

А.В.ГУДЗЕНКО, канд. фармац. наук, Т.В.КОВАЛЬЧУК, канд. фармац. наук,  
О.О.ЦУРКАН, д-р фармац. наук, проф.

Державна лабораторія з контролю якості лікарських засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України»

## СТАНДАРТИЗАЦІЯ МЕЛІСИ ЛІКАРСЬКОЇ У БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ РОСЛИННИХ СУМІШАХ

**Ключові слова:** меліса лікарська, розмаринова кислота, багатокомпонентні рослинні суміші, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

Протягом останніх років у світовій фітотерапії спостерігається тенденція до більш поширеного використання багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження. Зокрема на фармацевтичному ринку України зареєстровано та успішно використовуються в медичній практиці більш ніж 200 багатокомпонентних засобів рослинного походження (БЗРП) [2, 3]. Одним з компонентів, що широко представлений у складі численних БЗРП, є багаторічна трав'яниста рослина родини губоцвітих – меліса лікарська (*Melissa officinalis L.*). Лікарські засоби, до складу яких входить рослина, мають виражену заспокійливу, спазмолітичну та вітрогінну дію. Встановлено, що меліса лікарська виявляє легку снодійну дію, седативна та спазмолітична дія притаманна навіть невеликим дозам рослини [1, 4, 6, 8].

Фармакологічна активність меліси лікарської зумовлена наявністю в її складі комплексу біологічно активних речовин, що мають різну хімічну природу й одними з яких є похідні гідроксикоричної кислоти [1, 4, 6]. Основним представником цього класу сполук у мелісі лікарській є розмаринова кислота, яка, за даними літератури, має широкий спектр біологічної дії, зокрема противірусну, антиоксидантну, протизапальну активність тощо [1, 7, 9–12].

Оскільки питання контролю якості складних багатокомпонентних рослинних сумішей залишається одним з найактуальніших у сучасній фармації, ми вирішили перевірити можливість використання розмаринової кислоти як маркера для ідентифікації та визначення вмісту меліси лікарської у рослинних сумішах.

Виходячи з цього, метою нашої роботи була розробка методик визначення розмаринової кислоти як маркера меліси лікарської у багатокомпонентних рослинних сумішах.

### Матеріали та методи дослідження

Досліджували сировину трави меліси лікарської, яку було заготовлено в липні 2008 р. у Київській та Одеській областях і в Автономній Республіці Крим під час цвітіння рослини.

Екстракцію фенілпропаноїдів, зокрема розмаринової кислоти в досліджуваній сировині, проводили таким чином: у конічну колбу місткістю 100 мл, обладнану зворотним холодильником, вміщували 1 г подрібненої сировини, додавали 30 мл 70 % етилового спирту і кип'ятили протягом 45 хв на водяному огрівнику. Після охолодження проби до кімнатної температури (20 °C) витяжку відфільтровували в мірну колбу місткістю 100 мл. Екстракцію проводили таким самим чином ще двічі, після чого об'єднану витяжку доводили 70 % етиловим спиртом до об'єму 100 мл.

Хроматографічне вивчення досліджуваних зразків проводили на хроматографі «Shimadzu ser. 20», обладнаному діодно-матричним детектором, за таких умов:

- колонка C18 X-Terra, розміром 150 мм x 4,6 мм, розмір частинок — 5 мкм;
- температура колонки — 35 °C;
- довжина хвилі детектування — 330 нм;
- швидкість потоку рухомої фази — 1 мл/хв;
- об'єм проби, що вводили, — 5 мкл;
- рухома фаза:

1—25 хв: ізократичне елюювання суміші ацетонітрил — вода — оцтова кислота (17 : 80 : 3) (об/об);

25—35 хв: градієнтне елюювання від 100 % до 20 % суміші ацетонітрил — вода — оцтова кислота (17 : 80 : 3) (об/об) та від 0 % до 80 % ацетонітрилу;

35 — 40 хв: ізократичне елюювання 20 % суміші ацетонітрил — вода — оцтова кислота (17 : 80 : 3) (об/об) та 80 % ацетонітрилу;

40—55 хв: ізократичне елюювання суміші ацетонітрил — вода — оцтова кислота (17 : 80 : 3) (об/об). За тих самих умов було проаналізовано краплі «Антифронт» виробництва «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.» (Угорщина) та модельну суміш, до складу якої входять компоненти «Антифронту» без додавання меліси лікарської, складну настойку «Седофлор» (АТ «Ефект», Харків) та складну настойку, до складу якої входять компоненти «Седофлору» без додавання меліси лікарської.

