

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувачвипускної кафедри

\_\_\_\_\_М.М. Барановський

«\_\_\_» \_\_\_\_\_2021р.

**ДИПЛОМНА РОБОТА**  
(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «БАКАЛАВР»  
СПЕЦІАЛЬНІСТЬ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»  
ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНА ПРОГРАМА «ФАРМАЦЕВТИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ»

**Тема: Особливості технології екстрагування біологічно активних речовин з  
Меліси лікарської (*Melissa officinalis*)**

Виконавець: студентки 4 курсу ФЕБІТ

Клименко Я.О.

Керівник: д.б.н., професор кафедри біотехнології

Гаркава К.Г.

Нормоконтролер:

Дражнікова А.В.

КИЇВ 2021

# НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ОПП «Фармацевтична біотехнологія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач випускної кафедри

\_\_\_\_\_ М.М.Барановський

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021р.

## ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

**Клименко Яни Олександрівни**

1. Темароботи: «Особливості технології екстрагування біологічно активних речовин з Меліси лікарської (*Melissa officinalis*)» затверджена «11» квітня 2021р. № 715/ст.
2. Термін виконання роботи: з «11» травня 2021р. по «15» червня 2021р.
3. Вихідні дані роботи: біологічно активні речовини, Меліса лікарська (*Melissa officinalis*).
4. Зміст пояснювальної записки: ВСТУП, РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД, РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РУЧОВИН МЕЛІСИ ЛІКАРСЬКОЇ *MELISSA OFFICINALIS*, РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ, ВИСНОВКИ, СПИСОК БІБЛОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ, ДОДАТКИ.

5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: 21рисунок, 4 таблиць, 1 додаток.

6. Календарний план–графік

№	Завдання	Термін виконання
1	Узгодження змісту дипломної роботи з керівником	01.04.21
2	Підбір літератури за темою «Характеристика меліси лікарської»	19.04 – 22.04.21
3	Підбір літератури за темою «Методи отримання екстрактів меліси лікарської»	23.04 – 24.04.21
4	Написання першого та другого розділів дипломної роботи	25.04 – 26.04.21
5	Підбір літератури за темою «Удосконалення технології отримання екстрактів меліси лікарської»	27.04 – 29.04.21
6	Систематизація отриманого матеріалу та написання третього розділу дипломної роботи	30.04 – 10.05.21
7	Оформлення результатів дослідження	10.05. – 13.05.21
8	Написання висновків	14.05.21
9	Оформлення дипломної роботи	15.05.21
10	Перевірка дипломної роботи керівником	16.05 – 19.05.21
11	Попередній захист дипломної роботи	01.05.2021
12	Захист дипломної роботи	15.06.2021

7. Дата видачі завдання “01” квітня 2021р.

Керівник дипломної роботи \_\_\_\_\_/Гаркава К.Г./  
(підпис керівника)

Завдання прийняв до виконання \_\_\_\_\_/Клименко Я.О./  
(підпис випускника)

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи "Особливості технології екстрагування біологічно активних речовин з Меліси лікарської (*Melissa officinalis*)": 51 сторінка, 21 рисунок, 4 таблиці, 47 літературних джерел, 1 додаток.

**Метароботи** – дослідження біологічно активних речовин меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

**Об'єкт досліджень** - процес дослідження біологічно активних речовин меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

**Предметом досліджень** – біологічно активні речовини меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

**Методи досліджень** – аналітичні, математичні.

Встановлено, що Мелісаликарська – традиційний фітотерапевтичний лікарський засіб, що і сьогодні не втратив своєї актуальності. Фітохімічний аналіз трави *Melissa officinalis* виявив велику кількість біологічно активних сполук, які діють синергічно, включаючи флавоноїди (кверцетин, рутин), розмаринову, галову кислоту та ін., які мають потужні антиоксидантні властивості. Показано, що в екстракті *Melissa officinalis* містяться активні речовини різних груп: флавоноїди (кверцитрин, рамноцитрин, лютеолін), поліфенольні сполуки (розмаринову, кавову та протокатехуїнову кислоти), монотерпеноїдний альдегід, монотерпенові глікозиди, тритерпени (урсолова кислота, ефірні та олеанолові кислоти). На основі проведених досліджень визначено оптимальні параметри процесу екстракції БАР з меліси лікарської *Melissa officinalis*, які становлять: подрібнення сирбини 0,5 мм, співвідношення сировина:екстрагент 1:50, тривалість екстрагування – 20 хв. Також показано, що екстракти містять важливі мікроелементи, а саме кальцій, магній та калій, натрій.

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ, МЕЛІСА ЛІКАРСЬКА (*MELISSA OFFICINALIS*), ФЛАВОНОЇДИ, ЕКСТРАКЦІЯ.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	9
1.1. Загальна характеристика Меліси лікарської ( <i>Melissa officinalis</i> ) .....	9
1.2. Заготівля лікувальної сировини.....	12
1.3. Хімічний склад меліси лікарської <i>Melissa officinalis</i> .....	12
1.4. Фармакологічна дія меліси лікарської <i>Melissa officinalis</i> .....	13
1.5. Препарати на основі меліси лікарської <i>Melissa officinalis</i> .....	14
1.6. Висновки дорозділу .....	19
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РУЧОВИН МЕЛІСИ ЛІКАРСЬКОЇ <i>MELISSA OFFICINALIS</i> .....	21
2.1. Способи екстрагування біологічно активних речовин меліси лікарської <i>Melissa officinalis</i> .....	21
2.2. Загальна характеристика флавоноїдів.....	22
2.3. Якісні реакції на виявлення флавоноїдів.....	31
2.4. Спектрофотометричний метод визначення фенольних сполук .....	34
2.5. Висновки до розділу .....	35
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ .....	37
3.1. Визначення оптимальних параметрів екстракції фенольних сполук з меліси лікарської <i>Melissa officinalis</i> .....	37
3.2. Визначення протимікробної активності екстрактів меліси лікарської <i>Melissa officinalis</i> .....	43
3.3. Висновки дорозділу .....	45
ВИСНОВКИ.....	45
СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	46
Додаток .....	51

