единичными мелкими вакуолями, содержащими слизь. Клетки опухоли расположены в ячейках, образованных утолщенными соединительнотканными перегородками с большим количеством тонкостенных полнокровных сосудов. Волокна соединительной ткани инфильтрированы лимфоцитами. Митоз определяли лишь в одном случае наблюдения (Рисунок Д.1 Б).

В группе крыс, получавших водное извлечение *Th. marschallianus*, опухоль представлена мелкими округлыми клетками с уменьшенным в размерах уплощенным ядром, расположенными по периферии ткани опухоли. Центральные отделы при этом представлены обширными очагами некроза, большим количеством «клеток-теней» и утолщенными соединительнотканными перегородками с большим количеством полнокровных сосудов (Рисунок Д.1 В), а также обширными скоплениями опухолевых клеток с признаками апоптоза – кариопикноза, конденсацией ядерного хроматина и кариорексиса, большим количеством апоптотических телец (Рисунок Д.1 Г).

При морфометрическом исследовании определяли снижение среднего числа сохранных опухолевых клеток в поле зрения в 2,2 раза в группе крыс, получавших спиртовое извлечение

Th. marschallianus и в 7,8 раза в группе крыс, получавших водное извлечение *Th. marschallianus*, по сравнению с группой контроля.

Уменьшение размера опухолевых клеток в 2 раза по сравнению с группой контроля отмечали в обеих опытных группах. Так, в группе крыс, получавших спиртовое извлечение *Th. marschallianus*, средний диаметр опухолевой клетки был в 1,86 раза, а в группе крыс, получавших водное извлечение *Th. marschallianus*, в 1,99 раза меньше по сравнению с группой контроля. Кроме того, отмечали уменьшение и диаметра ядра опухолевых клеток, а также уменьшение значений ядерно-цитоплазматического соотношения как в группе животных, получавших спиртовое извлечение (0,43), так и водное извлечение *Th. marschallianus* (0,38) по сравнению с группой контроля (0,6) (Таблица Д.1).

Таблица Д.1 – Морфометрические показатели клеток перевиваемого рака печени, у экспериментальных животных, получавших извлечения *Th. marschallianus*

Показатель	Группа	СИ	ВИ	p*	p**
	Группа контроля	<i>Th. marschallianus</i>	<i>Th. marschallianus</i>		
	Me (Q ₁ ; Q ₃)				
Количество клеток в поле зрения	90 (82; 96)	39 (34;47)	11 (9; 15)	0,000	0,000
Количество некротизированных клеток	1 (1; 2)	20,05 (11; 34)	42 (38; 44)	0,000	0,000
Диаметр опухолевой клетки, нм	14 (13; 15)	7 (6; 8)	7 (6; 8)	0,000	0,065
Диаметр ядра опухолевой клетки, нм	8 (7; 9)	3 (3; 4)	3 (2; 3)	0,000	0,000
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,6 (0,5; 0,6)	0,43 (0,38; 0,5)	0,38 (0,33; 0,43)	0,001	0,001
Примечание: Me – медиана, Q ₁ – нижний квартиль, Q ₃ – верхний квартиль; p* – значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса; p** – значимость различий между двумя экспериментальными группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.					

В эксперименте показано, что объем опухолей у крыс опытных групп изменялся так же, как и в контрольной группе, однако при гистологическом анализе опухолей животных, получавших экстракты в дозе 100 мг/кг, нами выявлено снижение количества сохранных опухолевых клеток в поле зрения, выраженные некробиотические и атрофические изменения клеток опухоли, отсутствие митозов, разрастание соединительнотканых волокон, за счет

которых, вероятно, объем опухолей не уменьшался. При этом водное извлечение *Th. marschallianus* проявило более выраженный противоопухолевый эффект, т.к. при его введении выявлены морфологические признаки апоптоза [125, 132].

Противоопухолевая активность извлечений *Th. serpyllum*

У животных, получавших водные и спиртовые извлечения *Th. serpyllum*, динамика изменения объема опухоли была сопоставима с измерениями в контрольной группе и не отличалась от нее ($p=0,98$).

Перевиваемая опухоль в группе контроля микроскопически состояла из ячеистых структур разной формы и величины, разделенными тонкими прослойками соединительной ткани. Опухолевые клетки овальной или округлой формы разного размера, в цитоплазме которых расположены крупные вакуоли, содержащие большое количество слизи, и оттесняющие овальное ядро на периферию клетки. Количество митозов составило до 3 в одном поле зрения. В нескольких полях зрения опухолевые клетки в состоянии некроза (Рисунок Д.2 А).