При виконанні роботи використовували реактиви: стандартний зразок розмаринової кислоти («FLUKA» (Німеччина), каталожний № 44699), ацетонітрил для градієнтного хроматографування «FLUKA» (Німеччина); спирт етиловий ректифікований фармакопейної якості; воду бідистильовану. Статистичну обробку отриманих даних проводили, використовуючи t-критерій Стьюдента [5].

## Результати дослідження та їх обговорення

Для можливості стандартизації меліси лікарської у багатокомпонентних рослинних сумішах за допомогою методу ВЕРХ було розроблено методику визначення розмаринової кислоти у сировині трави меліси лікарської. За даною методикою було визначено вміст розмаринової кислоти в досліджуваній сировині, зібраній у різних регіонах України, зокрема Київській, Одеській областях та в Автономній Республіці Крим.

Отже, в усій сировині трави меліси лікарської було ідентифіковано та кількісно визначено розмаринову кислоту. Її найбільший вміст виявлено у сировині, зібраній в Автономній Республіці Крим — 1,9313 %, менший — у сировині, зібраній в Київській області — 1,6480 %, найменший вміст розмаринової кислоти виявлено в сировині меліси, що була заготовлена в Одеській області — 1,4634 %. Як модель для визначення можливості стандартизації меліси лікарської у багатокомпонентних рослинних сумішах нами були використані такі рослинні багатокомпонентні засоби: краплі «Антифронт» виробництва «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.» (Угорщина) і складна настойка «Седофлор» виробництва АТ «Ефект» (Харків).

До складу крапель «Антифронт», крім листя меліси лікарської, входять корені імбиру, корені солодки, листя чаю зеленого та корені куркуми. Складна настойка «Седофлор», крім трави меліси лікарської, містить таку лікарську сировину: плоди глоду колючого, траву кропиви собачої, шишкі хмелю, зерна вівса посівного, плоди коріандру та траву буркуну лікарського.

У джералах доступної нам літератури дані про наявність розмаринової кислоти в іншій сировині досліджуваних лікарських засобів, крім меліси лікарської, відсутні.

Для перевірки можливості стандартизації меліси лікарської у досліджуваних лікарських засобах за наявністю та вмістом розмаринової кислоти було вивчено можливість стандартизації меліси лікарської за наявністю кожного з компонентів, які входять до складу цих препаратів.

Згідно з одержаними нами даними біологічно активні речовини жодного рослинного компонента досліджуваних препаратів не заважають ідентифікації та визначенню кількісного вмісту розмаринової кислоти за зазначеною хроматографічною методикою.

Для підтвердження валідності розробленої методики було виготовлено краплі, аналогічні за прописом краплям «Антифронт», але без додавання листя меліси лікарської. Зазначені вище краплі та краплі «Антифронт» були проаналізовані за наведеними раніше умовами. На рис. 1 представлена хроматограми екстракту меліси лікарської (А), крапель «Антифронт» (Б) та крапель, аналогічних за складом «Антифронту», але без додавання меліси лікарської (В). На хроматограмах А і Б наявний пік розмаринової кислоти, тоді як на хроматограмі В даний пік відсутній.