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Лікарські трави протягом багатьох століть застосовувалися в народній медицині. Але навіть сьогодні, незважаючи на розвиток фармацевтичного виробництва, їх застосовують, як і раніше. Останніми роками проводяться масштабні дослідження лікарських засобів рослинного походження з метою уточнення та розширення показань до їх застосування, оптимізації дозування та режиму прийому, а також виділення біологічно активних речовин, що виявляють певні терапевтичні ефекти для їх подальшого застосування в клінічній медицині.

Цікаво, що, наприклад, у Китаї лікарська рослинна сировина становить 30–50% усіх препаратів. За оцінками ВООЗ, більше 80% людей у країнах, що розвиваються, застосовують лікарську рослинну сировину .

Уже декілька століть відомі терапевтичні властивості меліси лікарської (лат. *Melissa officinalis*). Це багаторічна трав'яниста рослина. Також зустрічаються такі назви даної рослини, як меліса лимонна, лимонна м'ята. Рослина належить до родини губоцвітні (лат. Labiatae). Меліса широко розповсюджена у країнах із теплим кліматом, росте вона і в Україні. Ця рослина ще багато століть тому культивувалася в якості лікарської рослинної сировини греками, римлянами та арабами. Стебло даної рослини досягає у висоту 40–80 см, листя світло-зеленого кольору, овальне, супротивне, знизу вкрите короткими волосками. Квітки меліси невеличкі білі, жовтуваті або з рожевим відтінком, двостатеві. Вони розташовані в пазухах верхнього листя. Цвіте меліса у липні–серпні .

Лікарською сировиною є надземні частини рослини — стебла, листя та квітки. Збір лікарської сировини проводиться в період цвітіння. Меліса має приємний виражений лимонний аромат та злегка в'яжучий гіркувато-пряний смак .

Епідеміологічні дослідження фактичного стану харчування населення України, як і інших країнах світу, показали неадекватність забезпечення раціонів мікронутрієнтами й обґрунтували необхідність значного розширення списку есенціальних факторів за рахунок нехарчових міnorних біологічно активних

компонентів їжі, зокрема біофлавоноїдів, індолів, ізотіоціанатів, глікозидів, терпеноїдів, алкалоїдів та ін.

У цьому зв'язку все ширшого поширення і практичного застосування набувають природні біологічно активні речовини (БАР), спостерігається динамічний розвиток виробництва і зростання споживання функціональних продуктів з їх включенням. За кордоном функціональні продукти користуються більшим попитом, ніж біологічно активні добавки.

Одним із видів великої родини функціональних продуктів є ароматизовані напої, до складу яких входять водно-спиртові настої пряно-ароматичної рослинної сировини (ПАРС), яка містить функціональні інгредієнти біогенної природи, оптимально збалансовані за складом, нетоксичні, фізіологічно близькі організмові людини. ПАРС є унікальним концентратом мінеральних речовин, фенольних сполук, антиоксидантні властивості яких перевершують антиоксидантні властивості вітамінів А, С і Е.

Вважається, що людина адаптована до споживання великої кількості БАР, джерелами яких є представники більше 300 рослин. Як підтверджують численні літературні дані, наявність у рослинах комплексу БАР у їх природному співвідношенні сприяє нормалізації обміну речовин, підсилює виведення з організму токсичних метаболітів, що уповільнює розвиток атеросклерозу і пов'язаних з ним ускладнень, обумовлює антиоксидантну, антитоксичну, бактерицидну дію. Вміст у рослинах споріднених людському організму сполук не викликає алергічних реакцій та інших побічних явищ.

В зв'язку з цим, актуальним є дослідити детальніше біологічно активні речовини меліси лікарської та підібрати ефективні методи екстракції БАР.

**Метароботи** – дослідження біологічно активних речовин меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

**Завдання роботи** полягало у вирішенні таких задач:

1. Охарактеризувати біологічно активні речовини меліси лікарської (*Melissa officinalis*), їх лікарські властивості та використання в медицині.

2. Дослідити методи екстракції біологічно активних речовин з трави меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

3. Удосконалити методи отримання екстрактів з трави меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

**Об'єкт досліджень** – процес дослідження біологічно активних речовин меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

**Предметом досліджень** – біологічно активні речовини меліси лікарської (*Melissa officinalis*).

**Методи досліджень** – аналітичні, математичні.



## РОЗДІЛ ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1. Загальна характеристика Меліси лікарської (*Melissa officinalis*)

Меліса лікарська (*Melissa officinalis*, медова трава, лимонна трава, маточник, рої вник) – це багаторічна трав'яниста лікарська рослина, що належить до родини губоцвітих. У меліси сильно розгалужені, чотиригранні стебла довжиною 40-80 см.

Меліса лікарська - широко відома ефірно-олійна і пряна рослина - широко застосовується в традиційній медицині. Настої з трави успішно використовуються при лікуванні серцево-судинних захворювань, гіпертонічної хвороби, нападах тахікардії, астми, задишки, невралгії, безсонні, неокрів'ї і подагрі.