В центральных отделах ткани опухоли в группе крыс, получавших спиртовое извлечение *Th. serpyllum*, отмечались обширные очаги некроза. На периферии опухоли клетки уменьшены в размерах с мелкими округлыми или бобовидными ядрами, вакуоли выражены незначительно. Отмечалось большое количество «клеток-теней», а также опухолевых клеток, находящихся в состоянии дистрофии. При этом контуры опухолевых клеток едва различимы, ядро бледное. Соединительнотканые прослойки представлены толстыми волокнами с большим количеством полнокровных сосудов и диффузной инфильтрацией лимфоцитами, нейтрофилами. Митозы единичны преимущественно на периферии опухоли (Рисунок Д.2 Б).

В группе крыс, получавших водное извлечение *Th. serpyllum*, сохранный опухолевый ткань определяется только на периферии опухоли. Клетки опухоли при этом мелкие, с мелким уплощенным ядром, практически не содержат слизи, плотно расположены друг к другу. В центре опухоли определяются обширные очаги некроза, большое количество «клеток-теней». Соединительнотканые перегородки утолщены, инфильтрированы лимфоцитами, нейтрофилами. Фигуры митоза единичные (Рисунок Д.2 В, Г).

При морфометрическом исследовании определяли снижение среднего числа сохранных опухолевых клеток в поле зрения в 1,8 раза в группе крыс, получавших спиртовое извлечение *Th. serpyllum* и в 7,8 раза в группе крыс, получавших водное извлечение *Th. serpyllum*, по сравнению с группой контроля (Таблица Д.2).

Таблица Д.2 – Морфометрические показатели клеток перевиваемого рака печени, у экспериментальных животных, получавших извлечение *Th. serpyllum*

Показатель	Группа	СИ <i>Th. serpyllum</i>	ВИ <i>Th. serpyllum</i>	p*	p**
	Группа контроля	Me (Q ₁ ; Q ₃)			
Количество сохранных клеток в поле зрения	46 (54; 69)	25 (21; 49)	3 (0; 15,5)	0,000	0,000
Количество некротизированных клеток в поле зрения	8 (0; 37)	21 (16; 28)	28,5 (21; 34,5)	0,000	0,000
Диаметр опухолевой клетки	9 (8; 11)	9 (9; 13)	6 (6; 7)	0,05	0,000
Диаметр ядра опухолевой клетки	6 (5; 7)	5 (3; 6)	2 (2; 3)	0,000	0,000
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,67 (0,58; 0,75)	0,5 (0,43; 0,57)	0,33 (0,19; 0,39)	0,000	0,000
Количество фигур митоза в поле зрения	1 (1,0; 2,0)	1 (0; 1,0)	0 (0,0; 0,0)	0,000	0,000

Примечание: Me – медиана, Q₁ – нижний квартиль, Q₃ – верхний квартиль;
p* – значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса;
p** – значимость различий между двумя экспериментальными группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

Уменьшение диаметра опухолевых клеток существенно произошло только в группе, получавших водное извлечение *Th. serpyllum* по сравнению с группой контроля. При этом в обеих группах сравнения отмечалось уменьшение диаметра ядра опухолевых клеток, а также уменьшение значений ядерно-цитоплазматического соотношения по сравнению с группой контроля.