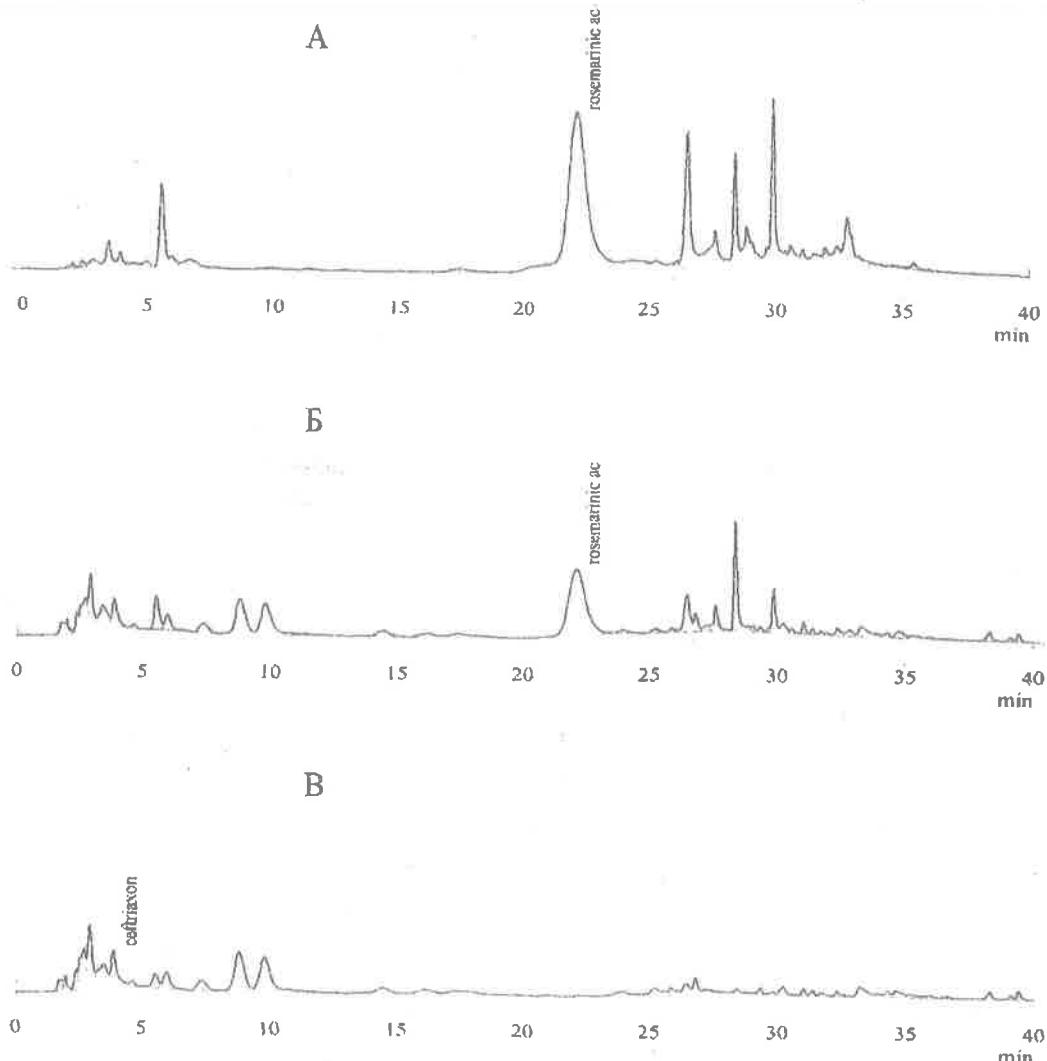


Рис. 1. Хроматограми досліджуваних розчинів:

А — екстракту меліси лікарської, Б — краплі «Антифронт», В — модельна суміш, до складу якої входять компоненти крапель «Антифронт» без додавання меліси лікарської

Таким чином, виходячи з отриманих даних, у краплях «Антифронт», до складу яких входять листя меліси лікарської, корені імбиру, корені солодки, листя чаю зеленого та корені куркуми, є можливість визначати наявність та вміст меліси лікарської за наявністю та кількісним вмістом розмаринової кислоти.

Також було виготовлено складну настойку, аналогічну за прописом складній настойці «Седофлор», але без додавання меліси лікарської. Вищезазначену складну настойку та настойку «Седофлор» було проаналізовано з використанням зазначененої раніше хроматографічної методики.