Вона також використовуються в якості діуретичних, проносних, потогінних і стимулюючих травлення засобів. Крім того, меліса сприятливо впливає на шлунок і головний мозок. У «Каноні лікарської науки» майже 1000 років тому Авіценна вказував на лікарські властивості цієї рослини, його здатність «батьорить і зміцнювати серце, припиняти перебої» а також «допомагає при закупорках мозку і усуває поганий запах з рота». Ця рослина є основою для чаю.



Рис. 1.1. Меліси лікарської (*Melissa officinalis*)

Лікарська меліса - представник сімейства ясноткові. Лимонна меліса є найближчою родичкою м'яти. Трава є сильно розгалужений стебло з округлими яскраво-зеленим листям.

Батьківщиною лимонної меліси вважається Південна Європа. Назва рослини має грецьке походження і означає «бджола». Згідно з легендою, рослина було названо на честь давньогрецької німфи Мелісси, яка вважається родоначальницею бджільництва. У народі трава досі відома під назвою «бджолина м'ята». Справа в тому, що меліса своїм запахом привертає бджіл. Вважається, що якщо розтерти в руках лимонну мелісу, то жодна бджола не вжалить бджоляра під час роботи з вуликами.

Збирають лікарську рослину в чистій місцевості до того, як воно почне цвісти. Зібрана у дороги трава не принесе ніякої користі. У період цвітіння меліса змінює свій запах (замість приємного лимонно-м'ятного аромату вона пахне клопами) і втрачає свої корисні властивості. Коріння меліси не представляють ніякої цінності, заготовляють тільки наземну частину рослини. Сушити мелісу необхідно в добре провітрюваних, затемнених приміщеннях [1].

Синоніми: Меліса, Мелісса золотиста, Меліса пістряволиста, лимонна м'ята, лимонна трава, медовка, пасіка, роєвик, мяточнік.

Походження / історія: латинський епітет *officinalis* (лікарський) вказує на лікувальні властивості цієї рослини.

Опис сорту: Меліса *Aurea* це трав'яниста, багаторічна рослина з ароматною зеленню, висотою до 40 см. На м'яко опушених стеблах розташовуються жовто-зелені, пилчасті по краю з приємним лимонним ароматом листочки, які є головною цінністю цієї рослини.

Форма: Багаторічна, трав'яниста рослина (див. фото).

Розмір: Меліса *Aurea* досягає висоти 40 см.

Швидкість зростання / сила росту: Швидкоросла рослина.

Пагони: Численні, прямі, зеленого кольору стебла, м'яко опушені, ароматні.

Листя: Жовто-зелене листя яйцевидної форми, пилчасте по краю і з загостреним кінчиком має приємний лимонний аромат.

Квітки меліси: біло-рожевого кольору, дрібні, зібрані по 3-4шт. в пазухах листків.

Час цвітіння меліси: квітне з початку липня по серпень.

Світло: меліса краще зростає в місцях, де розсіяна тінь, бо прямі сонячні промені негативно впливають на листочки.

Волога: меліси потребує регулярного поливу, але помірною.

Меліса лікарська (*Melissa officinalis*) зростає у центральних європейських і середземноморських регіонах світу. В Україні вона також вирощується, але як штучна культура і рідко її можна побачити в диких місцях, іноді на берегах водойм, біля доріг, стежок і на лісових галявинах [2-4].

Меліса лікарська (*Melissa officinalis*) невибаглива до її умов вирощування, проте перевагу надає жирним ґрунтам, які рясно удобрені органікою.

Зараз в Україні меліса лікарська (*Melissa officinalis*) внесена до реєстру лікарської сировини [5-8].

Меліса лікарська (*Melissa officinalis*) володію цілющими лікарськими властивостями:

- знижує тиск, уповільнює дихання і серцевий ритм,
- володіє потогінними, заспокійливими, антигрибковими і бактерицидними властивостями,
- вона має спазмолітичну, гіпоглікемічну, сечогінну, жовчогінну, протизапальну, болезаспокійливу і легку снодійну дію,
- мелісса зміцнює нервову систему,
- збільшує слиновиділення, покращує обмін речовин, апетит, діяльність травної системи,
- сприяє оновленню лімфи і крові, допомагає при головних болях,
- допомагає при подагрі, недокрів'ї, хворобах ясен, запамороченнях, шумі у вухах і загальної слабкості.
- корисні властивості меліси зробили її засобом для схуднення. Чай рослини допоможе поліпшити метаболізм, виведе зайву рідину і послужить легким проносним.

## 1.2. Заготівля лікувальної сировини

Найбільша концентрація біологічно активних речовин, що накопичуються в траві меліси лікарської, можемо спостерігати в фазі її цвітіння – в цей період проводять заготівлю цієї сировини, зрізують стебла на деякому рівні від поверхні ґрунту. Меліса здатна швидко відростати, тому за сезон можна отримати два або три зрізи [9-10].

Сушити траву рекомендується в природних умовах (на горищах, під навісами), але також допускається і штучне сушіння, при цьому температура не повинна перевищувати 40 °С, — щоб уникнути втрату цінного ефірного масла.

Зберігають траву меліси в герметично закритій тарі або багатошарових паперових мішках, картонних коробках [11].

## 1.3. Хімічний склад меліси лікарської *Melissa officinalis*

*Melissa officinalis* містить флавоноїди (кверцитрин, рамноцитрин, лютеолін), поліфенольні сполуки (розмаринову, кавову та протокатехуїнову кислоти), монотерпеноїдний альдегід, монотерпенові глікозиди, тритерпени (урсолова кислота, ефірні та олеанолові кислоти) [12].