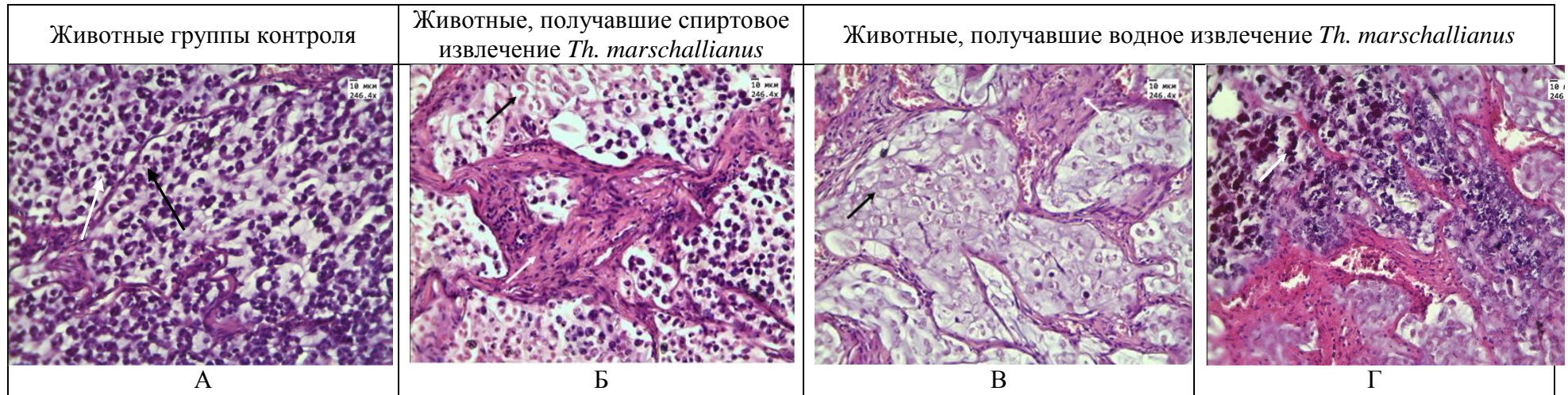


Рисунок Д.1 – Гистологическое строение опухоли у животных, получавших извлечения *Th. marschallianus*:

А – гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе контроля. Клетки опухоли (белая стрелка) разделены тонкими прослойками соединительной ткани (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×;

Б – гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей спиртовое извлечение *Th. marschallianus*. Дистрофические и некротические изменения опухолевых клеток: «клетки-тени» (черная стрелка), утолщение соединительнотканых перегородок (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×;

В – гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей водное извлечение *Th. marschallianus*. Очаги некроза опухолевой ткани (черная стрелка), утолщение соединительнотканых перегородок (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×;

Г – гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей водное извлечение *Th. marschallianus*. Конденсация ядерного хроматина и кариорексис (белая стрелка) в опухолевых клетках. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×

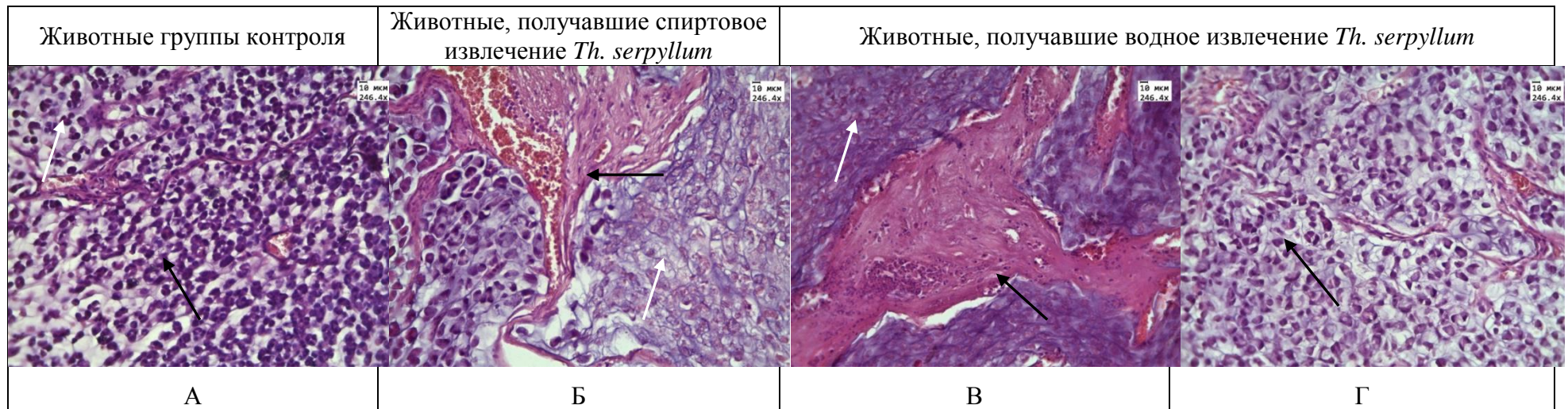


Рисунок Д.2 – Гистологическое строение опухоли у животных, получавших извлечения *Th. serpyllum*:

А – гистологическое строение опухоли в группе контроля. Клетки опухоли (белая стрелка) разделены тонкими прослойками соединительной ткани (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×;

Б – гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей спиртовое извлечение *Th. serpyllum*. «Клетки-тени» (черная стрелка), толстые прослойки соединительной ткани (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×;

В – гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей водное извлечение *Th. serpyllum*. «Клетки-тени» (черная стрелка), толстые прослойки соединительной ткани (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×;

