

## Flavonoidų analizė raudonosios monardos (*Monarda didyma L.*) žieduose ir lapuose

Nijolė Savickienė, Audronė Dagilytė, Zita Barsteigienė, Saulius Kazlauskas<sup>1</sup>, Jonė Vaičiūnienė<sup>2</sup>

*Kauno medicinos universiteto Farmacinės chemijos ir farmakognozijos katedra,*

<sup>1</sup>*Analizinės ir toksikologinės chemijos katedra,* <sup>2</sup>*Botanikos institutas*

**Raktažodžiai:** raudonoji monarda, flavonoidai, didelio slėgio skysčių chromatografija.

**Santrauka.** Raudonoji monarda (*Monarda didyma L.*) – daugiametis žolinis augalas, priklausantis lūpažiedžių (*Labiatae*) šeimai. *Monarda didyma L.* vartojama liaudies medicinoje, dažniausiai esant virškinimo sutrikimams. Augalas pasižymi antihelminciniu, diuretiniu bei atsikosėjimą skatinančiu, karštį mažinančiu, apetitą gerinančiu, tonizuojančiu veikimu.

Raudonosios monardos eteriniame aliejuje rasti 26 komponentai, iš jų: timolis, para-cimenas, d-limonenas, karvakrolis, linaloolis ir hidrotimochinonas.

Tyrimų tikslas – nustatyti flavonoidų: rutino, hiperozido, kvercitrino, luteolino ir kvercetino kiekius raudonosios monardos lapuose bei žieduose. Taikėme naują flavonoidų nustatymo metodiką naudodami didelio slėgio skysčių chromatografiją. Nustatėme, kad bendras flavonoidų kiekis žieduose daug didesnis už tų pačių flavonoidų kiekį lapuose.

### Įvadas

Raudonoji monarda – plačiai paplitęs daugiametis žolinis augalas, turintis keturbriaunius stiebus, priešiniu būdu išsidėsčiusius lapus, būdingus lūpažiedžių (*Labiatae*) šeimos augalams. Šis augalas užauga iki 180 cm aukščio, o lapai – iki 15 cm ilgio. Lapalakštis – lancetinis ovalios formos, lapkotis – 1–3 cm ilgio. Sutrinti lapai skleidžia aromatą. Raudonosios monardos žiedai netaisyklingi pavieniai iki 4,5 cm ilgio, ryškiai raudonos spalvos. Pražysta anksti vasarą ir žydi iki vasaros pabaigos. Žiemą raudonosios monardos antžeminė dalis nunyksta, o pavasarį – atželia iš požeminių stiebų (1).

Raudonosios monardos tėvynė – Rytų Amerika; auga kalnuose, kartais randama medžiais apaugusiose upių pakrantėse ir drėgnuose miškuose.

Augalo pavadinimas kilęs nuo jį aprašiusio ispanų gydytojo Nicolas Monardes pavardės. Taip pat augalas vadinamas „bičių paguoda“, „bergamotu“, „auksine melisa“. Raudonosios monardos lapų aromatas primena Italijos pietuose augantį citrinmedį. Puiki aromatinga arbata ruošinama iš šviežių arba džiovintų lapų bei žiedų. Lapai ir jauni ūgliai (švieži arba termiškai apdoroti) vartojami kaip prieskoninė medžiaga maisto pramonėje.

*Monarda didyma L.* vartojama liaudies medicinoje dažniausiai esant virškinimo sutrikimams. Augalo antžeminė dalis pasižymi antihelminciniu, diuretiniu,

atsikosėjimą skatinančiu, karštį mažinančiu, tonizuojančiu veikimu. Užpilai, paruošti iš raudonosios monardos žolės, gydo kolitą, šalina dujų kaupimąsi, pykinimą, pasižymi diuretiniu veikimu.

Amerikos gyventojai vartoja raudonąją monardą kaip augalą spazmolitiką esant virškinimo trakto sutrikimams, peršalus, sergant tymais, esant bendram silpnumui.