Лікарські властивості меліси обумовлені наявністю в ній ефірної олії. В ароматерапії запах меліси вважається природним антидепресантом. Аромат лимонної меліси заспокоює нервову систему, розслаблює. Специфічний запах ефірної олії сподобається не всім, якщо аромат меліси вам здається занадто яскравим, використовуйте суміші, в яких запах виражений не так сильно. Комплементарними ароматами меліси є базилік, розмарин, майоран, ялівець, ладан, імбир. Не слід застосовувати масло, якщо його запах викликає стійкі неприємні відчуття, головні болі і т.д.

У листі меліси міститься ефірне масло (до 0,33%), що складається з цитраля, цитронелаль, гераниола, мірцеїна і менальола. З армакологічних властивостей найбільш характерно для ефірних масел наявність протизапальної, антимікробної,

протівірусної активності. Ці ефірні масла роблять виражений вплив на діяльність серцево-судинної системи та центральної нервової системи; мають стимулюючими властивостями.

У траві меліси лікарської *Melissa officinalis* також знайдені аскорбінова кислота (до 150 мг%), каротин (до 7 мг%), дубильні речовини (до 5%), органічні кислоти (кавова, олеанова, урсолова) смола, гіркоту, трохи слизу. Таким чином, в меліси лікарській *Melissa officinalis* містяться біологічно активні речовини, які можна використовувати для збагачення харчових продуктів.

Основними компонентами меліси лікарської *Melissa officinalis*, а особливо ефірної олії, є цитронелаль (14,40%), ізогераніол (6,40%), гераніолу ацетат (10,20%), неролу ацетат (5,10%), каріофілен (8,10%) и оксид каріофілену (11,00%) [12]. Слід зазначити, що в ефірній олії меліси лікарської *Melissa officinalis* містяться цитраль, ліналоол, гераніол. Ефірної олії в траві меліси міститься менше ніж 1%, при цьому максимальна його концентрація у рослині визначається на початку періоду цвітіння. Важливо, що у траві меліси лікарської містяться вітамін С, дубильні речовини, таніни, олеанолова, янтарна кислоти [13].

Ефірне масло меліси лікарської *Melissa officinalis* має насичений лимонний запах, що обумовлений наявністю цитронеллалю і цитралю. Крім цього до складу ефірної олії входить гераніол. Концентрація ефірної олії в квітучій траві меліси лікарської *Melissa officinalis* доходить до 0,4%. В траві меліси лікарської *Melissa officinalis* виявлено дубильні речовини (близько 5%), аскорбінова (вітамін С), урсолова, кавова і олеанолова кислоти, втім, лікувальні властивості обумовлені саме наявністю ефірної олії [14].

#### **1.4. Фармакологічна дія меліси лікарської *Melissa officinalis***

Седативний засіб, що володіє антидепресивними, спазмолітичними, імуномодулюючими, протівірусними, антиалергічними і антимікробними властивостями.

Широкий спектр терапевтичної дії препаратів меліси лікарської обумовлений вмістом різних біологічно активних речовин: виражений седативний ефект описаний для цитронелаль, а спазмолитические властивості - для гераниола і цитронелол. Фенілпропаноїди (розмаринова, кавова, хлорогенова і інші гідроксикоричні кислоти) слід розглядати як БАР, відповідальні за протівірусні, імуномодулюючі, антигістамінні, антиоксидантні і антимікробні властивості субстанцій даної рослини.

Рослина рекомендують як протиблювотний для вагітних, сечогінний і засіб, що підвищує апетит [14].

Мелісу можна використовувати при складанні рецептур багатокomпонентних трав'яних зборів. Наприклад, при лікуванні захворювань нервової системи, меліса чудово поєднується з пустирником, валеріаною, м'ятою перцевою. Для лікування захворювань серцево-судинної системи незайвим буде до меліси додати глід і пустирник. Дезінфікувальні та антипаразитарні властивості посилюються введенням листя евкаліпта. Травматичні ушкодження шкіри рекомендується лікувати з додаванням деревію, календули [15].

В середні віки мелісою лікували людей після укусів скажених собак, знімали зубний біль, висипання на шкірі. Завдяки лікувальним властивостям мелісу використовували для перев'язки ран і для профілактики ускладнень при вагітності.

У медицині цю траву застосовують при хворобах бронхів, в тому числі і астми, лихоманки і простудних захворюваннях, метеоризмі, запорах, нудоті (зокрема, токсикозах під час вагітності), паротиті. Її використовують при тахікардії, підвищеному тиску, головних і серцевих болях. Вона корисна при жіночих хворобах, зокрема, чаєм з меліси полегшують симптоми ПМС.

Але найбільш затребувана меліса в лікуванні нервової системи. Її п'ють для підвищення настрою, поліпшення концентрації і розумової діяльності, депресіях і неврозах. Мелісса корисна при лікуванні безсоння, хвороби Альцгеймера і недоумство.

Зовнішньо мелісу використовують для боротьби з герпесом, оперізувальний лишай, загоєння ран і лікування укусів комах.

## 1.5. Препарати на основі меліси лікарської *Melissa officinalis*

Хімічний склад меліси включає багато біологічно активні компоненти. Листя трави містять дубильні речовини, флавоноїди, гіркоти, сапоніни, органічні кислоти. У листі також містяться каротин і вітамін С.

