

УДК 582. 929.4: 577.19

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА МЕЛИССЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

Гребенникова О.А., Палий А.Е., Логвиненко Л.А.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр НААН Украины,
пгт. Никита, Ялта, Украина
E-mail: oksanagrebennikova@yandex.ru

В статье приведены данные о качественном и количественном составе биологически активных веществ (летучих соединений, фенольных веществ, витаминов) водно-этанольного экстракта перспективного сортообразца мелиссы лекарственной селекции НБС–ННЦ. Сделан вывод о возможности использования экстракта для создания пищевой и лечебно-профилактической продукции.

Ключевые слова: мелисса лекарственная, биологически активные вещества, водно-этанольный экстракт, летучие соединения, фенольные вещества, витамины.

ВВЕДЕНИЕ

Род мелисса (*Melissa*) относится к семейству яснотковые – *Lamiaceae* и включает, по данным разных авторов, от 2 до 10 видов [1]. Наиболее ценный вид этого растения – Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.), родиной которой является район восточного Средиземноморья [2–5]. Культивируют мелиссу лекарственную во многих странах мира, где она входит в реестр фармакопейных растений [2, 6–8], в том числе и в Украине (в Крыму).

Мелисса находит широкое применение в медицине, в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности во многих странах мира [3, 9, 10]. Сырье мелиссы обладает седативным, спазмолитическим, иммуномодулирующим, антидепрессивным, антигистаминным, антиоксидантным, противовоспалительным и антимикробным действием [1, 3, 4, 9, 11, 12]. Кроме того обнаружено, что это растение обладает противовирусной активностью в отношении вирусных инфекций, таких как оспа, грипп, герпес [12, 13].

Биологическая ценность сырья мелиссы лекарственной обусловлена комплексом биологически активных веществ, таких как летучие соединения, фенольные вещества и витамины.

Основными компонентами эфирного масла мелиссы лекарственной являются терпеноиды – гераниаль, нераль, цитронеллаль и гераниол [1, 3, 10, 14–16]. Некоторые авторы выделяют еще один специфический компонент – β -кариофиллен [16–18]. Несмотря на это, химический состав эфирного масла мелиссы лекарственной, представленный разными исследователями, отличается в зависимости от региона произрастания и от сортовой принадлежности растения. Так, в 11 сортах мелиссы лекарственной, выращенной в Турции, содержание основных компонентов эфирного масла различно [15]. Также отличается

содержание главных компонентов эфирного масла в пяти сортах Melissa лекарственной, произрастающей в Польше [18]. Имеет место и отличие состава эфирного масла, полученного из разных частей растения, так, в листьях, по сравнению со стеблями, отмечено большее содержание монотерпеноидов [10].

Фенольные соединения *Melissa officinalis* представлены фенолкарбоновыми кислотами и их производными, флавоноидами и кумаринами [2, 6, 7]. В Melissa лекарственной, выращенной в Европе, были идентифицированы *n*-кумаровая, феруловая, кафтаровая и кофейная кислоты [12]. Другими исследователями были выявлены розмариновая, кофейная и протокатеховая кислоты [19]. Характерные для этого растения флавоноиды – гликозиды лютеолина и апигенина [1, 5]. Водный экстракт Melissa лекарственной содержит гидролизуемые дубильные вещества в количестве 4,32 % [20] и 2,06 % флавоноидов [21].

Кроме того, свежая трава Melissa лекарственной содержит аскорбиновую кислоту (53,2 мг/100 г) и каротиноиды (46,3 мг/100 г) [3]. В водном экстракте Melissa лекарственной концентрация аскорбиновой кислоты достигает 245 – 250 мг/100 г [21, 22].

В связи с этим, актуальна интродукция и селекция Melissa в условиях Украины (Крыма), а также изучение ее биологически активных веществ. В Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре ведется работа по выведению новых сортов Melissa лекарственной, среди которых по ряду хозяйственно-ценных признаков был выделен сортообразец, отличающийся высокой урожайностью и выходом эфирного масла.

Таким образом, целью настоящей работы явилось изучение качественного и количественного состава биологически активных веществ (летучих соединений, фенольных веществ, витаминов) в водно-этанольном экстракте перспективного сортообразца Melissa лекарственной селекции НБС – ННЦ для обоснования целесообразности его использования при создании продукции с высокой биологической ценностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явилось сырьё перспективного сортообразца Melissa лекарственной (*Melissa officinalis* L.), собранной на коллекционных участках Никитского ботанического сада в фазу цветения.

