***Денисенко Наталія Василівна.*** Закінчила хімічний факультет Харківського державного університету (1997). Наук. співр. відділу ДФУ ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

***Мурашко Андрій Миколайович*** (н. 1965). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1989). К.ф.н. (1994). Доцент кафедри управління якістю Національного фармацевтичного університету.

## Фітохімічні дослідження

УДК 615. 07:582.942.2

Попова Н.В., Литвиненко В.И.
Национальный фармацевтический университет
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

# Вопросы стандартизации травы мелиссы

Проведен качественный и количественный анализ травы мелиссы. Отечественные образцы травы мелиссы соответствуют по ТСХ-анализу эфирного масла требованиям монографии Европейской Фармакопеи на листья мелиссы. Предлагается стандартизовать траву мелиссы по содержанию розмариновой кислоты (не менее 0.5 %).

Мелисса лекарственная *Mellissa officinalis* L., известная также как лимонная мята, (английское название растения Lemon Balm) — многолетнее травянистое растение семейства яснотковые *Lamiaceae*. Это одно из наиболее популярных лекарственных и эфиромасличных растений в традиционной медицине Европы. В пищевой и медицинской промышленности широко применяется эфирное масло благодаря приятному аромату, способности улучшать аппетит, оказывать успокаивающее и противомикробное действие [1, 2, 6, 13, 17, 21, 26].

В составе эфирного масла мелиссы идентифицированы цитраль (до 60 %), цитронеллаль, мирцен, гераниол, линалоол, цинеол [11, 12]. Растение также содержит другие биологически активные вещества, это фенолокислоты: розмариновая кислота, этиловый эфир розмариновой кислоты, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, а также лютеолин-7-*O*-гликозид, рамназин, апигенин-7-*O*-гликозид, тритерпеноиды: олеаноловая, урсоловая кислоты, даукостерин и др. [6, 7, 8, 13, 17, 21, 22, 23, 26].

Фармакологическая активность препаратов мелиссы к настоящему времени изучена достаточно детально. Они обладают высокой антиоксидантной активностью, а также оказывают седативное, антидепрессорное, спазмолитическое, противовирусное, антибактериальное действие [1, 2, 3, 4].

Выраженная противовирусная и противомикробная активность обусловлена присутствием в растении производных кофейной кислоты, в том числе розмариновой кислоты [3, 4, 5, 6].

Согласно проведенным исследованиям, экстракт мелиссы лекарственной заметно ускоряет время заживления язв вирусного герпеса в области рта, а также показывает способность блокировать распространение вирусов [3, 4].

Флавоноиды, фенилпропаноиды и компоненты эфирного масла мелиссы отвечают не только за антигерпесную активность, но также за противоопухолевую (подавление синтеза белка в раковых клетках) и тиреоидно-регуляторную активность. В ходе лабораторных исследований было обнаружено, что экстракт мелиссы эффективен при лечении болезни Грейвса. Активные компоненты мелиссы блокируют антитела, а также действие тироид-стимулирующего гормона [3, 4, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16].

Для производства препаратов Европейская Фармакопея [19] рекомендует использовать лист мелиссы лекарственной (Melissae folium), в то время как в Украине в качестве сырья применяется трава мелиссы (Melissae herba), качество которой регламентирует ФС 42-3645-98. Некоторые зарубежные фармакопеи качество листа мелиссы анализируют в пересчете на содержание эфирного масла. Так, Фармакопеи Австрии и Германии регламентирует содержание не менее 0.05 % эфирного масла. В Британской травяной фармакопее (БТФ) монография оценивает качество листа мелиссы, хотя растительное сырье характеризуется как цветущая верхушка мелиссы лекарственной [27].

Фармакопея Европы подлинность листа мелиссы определяет с помощью тонкослойной хроматографии с идентификацией цитраля и цитронеллаля на хроматографической пла-

стинке, качество листа мелиссы регламентирует по содержанию розмариновой кислоты (не менее 1.0 %).

Анализ показателей качества мелиссы лекарственной приведены работе [28], показатели качества данного вида ЛРС по ФС 42-3645-98 приведены в Табл. 1.

Целью настоящей работы явилось исследование показателей качества травы мелиссы лекарственной, используемой в Украине.

Некоторые результаты анализа травы мелиссы были приведены в предыдущих работах [10, 18].

*Исследование сырья*

Образцы травы мелиссы лекарственной были заготовлены во время цветения на фармакопейном участке ботанического сада НФаУ, выращены и заготовлены в Дергачевском районе Харьковской области, г. Джанкой (Крым), на Крымской ОСЛР, а также были представленны ЗАО «Лектравы». Характеристика некоторых образцов травы мелиссы представлена в Табл. 2.