Ефірна олія меліси. Препарат промислового виготовлення можна придбати в аптечній мережі, а при бажанні – приготувати в домашніх умовах. Зрозуміло, процес отримання ефірної олії в промисловості вимагає використання спеціальної апаратури, але і в квартирі легко знайти альтернативу. За великим рахунком, для виділення ефірного масла необхідно отримати перегрітий водяний пар, який проходить через ємність з сировиною, а далі згущується в холодильнику. Для відокремлення олії можна використовувати звичайний самогонний апарат — перегінний куб, в якому над рівнем киплячої води розташовується сито (друшляк) з травою меліси. Разом з пором захоплюються частки ефірного масла, яке збирається в приймачі над водою (через більш низьку щільність). До речі, при використанні висушеної трави, вихід ефірної олії збільшується. Мелісова олія використовується для приготування різних препаратів (рис. 1.2) [16].



Рис. 1.2. Ефірна олія меліси

Трава меліси збуджує апетит, нормалізує роботу шлунково-кишкового тракту. Рослина усуває метеоризм і знімає напади нудоти.

Авіценна у своїх працях описував траву як бадьорить організм рослина, яке допомагає усунути неприємний запах. Трава ефективна при вегето-судинній дистонії, захворюваннях нервової системи.

Настої з лікарської меліси допомагають при анемії, меланхолії, серцевих болях. Для внутрішнього прийому готують відвар: 2 ст. ложки сушеної меліси заливають 0,5 л окропу. Суміш потрібно залишити настоюватися приблизно на 30 хвилин. Отриманий настій слід випити протягом доби, пити невеликими порціями.

Мелісовий чай допоможе організму боротися з сезонними захворюваннями. Також він допомагає нормалізувати підвищений тиск, полегшити стан хворого при астмі і мігрені.

У косметології часто використовують екстракти лимонної меліси для виготовлення засобів, які призначені для догляду за жирною шкірою обличчя та голови. Мелісса регулює виділення шкірного жиру. Для косметичних процедур кілька крапель ефірного масла додають в базове масло і наносять на шкіру на 10-15 хвилин. Для догляду за шкірою тіла можна прийняти ванну з мелісового маслом. Кілька крапель меліси лимонної, каяпута і лимона, а також 4 краплі бергамоту розводять в емульгаторі і додають в наповнену теплою водою ванну.

Користь лимонної меліси відома народній медицині. Зовнішньо траву застосовують як компресів при чирьях. Відваром меліси рекомендується полоскати ротову порожнину при хворобах ясен, для ослаблення зубного болю.

Мелісовий чай. Чай з лимонної меліси застосовують як легке снодійне і заспокійливий засіб, він допомагає заспокоїтися і подолати безсоння. Пити чай найкраще ввечері відразу після приготування, поки він ще теплий. Для зняття шлункових болів мелісу рекомендується заварювати навпіл з м'ятою перцевої. Такий настій зніме спазми, усуне зайве газоутворення в кишечнику. Після прийому мелісового напою поліпшується виділення шлункового соку. Напій буде ефективний при кольках, здутті кишечника.



Настій. Для приготування настою потрібно вода, підігріта до 60 °С; на півлітра рідини – 8 чайних ложечок подрібненого сировини. Настоювання проводять в термосі, по часу приблизно 4 – 6 годин. Приймають по 100 мл кілька разів на день. Настій меліси рекомендується використовувати при лікуванні широкого спектру захворювань: порушення в роботі шлунково-кишкового тракту, при проблемах з нервовою системою (мігрені, безсонні, перевтомі, надмірній дратівливості і перезбудженні тощо). Зовнішньо настій меліси показаний для приборкання зубного болю (полоскання) та лікування захворювань ясен. Сировину, що залишилася після приготування лікувального настою, можна використовувати у вигляді припарок – компресів на область ударів, при радикуліті і м'язових болях [18-19].

Настій з меліси лікарської *Melissa officinalis* допомагає зміцнити пам'ять. Крім настою, широко використовують свіжу кашку з молодого листа меліси. Кашку застосовують зовнішньо при виразках, паралічі, ударах.

Мелісса лікарської *Melissa officinalis* широко використовується в гінекології.

Настій з меліси лікарської *Melissa officinalis* застосовується при шлункових захворюваннях [17].

Показаннями до застосування препаратів трави меліси лікарської є: неврози, м'яка форма артеріальної гіпертензії, легкі форми ішемічної хвороби серця, тахікардії, гострі і хронічні шлунково-кишкові захворювання, дискінезії, дисбактеріоз, ферментопатії, метеоризм; гострі і хронічні запальні захворювання органів дихання (бактеріального та вірусного генезу); екзема, дерматити, що супроводжуються свербіж трофічні виразки, порушення менструального циклу, клімактеричні розлади, токсикози вагітності; імунодефіцитні стани.

У народній медицині листя і верхівки пагонів з квітками вживали всередину при тахікардії, гіпертонічної хвороби, бронхіальній астмі, невралгіях, мігрені, безсонні, анемії, меланхолії, при збудження статевої функції, альгоменореє і болісних менструаціях, як проносне і потогінний, при холециститі, атеросклерозі, жовчнокам'яної хвороби, для посилення лактації. За старих часів в литовських селах настій меліси з майораном застосовували для поліпшення пам'яті. Листя і верхівки пагонів застосовували зовнішньо при зубному болю, ревматизмі, ударах і виразках.



Рис. 1.3. Настій з меліси

#### Лікувальні збори з мелісою

Збір №1. Рекомендується для підняття імунітету, а також при лікуванні захворювань, пов'язаних з перенапруженням нервової системи [20].

Збір №2. Використовується при появі герпетичних висипань. До складу збору входить трава меліси і листя черемхи — по три частини, а також по одній частині ялівцевих ягід і плодів горобини [21].