Содержание летучих веществ определяли в водно-этанольных экстрактах, приготовленных из воздушно-сухого растительного сырья. Экстракцию проводили 50 %-ным раствором этанола при соотношении сырья к растворителю 1: 10 настаиванием в течение 10 суток при комнатной температуре.

Компонентный состав летучих веществ определяли с помощью хроматографа Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973. Колонка HP-1 длиной 30 м; внутренний диаметр – 0,25 мм. Температура термостата программировалась от 50 до 250⁰С со скоростью 4⁰С/мин. Температура инжектора – 250⁰С. Газ носитель – гелий, скорость потока 1 см³/мин. Перенос от газового хроматографа к масс-спектрометрическому детектору прогревался до 230⁰С. Температура источника поддерживалась на уровне 200⁰С. Электронная ионизация

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА МЕЛИССЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

проводилась при 70 eV в ранжировке масс m/z от 29 до 450. Идентификация выполнялась на основе сравнения полученных масс-спектров с данными комбинированной библиотеки NIST05-WILEY2007 (около 500000 масс-спектров).

Компонентный состав фенольных веществ определяли на хроматографе фирмы Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованном проточным вакуумным дегазатором G1379A, 4-канальным насосом градиента низкого давления G13111A, автоматическим инжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, диодноматричным детектором G1316A. Для проведения анализа была использована хроматографическая колонка размером 2,1×150 мм, заполненная октадецилсилильным сорбентом «ZORBAX-SB C-18 зернением 3,5 мкм. При анализе применяли градиентный режим хроматографирования, предусматривающий изменение в элюирующей смеси соотношения компонентов А (0,1 % ортофосфорная кислота; 0,3 % тетрагидрофуран; 0,018 % триэтиламин) и В (метанол). Скорость подачи подвижной фазы составила 0,25 см³/мин; рабочее давление элюента – 240-300 кПа; объем пробы – 2 мкл; время сканирования – 0,5 с; масштаб измерений 1,0. Идентификацию фенольных веществ проводили по времени удерживания стандартов и спектральным характеристикам (параметры снятия спектра – каждый пик 190-600 нм; длины волн 280, 313, 350, 371 нм) [23, 24].

Суммарное содержание фенольных веществ определяли фотометрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [25], содержание каротиноидов – фотометрическим методом [26], концентрацию аскорбиновой кислоты – йодометрическим титрованием [27].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемый сортообразец мелиссы лекарственной отличается высокой продуктивностью – урожайность сырья 192,8 ц/га, что превышает условный контроль на 58 %, масса 1000 семян 0,64 г. Надземная масса имеет характерный мятно-лимонный запах, обусловленный наличием в ней эфирного масла.

В результате проведенных исследований установлено, что концентрация летучих веществ в водно-этанольном экстракте исследуемого сортообразца мелиссы лекарственной составила 224 мг/дм³. В составе летучих соединений обнаружено 62 компонента, из которых 38 идентифицированы (табл. 1).

Таблица 1

Компонентный состав летучих соединений водно-этанольного экстракта мелиссы лекарственной

№	Время выхода, мин	Компонент	Массовая доля, %
1	2	3	4
1	8.6	Бензальдегид	1,06
2	10.2	2,4-Гептадиеналь	0,51
3	10.98	1,8-Цинеол	0,56
4	11.05	Бензиловый спирт	0,71
5	11.37	Фенилацетальдегид	0,67

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
6	12.33	Транс-линалоолоксид	0,56
7	13.49	Нонаналь	0,51
8	13.63	α -Туйон	0,43
9	13.85	β -Фенилэтиловый спирт	0,97
10	14.04	β -Туйон	0,34
11	15.12	Камфора	0,97
12	15.21	Цитронеллаль	4,03
13	18.29	Нераль	6,00
14	18.79	Метилцитронеллат	2,54
15	19.17	Гераниаль	8,21
16	19.56	2,3-Эпоксигераниаль	0,74
17	19.97	Карвакрол	0,75
18	20.51	Метилгераниат	0,85
19	21.66	Каприновая кислота	0,78
20	21.81	Геранилацетат	0,42
21	22.85	β -Кариофиллен	2,49
22	23.66	γ -Ундекалактон	0,78
23	24.03	Гермакрен D	1,28
24	24.65	δ -Кадинен	0,54
25	24.93	Дигидроактинидиолид	1,02
26	25.65	Диэтилсуберат	1,65
27	25.74	1,6-Гермакрадиен-5-ол	3,01
28	25.88	Кариофилленоксид	10,26
29	26.3	Гумуленоксид	0,51
30	26.97	α -Кадинол	1,67
31	28.38	Миристиновая кислота	2,12
32	31.16	Пальмитиновая кислота	8,80
33	31.4	Этилпальмитат	0,82
34	32.05	Оксибензон	0,87
35	32.85	Фитол	3,32
36	33.35	Линолевая кислота	7,25
37	33.41	Этиллинолеат	0,45
38	33.49	Этиллиноленат	0,98