На рис. 2 представлена хроматограми екстракту меліси лікарської (А), складної настойки «Седофлор» (Б) та складної настоїки, до складу якої входять компоненти «Седофлору» без додавання меліси лікарської (В). На хроматограмах А і Б має місце пік розмаринової кислоти, на хроматограмі В — він відсутній.

На підставі отриманих даних нами зроблено висновок, що у складній настойці «Седофлор», до складу якої входять трава меліси лікарської, плоди глоду колючого, трава кропиви собачої, шишкі хмелю, зерна вівса посівного, плоди коріандру та трава буркуну лікарського, наявність та вміст меліси лікарської можна визначати за наявністю та кількісним вмістом цикорієвої кислоти.

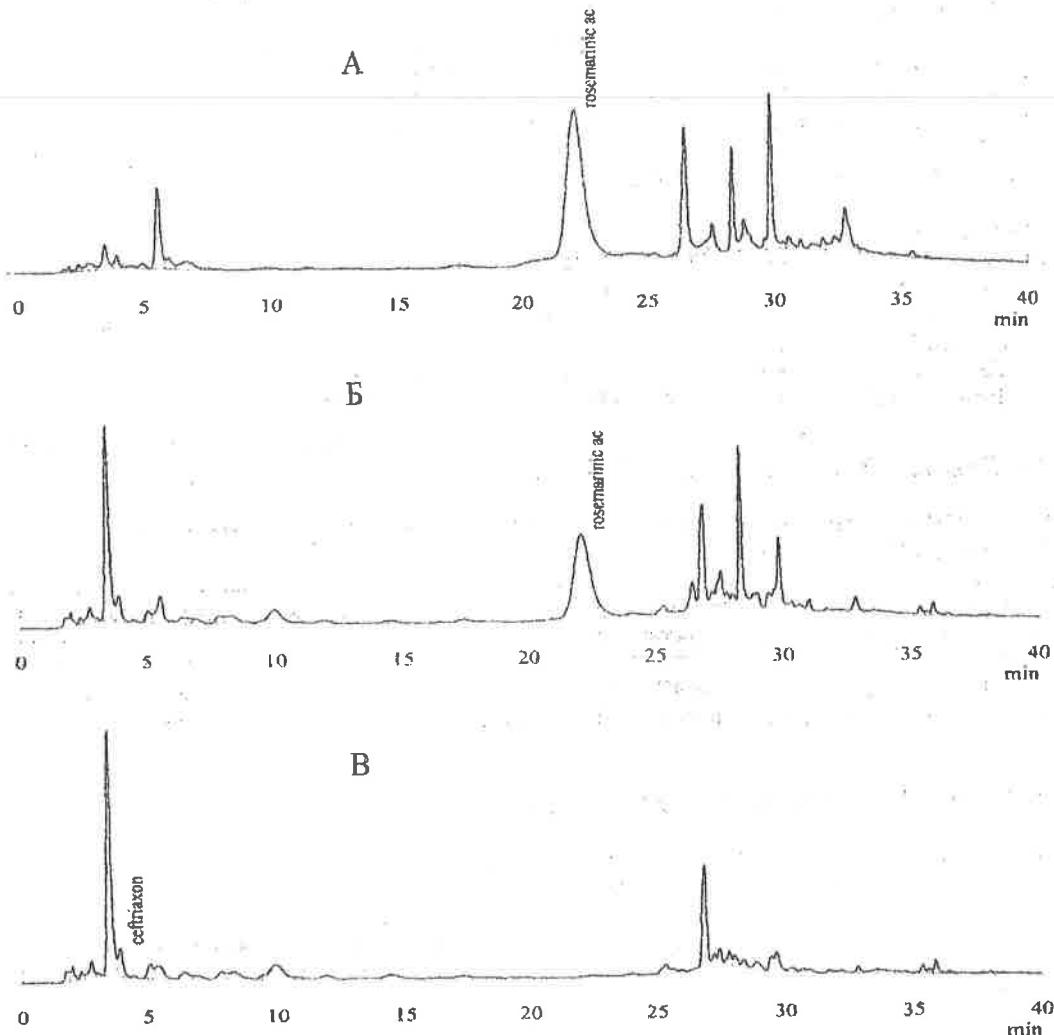


Рис. 2. Хроматограми досліджуваних розчинів:  
А – екстракт меліси лікарської, Б – складна настойка «Седофлор», В – складна настоїка, до складу якої входять компоненти «Седофлору» без додавання меліси лікарської