Анализ морфологического состава травы мелиссы свидетельствует о том, что доля стеблей составляет от 33 % до 39 %, что соответствует требованиям ФС (не более 50 %).

*Макроскопия (внешние признаки)* и *микроскопические характеристики* травы мелиссы приведены в Табл. 3.

Анализ анатомических характеристик травы мелиссы показал, что основными диагностическими анатомические признаками травы мелиссы являются [9]:

— головчатые волоски эпидермы листа, имеющие грибовидную и/или булавовидную головку с коричневым содержимым;
— многоклеточные волоски эпидермы листа со спавшимися клетками;
— двуклеточные волоски эпидермы цветка;
— спиральные и кольчатые сосуды и клетки паренхимы стебля.

*Идентификация. Метод тонкослойной хроматографии.* Европейская Фармакопея для контроля качества листьев мелиссы, как было показано в [28], рекомендует проводить тонкослойный хроматографический анализ эфирного масла листьев мелиссы с использованием подвижной фазы этилацетат - гексан (10:90), веществ сравнения — цитронеллаля и цитраля. Реактив для обнаружения компонентов масла — раствор анисового альдегида с последующим нагреванием при температуре (100-105) °С. На хроматограмме должны обнаруживаться зоны, характерные для цитронеллаля и цитраля.

В ФС 42-3645-98 какие-либо методики хроматографической идентификации травы мелиссы отсутствуют.

Хроматографический анализ эфирного масла из исследуемых образцов травы мелиссы, проведенный по описанной выше для листьев мелиссы методике Европейской Фармакопеи, показал несколько основных пятен, одно из которых совпадало с цитронелаллем, а пятно, соответствующее цитралю, показало следовые количества во всех исследуемых образцах. То есть, основным компонентом эфирного масла был цитронеллаль.

ВЭЖХ-анализ позволил установить, что эфирное масло травы мелиссы лекарственной отличается от европейских образцов эфирного масла травы мелиссы следовым количеством цитраля, и соответствует по высокому уровню цитронеллалля, гераниола и цитронелола [11].

*Количественное определение.* В ФС 42-3645-98 качество травы мелиссы оценивают по содержанию экстрактивных веществ, извлекаемых 24 % спиртом, - не менее 22 %. Как было показано, ЕФ регламентирует содержание розмариновой кислоты в листе мелиссы — не менее 1.0 % [19, 28].

Содержание розмариновой кислоты в траве мелиссы проводили методом ВЭЖХ в соответствии с методикой ЕФ для листьев мелиссы [19]. Данная методика была воспроизведена на

Таблица 1

**Требования к качеству травы мелиссы (ФС 42-3645-98)**

| Нормативный документ | Содержание действующих веществ | Зола | Потеря в массе при высушивании | Примеси | Качественный анализ методом ТСХ |
|---|---|---|---|---|---|
| ФС 42-3645-98 (трава мелиссы) | содержание экстрактивных веществ, извлекаемых 24 % спиртом, не менее 22 % | не более 12 %; зола не растворимая в кислоте хлористоводородной — не более 3 % | не более 12 % | стеблей не более 50 %, органической примеси не более 2 %, минеральной примеси не более 1 % | отсутствует |

Таблица 2

**Характеристика травы мелиссы лекарственной**

| Образец | Морфологические органы травы, % | | |
|---|---|---|---|
| | листья | стебли | цветки |
| трава мелиссы, Крым, ОСЛР | 54.16 | 39.24 | 6.60 |
| трава мелиссы, Дергачевский район | 52.90 | 37.40 | 9.70 |
| трава мелиссы, серия 51007 | 58.40 | 35.60 | 6.00 |
| трава мелиссы, серия 10108 | 53.70 | 38.10 | 8.20 |
| трава мелиссы, серия 91008 | 56.80 | 33.40 | 9.80 |

жидкостном хроматографе фирмы «Waters» с ручным инжектором Rheodyne 7725i с дальнейшей компьютерной обработкой результатов исследования, используя программу «Мультихром для Windows». Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «Waters 2487», $\lambda = 320$ нм. Хроматографическая колонка Symmetry Shield, размер (4.6 × 250) мм.

Содержание экстрактивных веществ в траве мелиссы, извлекаемых различными растворителями, определяли в соответствии с требованиями ГФ XI [20]. Результаты приведены в Табл. 4.