Для водно-этанольного экстракта данного сортообразца наиболее характерны такие летучие вещества как монотерпеновые альдегиды, сесквитерпеноиды и органические кислоты. Преобладающими компонентами являются кариофилленоксид (10,26 %), пальмитиновая кислота (8,80 %) и гераниаль (8,21 %), что согласуется с литературными данными, полученными для эфирного масла этого

растения [18]. Кроме того, отмечено значительное содержание линолевой кислоты (7,25 %) нералья (6,00 %) и цитронеллала (4,03 %).

Цитронеллаль, нераль и гераниаль являются наиболее ценными компонентами эфирного масла мелиссы лекарственной. Высокое содержание этих монотерпеновых альдегидов в экстракте не только придает ему приятный лимонно-цветочный аромат, но и обеспечивает выраженный седативный эффект [1]. Содержащиеся в эфирном масле органические кислоты также имеют важное физиологическое значение. Они обладают противовоспалительным, капилляроукрепляющим действием и играют значительную роль в патогенезе многих заболеваний (воспалительных, онкологических, атеросклероз, сахарный диабет) [28].

При исследовании фенольных соединений было выявлено, что их концентрация в водно-этанольном экстракте мелиссы лекарственной составила 914 мг/дм³. Из 8 обнаруженных компонентов идентифицировано 2, для 6 компонентов установлена природа (табл. 2). За исключением гликозида апигенина все фенольные соединения мелиссы представляют собой разнообразные производные кофейной кислоты, что полностью согласуется с литературными данными [12]. Преобладающим компонентом является розмариновая кислота (382,44 мг/дм³), содержание которой составляет 41,8 % от суммарного количества фенольных веществ. Розмариновая кислота – ценнейшее фенольное соединение мелиссы лекарственной. По мнению ряда авторов именно высокое содержание розмариновой кислоты обуславливает антиоксидантные, антимикробные и противовирусные свойства данного растения [29–31]. Кроме того, розмариновая кислота обладает разнообразными фармакологическими свойствами: положительным терапевтическим действием при лечении или предотвращении бронхиальной астмы, пептической язвы, воспалительных заболеваний, гепатотоксичности, атеросклероза, ишемической болезни сердца, катаракты, рака [29, 31, 32].

Таблица 2

Компонентный состав фенольных соединений в водно-этанольном экстракте мелиссы лекарственной

№	Время выхода, мин	Наименование	Концентрация, мг/дм ³
1	10.41	Производное кофейной кислоты	19,94
2	13.95	Производное кофейной кислоты	21,10
3	18.88	Производное кофейной кислоты	43,66
4	20.45	Розмариновая кислота	382,44
5	21.71	Производное кофейной кислоты	52,19
6	22.48	Гликозид апигенина	196,44
7	23.03	Производное кофейной кислоты	65,49
8	24.55	Производное кофейной кислоты	132,88

В водно-этанольном экстракте изучаемого сортообразца Melissa содержание аскорбиновой кислоты составило 17,5 мг/дм³, а концентрация каротиноидов – 3,16 мг/дм³.

Таким образом, полученный водно-спиртовой экстракт Melissa лекарственной обладает высокой биологической ценностью за счёт содержания монотерпеновых альдегидов (гераниала, нерала, цитронеллала), фенолкарбоновых кислот (главным образом розмариновой), флавонолов, аскорбиновой кислоты и каротиноидов и может быть использован для создания пищевой, косметической и лечебно-профилактической продукции, обогащенной биологически активными веществами.