Збір №3. Засіб використовується для полегшення відходження мокротиння і купірування нападів кашлю. Збір складається з рівних кількостей м'яти, меліси, лісової суниці і шавлії — використовуються листя зазначених рослин [22].

Збір №4. Склад підібраний з метою зниження артеріального тиску [23].

Збір №5. Використовується на ранніх стадіях гіпертонії [24].

Меліса збуджує апетит, посилює діяльність шлунково-кишкового тракту, має легку протизапальну, спазмолітичну, проносну і потогінну властивості, звільняє шлунок і кишечник від газів, припиняє судоми і болі, нудоту і блювоту, сприятливо впливає на діяльність серця, заспокійливо діє на нервову діяльність серця і на нервову систему.

У народній медицині меліса здавна і широко застосовується при лікуванні багатьох хвороб.



Рис. 1.4. Лікувальні збори з мелісою

Настій листя і верхівок стебел з квітками меліси лікарської приймають при серцевих захворюваннях, після чого зникають болі в області серця, задишка, припиняються напади тахікардії, нормалізується ритм серцевих скорочень, знижується кров'яний тиск.

Настій меліси лікарської вживають також при астмі, задишці, різних невралгіях, мігрені, безсонні, зубному болю, недокрив'ї, при порушенні функції статевих органів, шлунково-кишкового тракту.

Зовнішньо настій меліси лікарської використовують для полоскань при захворюваннях ясен, зубного болю і у вигляді компресів з трави при виразках, ударах, ревматизмі, подагрі.

Відвар меліси вживають всередину і зовнішньо при запамороченні, непритомності, істеричних випадках, при сильних болях в шлунково-кишковому тракті, як заспокійливий засіб.

Олію меліси застосовують при болях в області серця, серцебитті, ревматичних болях, а також для регуляції менструацій і поліпшення обміну речовин в організмі.

З меліси готують галенові препарати у вигляді лікарських чаїв, ароматичних вод, відварів і отримують ефірну олію, яка високо цінується в хіміко-фармацевтичній і харчовій промисловості. Ефірна олія з листя меліси лікарської входить до складу заспокійливого бальзаму і лініменту «Санітас».

Способи застосування меліси лікарської:

– Настій: 2 столові ложки подрібненого листя або верхівок пагонів з квітками меліси лікарської залити 2 склянками гарячої кип'яченої води і настоювати протягом 4 годин в закритому посуді, процідити. Приймати по 1 / 2 склянки 4 рази на день до вживання їжі при серцевих захворюваннях (тахікардія, болі в серці);

– Відвар: 10-15 г подрібненого листя або пагонів з квітками меліси залити 1 склянкою окропу, варити 5-10 хвилин, процідити. Приймати по 1 столовій ложці 3 рази на день до їди при болях у шлунку, кишечнику і як заспокійливий засіб;

– Припарки: 3-4 столові ложки листя або верхівок пагонів з квітками меліси лікарської ошпарити окропом, загорнути в марлю. Прикладати до запалених і хворих місць [25-28].

## 1.6. Висновки до розділу

Меліси лікарська (*Melissa officinalis*) – лікарський засіб, який володіє цілющими властивостями. Відомо, що меліса лікарська *Melissa officinalis* володіє великою кількістю біологічно активних речовин, включаючи флавоноїди (кверцетин, рутин), розмаринову, галову кислоту та ін., які мають потужні антиоксидантні властивості.

В роботі показано, що меліса лікарська *Melissa officinalis* чудово входить в терапію різних неврологічних захворювань, які зумовлені стресом.

Меліса лікарська *Melissa officinalis* також має седативний, транквілізуючий, спазмолітичний едії. Також відомо, що меліса лікарська *Melissa officinalis* дуже ефективна в при безсонні, головному болі, неврологічних розладах. У народній медицині меліса лікарська *Melissa officinalis* використовується в лікуванні

захворювань травної системи, серцевої недостатності, аритмій, анемії, запаморочення, депресії, епілепсії та інших захворювань .

## РОЗДІЛ 2

### МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РУЧОВИНМЕЛІСИ ЛІКАРСЬКОЇ *MELISSA OFFICINALIS*

#### 2.1. Способи екстрагування біологічно активних речовин меліси лікарської *Melissa officinalis*

Відомо кілька традиційних способів вилучення екстрактивних речовин з сухого рослинного сировини: водне або неводне екстрагування, статичне або динамічне. В якості самостійного виду екстрагування виділяють технологію екстрагування за допомогою зріджених газів.

Статичне спиртове екстрагування проводять наступним чином. Сировину (надземна частина меліси лікарської *Melissa officinalis*), подрібнену до розміру часток 0,5-3 мм, трикратно обробляють 70% водним етанолом в співвідношенні сировина: екстрагент 1: (68-72) протягом 30 хв при 80-82 °С, з подальшим об'єднанням екстрактів, відгонкою етанолу, упарюванням і сушінням в вакуум-сушильному апараті. Вихід готового продукту становить 38-40% від маси повітряно-сухої сировини.

Сухий екстракт меліси лікарської *Melissa officinalis*- це аморфний порошок від жовто-коричневого до світло-коричневого кольору зі специфічним запахом і терпким гіркуватим смаком, добре розчинний в 50-70% водному етанолі, не гігроскопічний, що не коксується [29].

Вихід екстрактивних речовин, екстрагованих при екстракції диетиловим ефіром, етилацетатом, ізопропіловим спиртом і водою, склав відповідно: 4,10, 10,06, 22,84, 46,07% [30].