Norint pagrįsti augalo vartojimo galimybes, būtina išsami augalo cheminė analizė. Ištyrus raudonosios monardos eterinius aliejus, rasta timolio, pasižymintčio stipriomis bakteriocidinėmis ir fungistatinėmis savybėmis bei antihelminciniu veikimu. Tačiau perdozavus timolis gali sukelti skrandžio skausmus, šleikštuli, pykinimą, traukulius, alerginę reakciją.

Raudonosios monardos eteriniame aliejuje rasti 26 komponentai, pagrindiniai iš jų: timolis, para-cimenas, d-limonenas, karvakrolis, linaloolis ir hidrotimochinonas. Bendras eterinių aliejų kiekis augale – 60–80 proc. (3–5).

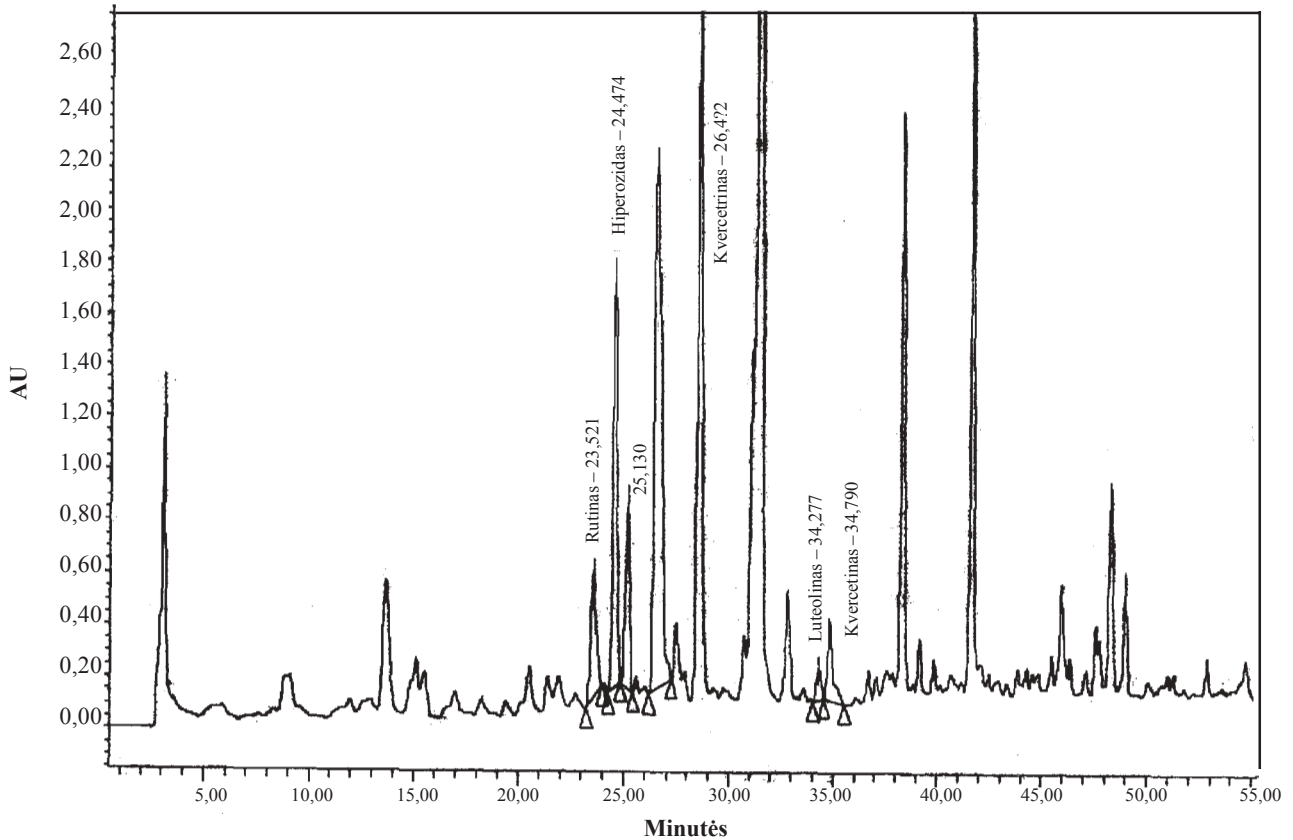
Buvo tiriamas monardos eterinių aliejų poveikis gydant aterosklerozę, atliekami eksperimentai su triušiais. Eterinių aliejų inhaliacijos, kai jų koncentracija ore 0,1–0,2 mg/m<sup>3</sup>, neturėjo poveikio cholesterolio kiekiui kraujyje, tačiau gerokai sumažino cholesterolio koncentraciją aortoje, kraujagyslėse pasireiškė eterinių aliejų antioksidacinis poveikis (6).