Г – гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей водное извлечение *Th. serpyllum*. Мелкие опухолевые клетки на периферии опухоли крыс (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4×

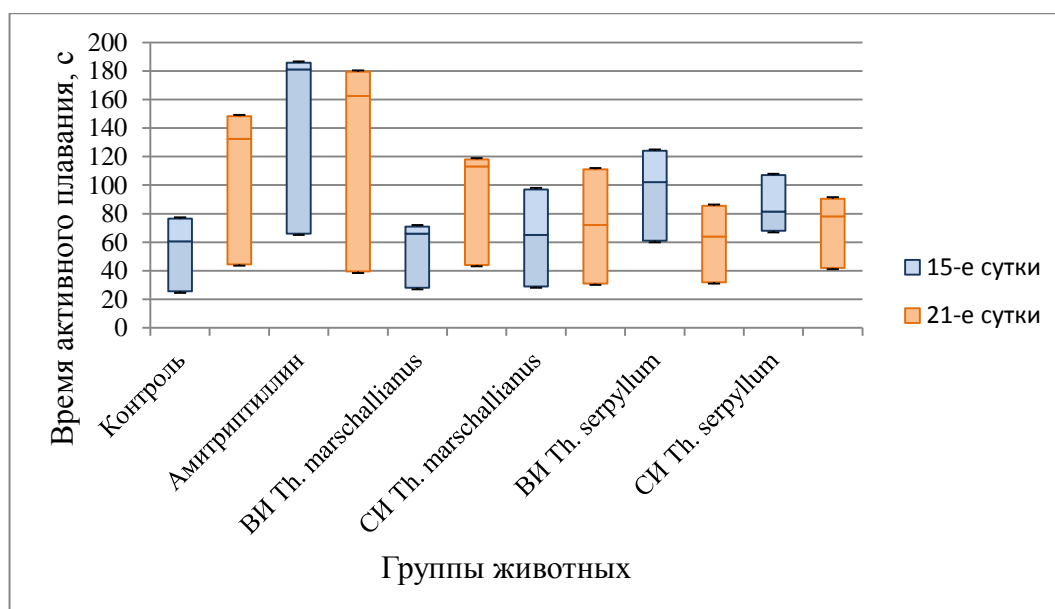
**ПРИЛОЖЕНИЕ Е. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗВЛЕЧЕНИЙ *Th. marschallianus* И
Th. serpyllum НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ
ЖИВОТНЫХ**

Антидепрессивная активность

Для оценки антидепрессивной активности проведены 2 серии экспериментов с применением установок «подвешивание за хвост» и «поведение отчаяния» по Porsolt.

В тесте «подвешивание за хвост» в течение 21-х суток эксперимента у животных, получавших и спиртовое, и водное извлечения *Th. marschallianus* (100 мг/кг) значения времени суммарного сохранения активности были всегда больше, а периода иммобилизации меньше, чем в негативном контроле, и занимали промежуточное положение между данными группой негативного и позитивного контроля. У извлечений *Th. serpyllum* (как спиртовых, так и водных 100 мг/кг) такой зависимости не выявлено (на протяжении всего эксперимента, результаты животных этой группы были аналогичны негативному контролю) [105].