Результаты анализа свидетельствуют о том, что отечественные образцы травы мелиссы лекарственной характеризуются высоким уровнем розмариновой кислоты ((1.07 — 3.08) %) и соответствуют ФС 42-3645-98 по содержанию экстрактивных веществ (не менее 22 %).

Исходя из вышесказанного, считаем возможным для контроля качества травы мелиссы проводить количественный анализ по розмариновой кислоте в соответствии с монографией ЕФ на листья мелиссы, что отвечает требованиям [24, 25] для лекарственного растительного сырья.

*Испытания на чистоту.* В ЕФ для листьев мелиссы приведены показатели «Общая зола», «Потеря в массе при высушивании» и «Посторонние примеси». В ФС для травы мелиссы аналогично регламентируется зола, влажность и проводится определение посторонних примесей с определением доли стеблей в траве мелиссы (не более 50 %) (Табл. 5).

*Выводы*

Проведенные исследования показали, что для контроля качества травы мелиссы можно использовать монографию Европейской Фармакопеи на листья мелиссы (разделы «Идентификация» (метод ТСХ), «Количественное определение» (содержание кислоты розмариновой)).

Исследуемые образцы отечественного лекарственного растительного сырья травы мелиссы выдерживают приведенные выше требования Европейской Фармакопеи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зузук Б.М. Мелисса лекарственная (Melissa officinalis L.): Аналитический обзор / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик // Провизор. - 2002. - № 2. - С. 21-25.
2. Зузук Б.М. Мелисса лекарственная (Melissa officinalis L.) / Б.М. Зузук, Р.В. Куцик // Провизор. - 2002. - № 1. - С. 36-39.
3. Petersen M., Simmonds M.S.J. Rosmarinic acid. // Phytochemistry. — 2003. - Vol. 62. - P. 121—125.
4. Toth J. Rosmarinic acid - an important phenolic active compound of lemon balm (Melissa officinalis L.) / Toth J.,

Таблица 3

**Макроскопический и микроскопический анализ травы мелиссы лекарственной по ФС 42-3645-98**

| Макроскопические характеристики | Микроскопические характеристики |
|---|---|
| Верхние части стеблей длиной до 35 см с супротивными черешковыми листьями, бутонами или цветками, отдельные листья, цветки и куски стеблей. Стебли четырехгранные, продольно — желобоватые, слегка опушенные, с рыхлой серовато — белой сердцевиной, толщиной до 3 мм, более или менее опушенные, зеленого, серовато — зеленого, иногда зеленовато — бурого цвета. Цветки и бутоны в ложных мутовках, в пазухах верхних листьев. Прицветники эллиптические, заостренные или продолговатые, чашечка двугубая, опушенная, с плоской верхней губой. Венчик длиной (13- 15) мм, желтовато — белый, в полтора-два раза длиннее чашечки, двугубый, с плоской двураздельной верхней губой и трехраздельной нижней губой. | По всей поверхности листа наблюдают многочисленные сосочковидные и конусовидные волоски с бородавчатой поверхностью. По жилкам и по краю листа встречаются трех-шести-клеточные простые волоски с толстыми клетками и бородавчатой кутикулой; изредка — железистые волоски на короткой 1-3-клеточной ножке с овальной одноклеточной головкой. В нижней эпидерме листа в небольших углублениях расположены эфиромасличные железки, состоящие из 8 радиально расположенных выделительных клеток и одноклеточной ножки. Устьица на обеих сторонах листа окружены двумя клетками эпидермы (диациный тип). |

Таблица 4

**Результаты количественного анализа травы мелиссы лекарственной**

| Образец | Содержание розмариновой кислоты, % (не менее 1.0 % по ЕФ) | Содержание экстрактивных веществ, % | |
|---|---|---|---|
| | | 24 % спирт (не менее 22 % по ФС) | вода (не менее 15 % по [27]) |
| трава мелиссы, Крым, ОСЛР | 2.18 | 22.74 | 23.10 |
| трава мелиссы, Джанкой | 1.10 | 23.35 | 22.50 |
| трава мелиссы, Дергачевский район | 2.49 | 23.53 | 23.70 |
| трава мелиссы, серия 51007 | 3.08 | 23.21 | 23.50 |
| трава мелиссы, серия 10108 | 3.10 | 22.91 | 23.00 |
| трава мелиссы, серия 91008 | 2.93 | 24.67 | 24.30 |
| трава мелиссы, Фармакопейный участок НФаУ | 1.80 | 24.07 | 24.36 |