При екстрагуванні суцвіть меліси лікарської *Melissa officinalis* диметилформамидом з подальшим осадженням ацетатом свинцю і обробкою сірководнем, діалізом в присутності  $\alpha$ -токоферолу та трилону Ботримують фітогемаглютинін, що володіє протипухлинною активністю [31].

Як видно з представлених даних, в різний час здійснювалися спроби отримання екстракту меліси лікарської *Melissa officinalis* за допомогою різних екстрагентів, найбільш поширеним з них єводно-спиртова суміш, але при її використанні втрачається велика частина БАР (білкової природи) за рахунок їх випадання в осад і денатурації.

Екстрактивні речовини, витягнуті гексаном, можуть виявляти більш низький ефект як онкопротектор [32].

Найбільш повне вилучення екстрактивних речовин забезпечується при застосуванні води в якості екстрагента. Але для збільшення глибини екстракції, скорочення тривалості екстрагування, збереження БАР в екстракті слід застосовувати сучасні динамічні методи водного екстрагування, використання співрозчинники (таких як етанол та ін.).

Застосування в якості співрозчинника етанолу і монопропіленгліколю в методах водного екстрагування (як статичного, так і динамічного) підвищить глибину екстракції, що не привносить при цьому канцерогенних речовин в готовий екстракт.

## **2.2. Загальна характеристика флавоноїдів**

Флавоноїди - це рослинні пігменти, і їх найпомітніша роль - розфарбовувати в яскраві кольори наш урожай. Але якщо б їх дію цим обмежувалося! За своєю структурою і хімічним складом ці речовини близькі до гормонів, і як і гормони, беруть участь майже у всіх процесах, що протікають в нашому організмі. Ну, наприклад - вони регулюють дію різних ферментів, в тому числі і травних. Один з ферментів - киназу, яка відповідає за розмноження клітин - вони пригнічують. І це дуже добре: саме це робить їх прекрасним протипухлинним средством. А як антиоксиданти вони в 50-100 разів ефективніше вітамінів С і Е, надійно захищають нас і від хвороб, і від старіння.

Вченим відомо понад 6500 різновидів біофлавоноїдів. Але найважливіші і корисні знайти дуже легко.

Антоціан. Його основне завдання - зміцнення стінок кровоносних судин. А основна ознака нестачі: синці, які з'являються на шкірі навіть від незначного впливу. Судини головного мозку і очей - теж в його веденні. Регулярне надходження антоціана покращує зір і підвищує працездатність мозку, перешкоджає розвитку інсульту.

Найбільш багатий і доступне джерело антіціана - чорниця. Лікарі радять з'їдати цієї ягоди хоча б півсклянки на день. А взимку можна їсти заморожену.

Поліфенол. Найбагатший джерело - зелений чай. Поліфенол також зміцнює серце і судини. Підраховано, що люди, які випивають 4 і більше чашок зеленого чаю в день, знижують ризик інсульту на 75% і наполовину зменшують ризик серцевого нападу.

Поліфенол використовується для лікування артриту та інших "-ітов" - запальних захворювань. Того ж стоматиту - запалення слизової рота. Саме завдяки антибактеріальним властивостям поліфенолів зелений чай добре не тільки пити, але і полоскати їм рот і горло.

Кверцетин. Найбільше їх міститься в цибулі, причому в червоному, а не белом. Одна цибулина в день здатна на кілька годин різко підвищити рівень кверцетину в організмі. Особливо це необхідно алергікам і тим, хто страждає від хронічних запальних захворювань. Кверцетин - мабуть, найпотужніший серед біофлавоноїдів антиоксидант, він активно протидіє раковим клітинам. А ще він запобігає утворенню атеросклеротичних бляшок і тим самим сприяє профілактиці і лікуванню серцево-судинних захворювань. Не подобається цибулю? Знайдіть кверцетин в яблуках, помідорах, брокколі, болгарському перці, бобів, червоному вині.

Рутин. Один з найближчих родичів кверцетину і схожий на нього за своїми властивостями. Інша назва цього рослинного флавоноїду - вітамін Р. Він міститься в цитрусових. Але, на жаль, не соковитою м'якоті - найбільше його в шкірці і білих перегородках. Так що щоб отримати вітамін Р, доведеться їсти грейпфрути і лимони цілком. Або пошукайте рутин в малині, голубиці, чорній смородині, абрикосах,



помідорах, стручковом перці, зеленому салаті і пряних травах. Серед злаків він є в гречці. А ще - в каву і чорному шоколаді (з вмістом какао не менше 70%).

Вітамін Р бореться з ламкістю судин, не допускає проникнення в організм вірусів і бактерій, виводить важкі метали і токсини. Як засіб для підвищення імунітету і запобігання раннього старіння він незамінний. За допомогою рутині можна позбутися від алергічних станів, зняти больовий синдром, попередити розвиток і «несерйозного» геморою, і таких страшних захворювань, як інфаркт і інсульт [33-35].

Молекула флавоноїду складається з двох фенільних залишків А і В, з'єднаних пропановою ланкою, яка може замикатися в кисневмісний гетероцикл С. Загальні формули флавоноїдів, у яких ядро А сконденсоване з піраном (цикл С) або  $\gamma$ -піроном, матимуть такий вигляд і відповідну назву (рис. 2.1).

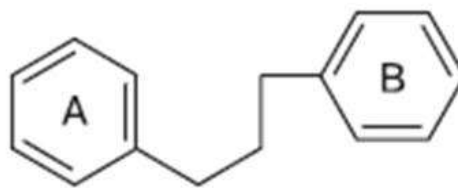


Рис.2.1. Молекула флавоноїду

### Дифенілпропан

Флавоноїди можна розглядати як похідні хроману та хромону, які містять у положенні 2-у 3- або 4-арильний радикал (рис. 2.2).