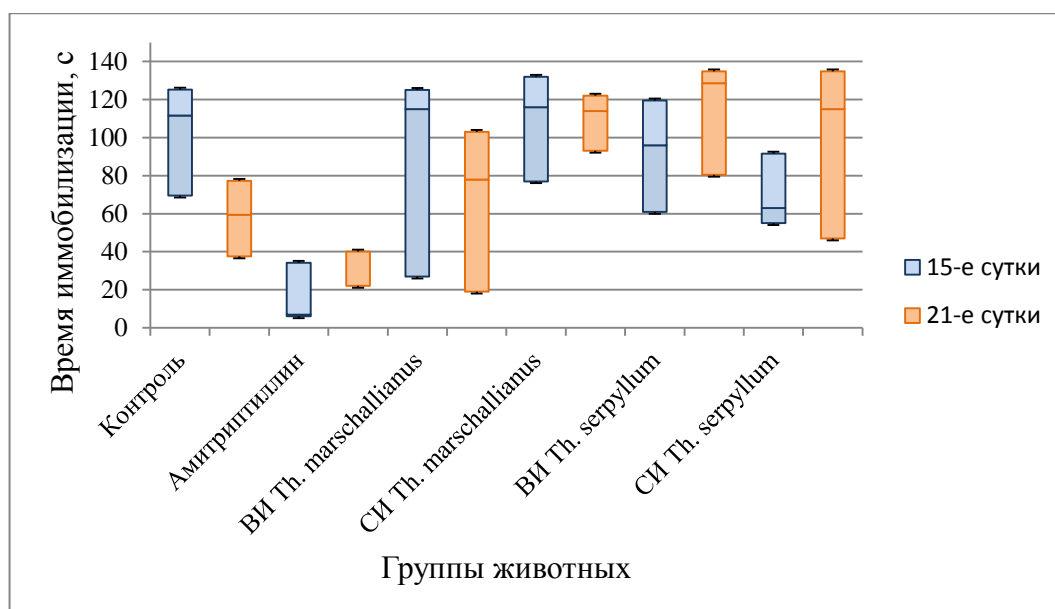
В тесте «поведение отчаяния» по Porsolt при оценке продолжительности времени суммарного сохранения активности и иммобилизации в группах животных, получавших воду, amitriptilin, водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* было установлено отсутствие различий на 1-е и 7-е сутки эксперимента и наличие статистически значимых различий на 15-е и 21-е сутки эксперимента. При попарном сравнении групп на 15-е сутки исследования отмечали более длительное сохранение времени активного плавания у группы мышей, получавших amitriptilin на 300% ($p=0,01$) по сравнению с контролем. У животных, которым вводили водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* этот показатель был незначительно выше, чем у группы контроля, на 35% ($p=0,17$), 43,6% ($p=0,05$), 64% ($p=0,05$) и 63,5% ($p=0,008$), соответственно. На 21-е сутки время активного плавания у животных, получавших водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* оставалось меньше, чем у животных, которым вводили amitriptilin на 52% ($p=0,03$), 60,6% ($p=0,32$), 55,7% ($p=0,12$) и 30% ($p=0,005$). (Рисунок Е.1).



Примечание: Контроль – группа животных негативного контроля (получавшие воду), Амитриптилин – группа животных позитивного контроля (получавшие амитриптилин), ВИ *Th. marschallianus* – группа животных, получавших водное извлечение *Th. marschallianus*, СИ *Th. marschallianus* – группа животных, получавших спиртовое извлечение *Th. marschallianus*, ВИ *Th. serpyllum* – группа животных, получавших водные извлечения *Th. serpyllum*, СИ *Th. serpyllum* – группа животных, получавших спиртовое извлечение *Th. serpyllum*

Рисунок Е.1 – Показатели суммарного сохранения времени активного плавания белых мышей в тесте Porsolt

Время иммобилизации на 15-е сутки у мышей в группе, получавшей амитриптилин, было меньше по сравнению с контролем на 93,7% ($p=0,014$). У животных в опытных группах суммарное время иммобилизации было выше, чем в группе, получавшей амитриптилин: СИ *Th. serpyllum* 88,9% ($p=0,275$), ВИ *Th. serpyllum* 92,7% ($p=0,0247$), СИ *Th. marschallianus* 94,0% ($p=0,099$), ВИ *Th. marschallianus* 93,9% ($p=0,0081$) и статистически значимо не отличалось от группы контрольных животных. На 21-е сутки время иммобилизации у экспериментальных групп также было выше по отношению к группе мышей, которым вводили амитриптилин на 80,9% ($p=0,028$), 82,9% ($p=0,0247$), 80,7% ($p=0,008$) и 71,8% ($p=0,0044$), соответственно (Рисунок Е.2) и статистически значимо не отличалось от животных, получавших воду.



Примечание: Контроль – группа животных негативного контроля (получавшие воду), Амитриптилин – группа животных позитивного контроля (получавшие амитриптилин ВИ *Th. marschallianus* – группа животных, получавших водное извлечение *Th. marschallianus*, СИ *Th. marschallianus* – группа животных, получавших спиртовое извлечение *Th. marschallianus*, ВИ *Th. serpyllum* – группа животных, получавших водные извлечения *Th. serpyllum*, СИ *Th. serpyllum* – группа животных, получавших спиртовое извлечение *Th. serpyllum*

Рисунок Е.2 – Показатели суммарного сохранения времени активного плавания белых мышей в тесте Porsolt

На 15-е и 21-е сутки исследования время иммобилизации в опытных группах было статистически значимо выше по сравнению с группой животных, получавших амитриптилин (доза 10 мг/кг). В динамике следует отметить тенденцию к снижению времени активного плавания у мышей, получавших извлечения *Th. serpyllum* (водное и спиртовое) и наоборот, увеличение этого показателя у животных в группах, получавших извлечения *Th. marschallianus*. В целом водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в дозе 100 мг/кг в эксперименте не показали значимого увеличения времени активного плавания и снижения иммобилизации на протяжении 21-х суток эксперимента по сравнению с группой контрольных мышей [136].