Raudonosios monardos eteriniai aliejai buvo varto-

**Lentelė. Flavonoidų kiekis *Monarda didyma* L. lapuose ir žieduose**

Nr.	<i>Monarda didyma</i> L. mėginiai	Flavonoidų kiekis mg%				
		rutinas	hiperozidas	kvercitrinas	luteolinas	kvercetas
1.	Lapai	201,54	194,81	21,49	20,84	20,80
2.	Lapai	240,27	135,99	8,39	7,69	18,17
3.	Lapai	255,48	123,94	17,31	4,73	9,123
4.	Lapai	210,25	117,11	2,36	11,20	2,85
5.	Lapai	357,37	192,87	13,24	14,59	11,31
Vidurkis		252,98	152,94	12,56	11,81	12,46
SD		62,32	37,95	7,49	6,26	7,19
SEM		27,87	16,97	3,35	2,80	3,22
1.	Žiedai	346,87	89,37	99,97	10,22	9,54
2.	Žiedai	319,43	60,71	100,85	10,20	10,03
3.	Žiedai	398,6	344,41	46,68	29,02	23,81
Vidurkis		354,97	164,83	82,5	16,49	14,46
SD		40,20	156,18	31,02	10,85	8,10
SEM		23,21	90,17	17,91	6,27	4,68

SD – standartinė paklaida, SEM – standartinė santykinė paklaida.



**Pav. Flavonoidų pasiskirstymas chromatogramoje**

jami inhaliacijoms sergant lėtiniu bronchitu. Inhaliacinį mišinį sudarė: *Mentha piperita L.*, *Artemisia limonica L.*, *Salvia officinalis L.*, *Lavandula angustifolia Mill.*, *Monarda didyma L.* žolė, santykiu: 2:4:1:1:2. Eterinių aliejų koncentracija ore buvo 0,1–0,5 mg/m<sup>3</sup>. Gydomo kurso trukmė – nuo 4 iki 10 procedūrų po 30 min. Tai sustiprino priešuždegimini poveikį, pagerino gydymo rezultatus (7).

Spalvotose augalų dalyse be flavonoidų dominuoja kiti fenoliniai junginiai – tai antocianai. *Monarda didyma L.* – dekoratyvinis augalas, turintis ryškiai raudonus lapus. Todėl būtina kokybinė ir kiekybinė šio augalo antocianų analizė. Dauguma (*Labiatae*) šeimos augalų sukaupia nemažus kiekius triterpeninių saponinų. Vertėtų ištirti triterpeninius saponinus raudonosios monardos žaliavoje.

Be to, būtinas kitų *Monarda* genties rūšių (*Monarda fistulosa*, *Monarda citriodora*, *Monarda punctata*) cheminės sudėties palyginimas.

Tolesnė augalo cheminės sudėties analizė įgalintų tinkamai ir pagrįstai įvertinti vartojimo galimybes, nepageidaujamus poveikius, priklausančius nuo pagrindinių biologiškai veiklių junginių bei jų tarpusavio sąveikos.