ВЫВОДЫ

1. Определён качественный и количественный состав биологически активных веществ (летучих соединений, фенольных веществ, витаминов) в водно-этанольном экстракте перспективного сортообразца Melissa лекарственной.
2. Установлено, что в водно-этанольном экстракте данного сортообразца Melissa лекарственной содержатся наиболее ценные летучие соединения его эфирного масла – цитронеллаль, нераль и гераниаль.
3. Фенольные соединения экстракта Melissa лекарственной в основном представлены производными кофейной кислоты с преобладанием наиболее ценного соединения – розмариновой кислоты.
4. Проведенные исследования подтверждают целесообразность использования водно-спиртового экстракта Melissa лекарственной при создании продукции с высокой биологической ценностью.

Список литературы

1. Попова Н.В. Вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья – Melissa листьев / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко // Фармаком. – 2009. – № 2. – С. 45-50.
2. Алексеева А.В. Melissa лекарственная: перспективы использования в педиатрической практике / А.В. Алексеева, Л.И. Мазур, В.А. Куркин // Педиатрия. – 2011. – Т. 90, № 1. – С.90-95.
3. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review / H. Moradkhani, E. Sargsyan, H. Bibak [et al.] // J. of Medicinal Plants Research – 2010. – Vol. 4, № 25. – P. 2753-2759.
4. Optimisation of antioxidant extraction from lemon balm (*Melissa officinalis*) / M. Ondrejovič, F. Kraic, H. Benkovičová [et al.] // Czech J. Food Sci. – 2012. – Vol. 30, № 4. – P. 385-393.
5. Patora J. Flavonoids from lemon balm (*Melissa officinalis* L., *Lamiaceae*) / J. Patora, B. Klimek // Acta Polonica Pharmaceutica. – 2002. – Vol. 59, № 2. – P. 139-143.
6. Зузук Б.М. Melissa лекарственная (*Melissa officinalis* L.): Аналитический обзор / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик // Провизор. – 2002. – № 2. – С. 21-25.
7. Зузук Б.М. Melissa лекарственная (*Melissa officinalis* L.) / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик // Провизор. – 2002. – № 1. – С. 36-39.
8. Фито Ново-Сед – новое лекарственное средство растительного происхождения с анксиолитическими и седативными свойствами / И.В. Воскобойникова, В.К. Колхир, М.Ф. Минеева [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – № 1. – С. 38-45.
9. Rostami H. Antibacterial activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* against some human pathogenic bacteria / H. Rostami, M. Kazemi, S. Shafiei // Asian. J. of Biochemistry. – 2012. – Vol. 1. – P. 1-10.