Mrlianova M., Tekelova D., Korenova M // Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae. - 2003.- Vol. 50. - P. 139-146.
5. Agata I. Melitric acids A and B, new trimeric caffeic acid derivatives from Melissa officinalis / Agata I., Kusakabe H., Hatano T., Nishibe S., Okuda T. // Chem. Pharm. Bull. - 1993. Vol. 41. - P. 1608-1611.
6. Wichtl M., Bisset N.G. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. - Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 1994. — 566 p.
7. Bagdat R. B. The essential oil of lemon balm (Melissa officinalis L.), its components and using fields // J. of Fac. of Agric. — 2006. - Vol. 21б, № 1. - P. 116-121.
8. Carnat A.P. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (Melissa officinalis L. subsp. officinalis) tea / Carnat A.P., Carnat A, Fraisse D., Lamaison J.L. // Pharmaceutics Acta Helvetiae. — 1998. - Vol. 72. - P. 301-305.
9. Попова Н.В. Морфолого-анатомическая стандартизация травы мелиссы / Попова Н.В., Литвиненко В.И., Кичимасова Я.С., Картмазова Л.С. // Фармаком. — 2008. - № 2. - С. 45-51.
10. Попова Н.В. Анализ мелиссы лекарственной и котовника кошачьего / Попова Н.В., Литвиненко В.И, Бовтенко В.А. // Фармаком. — 2008. - № 4. - С. 30-35.
11. Попова Н.В. Анализ эфирного масла мелиссы лекарственной / Попова Н.В., Литвиненко В.И. // Фармаком. — 2009. - № 1. - С. 37-40.
12. Степаненко Л.В. Химический состав эфирного масла мелиссы лекарственной Красноярского края / Степаненко Л.В, Шаталина Н.В., Слащинин Г.Д, Ефремов А.А.// Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: Материалы III Всероссийской конференции. - Барнаул, 2007. — Т. 2. - С. 128- 132.
13. Куркин В.А. Фармакогнозия. — 2-е изд., перераб. и доп. - Самара: ООО «Офорт», 2007. — 1239 с.
14. Medina A.S. Comparison of rosmarinic acid content in commercial tinctures produced from fresh and dried lemon balm (Melissa officinalis) / Medina A.S, Etheridge C.J., Hawkes G.E., Hylands P.J., Pendry B.A., Hughes M.J., Corcoran O. // J. Pharm. Pharmaceut. Sci. — 2007. - Vol. 10, № 4. - P. 455-463.
15. Dimitrova Z. Anti-herpes effect of Melissa officinalis L. extracts. / Dimitrova Z., Manolova N., Pancheva S., Ilieva D., Shishkov S. // Acta Microbiol Bulg. — 1993. - Vol. 29. - P. 65-72.
16. Geuenich S. Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density / Geuenich S., Goffinet C., Venzke S., Nolkemper S., Baumann I., Plinkert P., Reichling J., Keppler O.T // Retrovirology. — 2008. - № 5. - P. 27.
17. WHO monographs on selected medicinal plants. - Geneva, 2002. — Vol. 2. - 356 p.
18. Попова Н.В. Рослини родини ясноткові як джерела кавової та розмаринової кислот та їх похідних / Попова Н.В., Литвиненко В.І., Певнева О.І. // Фармацевтичний часопис. — 2008. - № 4. - С.19- 23
19. European Pharmacopoeia. - 6th ed.- Strasbourg: Council of Europe, 2007. - P.4668-4670.
20. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СРСР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина. 1987. - 336 с.

Таблица 5

**Некоторые показатели качества травы мелиссы лекарственной**

| Образец | Показатель | | |
|---|---|---|---|
| | общая зола, % | влажность, % | содержание стеблей в сырье, % |
| трава мелиссы, Крым ОСЛР | 8.91 | 4.36 | 39.24 |
| трава мелиссы, Джанкой | 8.30 | 5.09 | 33.70 |
| трава мелиссы, Дергачевский район | 8.41 | 6.80 | 37.40 |
| трава мелиссы, серия 51007 | 8.51 | 9.13 | 35.60 |
| трава мелиссы, серия 91008 | 7.54 | 7.09 | 33.40 |
| трава мелиссы, серия 10108 | 9.25 | 8.10 | 38.10 |