### Tyrimo medžiaga ir metodai

Tyrimų tikslas. Nustatyti flavonoidų kiekius raudonosios monardos (*Monarda didyma L.*) lapuose ir žieduose. Taikėme naują flavonoidų kiekybinio nustatymo metodiką naudodami didelio slėgio skysčių chromatografiją (8).

Didelio slėgio skysčių chromatografija yra tikslesnė bei efektyvesnė negu spektrofotometrija ir šiuo metu plačiai naudojama atliekant natūraliųjų produktų cheminę analizę. Atliekant didelio slėgio skysčių chromatografiją, vyksta komponentų jonizavimas ir atsiranda galimybė kiekybiškai įvertinti net flavonoidų kompleksinius junginius (pvz., glikozidus).

Svarbus kiekybinio nustatymo metodikos etapas – flavonoidų ekstrahavimas iš augalinės žaliavos (9).

Nustatyta, kad flavonoidai visiškai išsiekstrahuoja iš augalinės žaliavos naudojant 70 proc. (v/v) etanolį. Ekstrahavimui ėmėme apie 15 g džiovintų raudonosios monardos lapų ir žiedų. Tuo atveju 10 µl injekuojamo ekstrakcinio tirpalo esti nuo 0,8 µg iki 10 µg flavonoidų (metodo standartinė paklaida – 1,3 proc.).

Džiovinti lapai ar žiedai buvo ekstrahuojami 70 proc. etanoliu kaitinant vandens vonioje, esant 100°C temperatūrai, su grįžtamu šaldytuvu penkias valandas. Ekstraktas nufiltruotas, filtratas išgarintas iki sauso

likučio naudojant rotacinį garinimo aparatą 60–80°C temperatūros. Sausas likutis ištirpintas tiksliame kiekyje – 20 ml metanolio 10 min. šildant vandens vonioje. Analizė atlikta didelio slėgio skysčių chromatografu „Waters 2690“, kolonėlė – xTerra RP<sub>18</sub> 3,9×150 mm; 3,5 µm. Palyginimui buvo naudojamos rutino, hiperozido, kvercetino, kvercitrino bei luteolino standartinės medžiagos, eliuentu parinktos dvi tirpiklių sistemos: A sistema (80 proc. vandens, 5 proc. acetonitrilo, 15 proc. mišinio, sudaryto iš 1,5 proc. fosfato rūgšties ir 20 proc. ledinės acto rūgšties) (v/v), B sistema (25 proc. vandens, 60 proc. acetonitrilo, 15 proc. mišinio, sudaryto iš 1,5 proc. fosfato rūgšties ir 20 proc. ledinės acto rūgšties) (v/v) (9). A eliuentas per 50 minučių tolygiai pakeičiamas B eliuentu.

Matavimai atlikti 254 nm bangos ilgyje. Rutino sulaikymo laikas – 23,52 min., hiperozido – 24,47 min., kvercitrino – 26,44 min., luteolino – 34,28 min. ir kvercetino – 34,79 min. Flavonoidų pasiskirstymas chromatogramoje pavaizduotas paveiksle.

### Rezultatai ir jų aptarimas

Tyrėme raudonosios monardos (*Monarda didyma L.*), surinktos iš skirtingų augimo vietų, lapus ir žiedus. Tyrimų duomenys pateikiami lentelėje.

Raudonosios monardos lapuose ir žieduose rasti didesni rutino bei hiperozido kiekiai negu kvercitrino, luteolino ir kvercetino tose pačiose augalo dalyse. Rutino *Monarda didyma L.* lapuose rasta 201,54–357,37 mg%, hiperozido – 117,11–194,84 mg%, kvercitrino – 2,36–21,49 mg%, luteolino – 4,73–20,84 mg%, kvercetino – 2,85–20,80 mg%. Raudonosios monardos žieduose rutino kiekis 319,43–398,60 mg%, hiperozido – 60,71–344,41 mg%, kvercitrino – 46,68–100,85 mg%, luteolino – 10,20–29,02 mg%, kvercetino – 9,54–23,81 mg%.