10. Sharafzadeh S. Aroma profile of leaf and stem of lemon balm (*Melissa Officinalis* L.) Grown under Greenhouse Conditions/ S. Sharafzadeh, M. Khosh-Khui, K. Javidnia // *Advances in Environmental Biology*. – 2011. – Vol. 5, № 4. – P. 547-550.
11. Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves / E. Koksal, E. Bursal, E. Dikici [et al.] // *J. Med. Plant. Res.* – 2011. – Vol. 5, № 2 – P. 217-222.
12. Evaluation of phenolic acid derivatives and essential oil content in some *Melissa officinalis* L. varieties / I. Oniga, L. Vlase, A. Toiu [et al.] // *Farmacia*. – 2010. – Vol. 58, № 6– P. 764-769.
13. Antiherpes effect of *Melissa officinalis* L. extracts / Z. Dimitrova, N. Manolova, S. Pancheva [et al.] // *Acta Microbiol Bulg.* – 1993. – Vol. 29. – P. 65-72.
14. Bağdat R.B. The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields / R. B. Bağdat, B. Coşge // *J. of Fac. of Agric.* – 2006. – Vol. 216, No 1. – P. 116-121.
15. Sari A.O. Yield characteristics and essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) grown in the Aegean region of Turkey / A.O. Sari, A. Ceylon // *Turk. J. Agric. For.* – 2002. – Vol. 26. – P. 217-224.
16. Sharafzadeh S. Effect of nutrients on essential oil components, pigments and total phenolic content of lemon balm (*Melissa Officinalis* L.) / S. Sharafzadeh, M. Khosh-Khui, K. Javidnia // *Advances in Environmental Biology*. – 2011. – Vol. 5, No 4. – P. 639-646.
17. Meftahizade H. Investigation of antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. essential oils / H. Meftahizade, E. Sargsyan, H. Moradkhani // *J. of Medicinal Plant Research* – 1993. – Vol. 4, No 14. – P. 1391-1395.
18. Variability in the content and composition of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) cultivated in Poland / J. Patora, T. Majda, J. Gora [et al.] // *Acta Poloniac Pharmaceutica*. – 2003. – Vol. 60, № 5. – P. 395-400.
19. Žiaková A. Matrix solid-phase dispersion for the liquid chromatographic determination of phenolic acids in *Melissa officinalis* / A. Žiaková, E. Brandšteterová, E. Blahová // *J. of Chromatogra A.* – 2003. – Vol. 983. – P. 271-275.
20. Сравнительное исследование мелиссы лекарственной и шалфея лекарственного на содержание полифенолов / Е.И. Рябинина, Е.Е. Зотова, Н.И. Пономарева [и др.] // *Вестник ВГУ.* – 2009. – № 2 – С. 49-53.
21. Сравнение химико-аналитических методов определения танидов и антиоксидантной активности растительного сырья / Е.И. Рябинина, Е.Е. Зотова, Е.Н. Ветрова [и др.] // *Аналитика и контроль.* – 2011. – Т. 15, № 2. – С 202-208.
22. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина / Е.И. Рябинина, Е.Е. Зотова, Е.Н. Ветрова [и др.] // *Химия растительного сырья.* – 2011. – №3. – С. 117-121.
23. Court W.A. HP reverse phase LC of naturally occurring phenolic compounds // *J. Chromatogr.* – 1977. – Vol. 130. – P. 287-291.
24. Murrough M.I. Quantitative analysis of hop flavonols using HPLC / M.I. Murrough, G.P. Hennigan, M.J. Loughrey // *J. Agric. Food Chem.* – 1982. – Vol. 30. – P. 1102-1106.
25. Методы теххимического контроля в виноделии / Под ред. Гержиковой В.Г. – Симферополь: Таврида, 2002. – 259 с.
26. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений / Плешков Б.П. – М.: Колос, 1985. – 256 с.
27. Кривенцов В.И. Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав / Кривенцов В.И. – Ялта, 1982. – 22 с.
28. Определение двойных связей в липидах сыворотки крови: метод титрования озоном, патофизиология и диагностическое значение / В.Н. Титов, Д.М. Лисицин, М.Г. Творогова [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2001. – №7. – С. 3-9.
29. Petersen M. Rosmarinic acid / M. Petersen, M.S.J. Simmonds // *Phytochemistry.*– 2003. – Vol. 62. – P. 121-125.
30. Rosmarinic acid – an important phenolic active compound of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) / J. Toth, M. Mrlianova, D. Tekelova [et al.] // *Acta Facult. Pharm. Univ. Comeniana.* – 2003. – Vol. 50. – P. 139-146.
31. Prooxidant action of rosmarinic acid: Transition metal-dependent generation of reactive oxygen species / K. Murakami, M. Haneda, S. Qiao, [et al.] // *Toxicology in Vitro.* – 2007. – No 21 – P. 613-617.

32. Rosmarinic acid in perilla extract inhibits allergic inflammation induced by mite allergen, in a mouse model / C. Sanbongi, H. Takanowz, N. Osakabe [et al.] // Clin Exp Allergy – 2004. – No 34. – P. 971-977.

Гребеннікова О.А. Біологічно активні речовини меліси лікарської / О.А. Гребеннікова, А.Є. Палій, Л.О. Логвіненко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С. 43-50.

У статті наведені дані про якісний і кількісний склад біологічно активних речовин (летких сполук, фенольних речовин, вітамінів) водно-етанольного екстракту перспективного сортозразка меліси лікарської селекції НБС–ННЦ. Зроблено висновок щодо можливості використання екстракту для створення харчової та лікувально-профілактичної продукції.

Ключові слова: меліса лікарська, водно-етанольний екстракт, біологічно активні речовини, леткі сполуки, фенольні речовини, вітаміни.

Grebennikova O.A. Biologically active substances of lemon balm / O.A. Grebennikova, A.E. Paliy, L.A. Logvinenko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 1. – P. 43-50.

The data about qualitative and quantitative composition of biologically active substances (volatile compounds, phenolic substances, vitamins) of water-ethanolic extracts of promising specimen of lemon balm bred in NBS–NSC have been given in the paper. The conclusion about the possibility of use of the extract to create a food and health care products has been done.

Keywords: lemon balm, water-ethanolic extract, biologically active substances, volatile compounds, phenolic substances, vitamins.

Поступила в редакцію 18.02.2013 з.