## Висновки

1. За допомогою методу ВЕРХ розроблено методики визначення розмаринової кислоти в сировині трави та листя меліси лікарської.
2. Проаналізовано сировину трави меліси лікарської, зібрану в різних регіонах України. В усіх пробах була ідентифікована та кількісно визначена розмаринова кислота, вміст якої лежав у межах від 1,4634 % до 1,9313 %, в перерахунку на висушену сировину.
3. За допомогою методу ВЕРХ розроблено методику визначення розмаринової кислоти як маркера меліси лікарської у багатокомпонентних рослинних сумішах. Встановлено, що за наявністю та вмістом розмаринової кислоти мелісу лікарську можна стандартизувати в сумішах з такою рослинною сировиною: плодами глоду колючого, травою кропиви собачої, шишками хмелю, зерном вівса посівного, плодами коріандру, травою буркуну лікарського, коренями імбиру, коренями солодки, листям чаю зеленого та коренями куркуми.

1. Зузук Б.М., Куцик Р.В // Провизор. — 2002. — № 1. — С. 36–39.
2. Компендиум. Лекарственные препараты 2007: т. 1. / Под ред. В.М.Коваленка, О.П.Вікторова. — К: Моріон, 2007. — 1128 с.
3. Компендиум. Лекарственные препараты 2007: т. 2. / Под ред. В.М.Коваленка, О.П.Вікторова. — К: Моріон, 2007. — 1126 с.
4. Кузнецова М.А. Лекарственное растительное сырье и препараты. — М.: Высшая школа, 1987. — 191 с.
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — Киев: «Морион», 2000. — 320 с.
6. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. Гродзінський А.М. — К.: Головна ред. УРЕ, 1989. — 544 с.
7. Ben Farhat M., Jordán M.J., Chaouech-Hamada R., Landoulsi A., Sotomayor J.A. // J. Agric. Food Chem. — 2009. — Vol. 57(21). — P. 10349–10356.
8. Chlabyzic J., Galasinski W. // J. Pharm. Pharmacol. — 1986. — Vol. 38, № 11. — P. 791–794.
9. Jaing R.W., Lau K.M., Hon P.M., Mak T. C., Woo K.S., Fung K.P. // Current medicinal chemistry. — 2005. — Vol. 12. — P. 237–246.
10. Mazumder A., Neamati N., Sunder S., Schulz J., Pertz H., Eich E., Pommier Y. // J. Med. Chem. — 1997. — Vol. 40, № 19. — P. 3057–3063.
11. Pérez-Fons L., Garzón MT., Micol V. // J. Agric. Food Chem. — 2010. — Vol. 58(1). — P. 161–171.
12. Petersen M., Simmonds M.S. // Phytochemistry. — 2003. — Vol. 62(2). — P. 121–125.

Надійшла до редакції 10.02.2010.

А.В.Гудзенко, Т.В.Ковалчук, А.А.Цуркан

## СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЕЛИССЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ В МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СМЕСЯХ

**Ключевые слова:** мелисса лекарственная, розмариновая кислота, многокомпонентные растительные смеси, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

С использованием метода ВЭЖХ разработана методика стандартизации мелиссы лекарственной в многокомпонентных растительных смесях по содержанию розмариновой кислоты.

A.V.Gudzenko, T.V.Kovalchuk, O.O.Tsurkan

## THE STANDARDIZATION OF MELISSA OFFICINALIS L. IN MULTICOMPONENT PLANT COMPOSITION

**Key words:** Melissa officinalis L., rosmarinic acid, multicomponent plant composition, HPLC

## SUMMARY

The procedure of the HPLC analysis of rosmarinic acid as component of *Melissa officinalis* L. in multicomponent plant compositions is offered.