Bendras flavonoidų kiekis raudonosios monardos žieduose daug didesnis už tų pačių flavonoidų kiekį lapuose.

### Išvados

1. Parinktos flavonoidų ekstrahavimo iš raudonosios monardos augalinės žaliavos sąlygos.

2. Parinkta chromatografinė kolonėlė bei eliuentų sistema, įgalinanti nustatyti pasirinktų flavonoidų kiekius vienoje chromatogramoje.

3. Nustatyti flavonoidų kiekiai raudonosios monardos žieduose bei lapuose, atlikta flavonoidų kiekio žieduose ir lapuose lyginamoji analizė.

## Identification of flavonoids in the flowers and leaves of *Monarda didyma* L.

Nijolė Savickienė, Audronė Dagilytė, Zita Barsteigienė, Saulius Kazlauskas<sup>1</sup>, Jonė Vaičiūnienė<sup>2</sup>

Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, <sup>1</sup>Department of Analytical and Toxicological Chemistry, Kaunas University of Medicine, <sup>2</sup>Institute of Botany, Lithuania

**Key words:** *Monarda didyma* L., flavonoids, high-performance liquid chromatography.

**Summary.** *Monarda didyma* L. is a herbaceous perennial with the square stems and opposite leaves characteristic of herbs in the Labiate family.

*Monarda didyma* L. is often used as a domestic medicine, being particularly useful in the treatment of digestive disorders. The leaves and flowering stems are antihelmintic, carminative, diuretic, expectorant, febrifuge, rubefacient and stimulant.

*Monarda didyma* L. has twenty-six compounds in the essential oil, of which thymol, with smaller amounts of para-cymene, d-limonene, carvacrol, linalool, and hydrothymoquinone. A new method was used for the determining of the amount of separate flavonols by high-performance liquid chromatography. The flavonoids (rutin, hyperoside, quercitrin, luteolin, quercetin) were found in leaves and flowers of beebalm. The quantity of flavonoids was higher in flowers than in leaves of *Monarda didyma* L.

---

Correspondence to N. Savickienė, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Kaunas University of Medicine, A. Mickevičiaus 9, 3000 Kaunas, Lithuania. E-mail: farmakurs@kmu.lt

### Literatūra

1. Collicutt LM, Davidson CG. PetiteDelight – monarda. Hort Science 1999;34:149-50.
2. Mattern A. Monardas of merit. Garden London 1994;119:516-9.
3. Prakash V. Leafy spices. Boca Raton, Florida, USA: CRS Press; 1990. p. 114.
4. Carnat AP, Lamaison JL, Remery A. Composition of leaf and flower essential oil from *Monarda didyma* L. cultivated in France. Flavour and Fragrance Journal 1991;6:79-80.
5. Baranova SV, Dorokhovskaya RL, Kapelev IG. Essential oils of some *Monarda* and *Mentha* Species. Trudy Gosudarstvennogo Nikitskogo Botanicheskogo Sada 1981;83:42-50.
6. Nikolaevskii VV, Kononova NS, Pertsovskii AI, Shinkarchuk IF. Effect of essential oils on the course of experimental atherosclerosis. Patol Fiziol Eksp Ter 1990;5:52-3.
7. Shubina LP, Siurin SA, Savchenko VM. Inhalations of essential oils in the combined treatment of patients with chronic bronchitis. Vrqach Delo 1990;5:66-7.
8. Dagilyte A, Kazlauskas S, Janulis V. Flavonoidų fitocheminė analizė pelkinės vingiorykštės augalinėje žaliavoje dielio slėgio skystinės chromatografijos metodu. (Analysis of flavonoids in the herb of *Filipendula ulmaria* using HPLC.) Medicina 2000;36:305.
9. Bruce A Bohm. Introduction to flavonoids. Harwood Acad pub; 1998, p. 175-243.

*Straipsnis gautas 2002 05 16, priimtas 2002 05 28*

*Received 16 May 2002, accepted 28 May 2002*