21. Лекарственные растения Государственной фармакопеи / Под ред. Самылиной И.А.. — М.: «АНМИ»,1999. - 496 с.
22. Куркин В.А. Химическое исследование травы Melissa officinalis / Куркин В.А., Куркина Т.В., Запесочная Г.Г. // Химия природных соединений .- 1995. - № 2.- С. 318—320.
23. Куркин В.А. Качественный и количественный анализ сырья и настойки мелиссы лекарственной (Melissa officinalis L.) / Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., Болтабекова З.В., Вандышев В.В. // Растительные ресурсы. — 1999. — Т. 35. - Вып. 3. - С.116—120.
24. Проблемы введения монографий на лекарственное растительное сырье в Государственную Фармакопею Украины / Гризодуб А.И., Георгиевский Г.В., Тихоненко Т.М. и др. // Фармаком. - 2004. - № 4. - С. 3-17.
25. Котов А.Г. Дослідження з розроботки та введення монографій на лікарську рослинну сировину до Державної Фармакопеї України / А.Г. Котов // Фармаком. - 2009. - № 1. - С. 5-19.
26. Попова Н.В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. — Харьков, 2008. - 510 с.
27. British Herbal Pharmacopoeia (BHP). - U.K.: British Herbal Medicine Association, 1996. - P. 29-30.
28. Попова Н.В. Вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья — мелиссы листьев / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко // Фармаком. — 2009. - № 2. — С. 45-50.

*Резюме*
Попова Н.В., Литвиненко В.І.

**Питання стандартизації трави меліси**

Проведено якісний і кількісний аналіз трави меліси лікарської. Вітчизняні зразки трави меліси відповідають за ТШХ-аналізом ефірної олії вимогам монографії Європейської Фармакопеї на листя меліси. Запропоновано стандартизувати траву меліси за вмістом розмаринової кислоти (не менше 0.5 %).

*Summary*
Popova N.V., Litvinenko V.I.

**Matters of the standartization of** lemon balm **(*Melissa officinalis L.*) herb**

Qualitative and quantitative analysis of lemon balm herb was conducted. Home samples of lemon balm herb according TLC-profile of essential oil confirmed requirements of EP monograph for lemon balm leaf. It was proposed to estimate the quality of lemon balm herb by the content of the rosmarinic acid (minimum 0.5 %).

***Попова Наталия Вячеславовна.*** Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). К.фарм.н. (1986). Доцент кафедры фармакогнозии Национального фармацевтического университета.

***Литвиненко Василий Иванович.*** Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик АИН Украины. Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦЛС.

УДК 582.579.2:547.56

Исаев Д.И., Каримов Ю.Б., Ковалев С.В., Затыльникова О.А.
Азербайджанский медицинский университет им. Н. Нариманова
Национальный фармацевтический университет

# Ксантоны корневищ *Iris imbricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L.

Приведены результаты идентификации двух ксантонов из *Iris ibricata* Lindl. и *Iris pseudacorus* L. На основании изучения их физико-химических свойств, продуктов химических превращений, УФ-, ИК-, ПМР-спектров они идентифицированы как мангиферин и изомангиферин.

Подземные органы разных видов ирисов (*Iris germanica* L., *Iris florentina* L., *Iris pallida* Lam.) широко применяются в народной медицине Европы [10]. В Украине в нетрадиционной медицине используют очищенные и резанные корневища ириса болотного (*Iris pseudacorus* L.). Корневища ирисов обладают рвотным, слабительным, мочегонным, стимулирующим, отхаркивающим и обволакивающим действием. Порошок из сухих корневищ ирисов применяют как ингредиент в зубных пастах, для снятия зубной боли у детей [9]. Из растений рода ирис выделялись флавоноиды, изофлавоноиды и их гликозиды, тритерпеноиды, бензохиноны и стильбеновые глюкозиды [9, 11-13].

*Iris pseudacorus* L. произрастает на заболоченных почвах, по берегам рек и озер в Харьковской, Полтавской, Днепропетровской, Житомирской и других областях Украины. Листья являются источником аскорбиновой кислоты, в корневищах содержится изофлавоноидный глюкозид — иридин, главный компонент эфирного масла - монотерпеновый кетон ирон [9, 8].

*Iris imbricata* Lindl. распространен по территории Азербайджана, встречается на Кавказе. Произрастает на влажных горных лугах, на увлажненных каменистых склонах. Листья содержат мангиферин, в подземных органах идентифицированы гидроксикоричные кислоты: синаповая, кумаровая, феруловая [8].

Ранее нами была изучена липофильная фракция из кореневищ ирисов, установлено наличие антимикробной активности относительно грамположительных микроогранизмов [4]. Исследован минеральный и аминокислотный состав корневищ ириса серо-желтого и ириса болотного [3, 5].

Целью данной работы является выделение и установление структуры биологически актив-