Анксиолитическая активность

В исследовании с использованием установок «крестообразный лабиринт» и «темно-светлая камера» в течение 21-х суток эксперимента не выявлено статистически значимых отличий по всем исследуемым показателям, как между группами мышей, получавших водные и спиртовые извлечения *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum*, так и при их сравнении с контрольной группой, получавшей воду. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии у исследуемых водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* анксиолитической активности влияния при концентрации извлечений 100 мг/кг [130].

Влияние на когнитивные функции лабораторных животных

В ходе проведенного исследования при анализе баллов памяти с помощью критерия Фридмана по сравнению с группой негативного контроля, получавших воду, отмечали отсутствие различий в первую серию тестирования животных (2-7 сутки) [106, 124] и наличие статистически значимых различий во вторую серию (16-21 сутки). Выявлены отличия у животных, получавших кофеин в дозе 40 мг/кг, с 17 по 21 сутки эксперимента отмечали рост баллов памяти (на 17 сутки – 0,07; 18 – 0,11; 19 – 0,11; и 21 – 0,18), что выражалось в снижении количества ошибок при повторных заходах в рукава и обусловлено активацией когнитивных функций – кратковременной и долговременной памяти [13, 157], но статистической достоверности результатов по сравнению с контрольными животными не выявлено. У опытной группы, получавшей водное извлечение *Th. marschallianus* (100 мг/кг), к 18-21-м суткам отмечалось увеличение баллов памяти по сравнению с группой негативного контроля и их значение составило к 17-м сутки – 0,07, 18-м – 0,25 ($p=0,02$), 19-м – 0,18 ($p=0,01$) и к 21-м до 0,24 ($p=0,02$) (Таблица Е.1).

Таблица Е.1 – Баллы памяти экспериментальных мышей

Группы животных	Баллы памяти Me (Q ₁ ; Q ₃)			
	17 сутки	18 сутки	19 сутки	21 сутки
Контрольная (интактные животные)	0,1	0,29	0,08	0,21
Кофеин	0,07 $p=0,08$	0,11 $p=0,33$	0,11 $p=0,28$	0,18 $p=0,17$
ВИ <i>Th. marschallianus</i>	0,07 $p=0,02$	0,25 $p=0,02$	0,18 $p=0,01$	0,18 $p=0,02$
СИ <i>Th. marschallianus</i>	0,10 $p=0,31$	0,23 $p=0,053$	0,08 $p=0,15$	0,12 $p=0,09$
ВИ <i>Th. serpyllum</i>	0,09 $p=0,15$	0,18 $p=0,11$	0,15 $p=0,32$	0,17 $p=0,45$
СИ <i>Th. serpyllum</i>	0,09 $p=0,16$	0,16 $p=0,22$	0,17 $p=0,17$	0,18 $p=0,34$

Примечание: ВИ *Th. marschallianus* – группа животных, получавших водное извлечение *Th. marschallianus*; СИ *Th. marschallianus* – группа животных, получавших спиртовое извлечение *Th. marschallianus*; ВИ *Th. serpyllum* – группа животных, получавших водное извлечение *Th. serpyllum*; СИ *Th. serpyllum* – группа животных, получавших спиртовое извлечение *Th. serpyllum*;
Me – медиана, Q₁ – нижний квартиль, Q₃ – верхний квартиль; p^* – значимость различий с контролем оценивали с помощью критерия Фридмана

Следует отметить отсутствие закономерностей в поведении мышей при введении водного извлечения *Th. marschallianus*, что говорит о минимальном специфическом влиянии на формирование рабочей и долговременной пространственной памяти мышей. Баллы памяти у животных остальных опытных групп (получавших спиртовое извлечение *Th. marschallianus*,

водное извлечение *Th. serpyllum*, спиртовое извлечение *Th. serpyllum*) достоверно не отличались от группы контрольных мышей.

Результаты эксперимента обуславливают необходимость более продолжительного исследования эффектов извлечения для оценки их активности при хроническом введении.

Таким образом, введение водных и спиртовых извлечений *Th. marschallianus* и *Th. serpyllum* в дозе 100 мг/кг не показало статистически значимых различий по сравнению с контролем, что свидетельствует об отсутствии их влияния на кратковременную и долговременную память у животных.