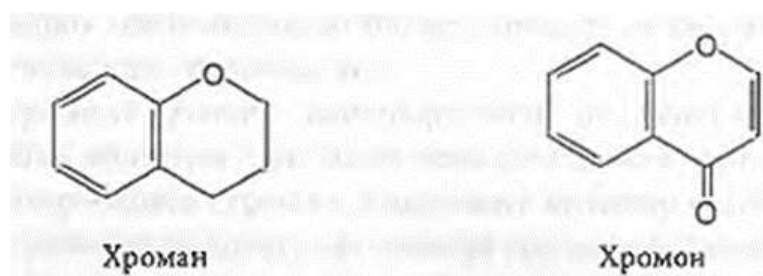


Рис.2.2. Хроман та хромон

Істинні флавоноїди, мають фенільний радикал у С<sub>2</sub>. Це найпоширеніша група. За ступенем окислення пропанового фрагменту і величиною гетероциклу істинні флавоноїди поділяють на 10 класів.

Флавоноїди можуть конденсуватися з фенолкарбонowymi та гідроксикоричними кислотами, лігнанами, а також ізопреном тощо. Наприклад, флаволігнан силібін. Крім мономерів, у рослин знайдено димери флавоноїдів: з'єднуються катехіни між собою, катехін з лейкоантоціанідином, флавіон апігенін утворює біапигенін та ін. [36].

#### Класифікація еуфлавоноїдів

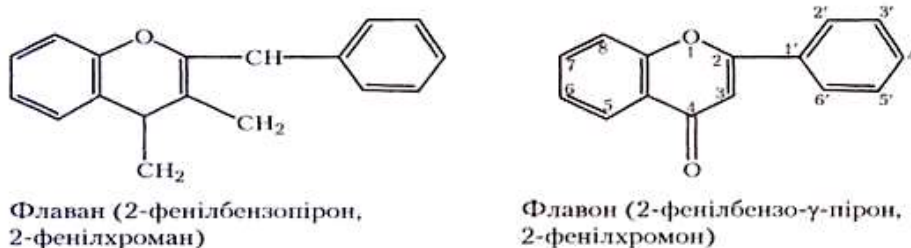


Рис. 2.3. Флаван(2-фенілбензопірон,2-фенілхроман) та Флавіон(2 – фенілбензо-  
α-пірон,2-фенілхромон)

Катехіни (флаван - 3 - оли) - безбарвні сполуки, відновлені форми, які легко окислюються і набувають забарвлення (чай)(рис. 2.3).

Лейкоантоціанідини (флаван-3,4-діоли)-сполуки близькі до катехінів, безбарвні, але при нагріванні з кислотами перетворюються на антоціанідини, стають забарвленими (рис. 2.4).

#### Антоціанідини

Особливістю будови антоціанідинів є наявність вільної валентності біля кисню в піроновому кільці. Завдяки позитивному заряду антоціанідини в кислому розчині-катиони, утворюють солі з кислотами, у лужному- аніони, утворюють солі з основами. Залежно від рН середовища змінюється забарвлення антоціанідинів. Солі катіонів забарвлюються в червоний колір з різним відтінком: жовтуватим

(пеларгонідин), фіолетовим (ціанідин), синюватим (дильфінідин). Лужні солі забарвлюються в синій колір [37]. Збільшення кількості гідроксильних груп у молекулі антоціанідину посилює інтенсивність синього кольору, збільшення кількості метоксильних груп-червоного забарвлення. У природі існує близько 22 антоціанідинів, які, сполучуючись, зумовлюють різноманітність забарвлення квіток, листків, плодів. Антоціанідини зустрічаються в природі у вигляді глікозидів-антоціанів.

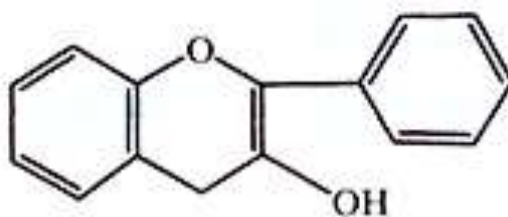


Рис. 2.4. Антоціанідини

Флавонон. Ця група має нестійке дігідро гама піронове кільце, яке легко розкривається і перетворює флавонони на халкони(рис. 2.5).

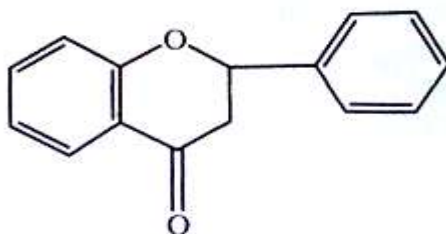


Рис. 2.5. Будова флавану

Флавононол. Відрізняється від флавононів наявністю –ОН групи у положенні С-3. Вони лабільні і тому накопичуються в рослинах в незначній кількості( рис. 2.6)

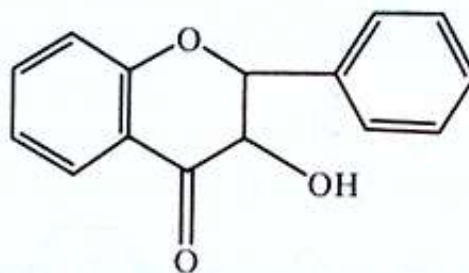


Рис. 2.6. Циклічна будова флавонолу

Флавоноли мають подвійний зв'язок в положенні С2, С3 ( рис. 2.7.).

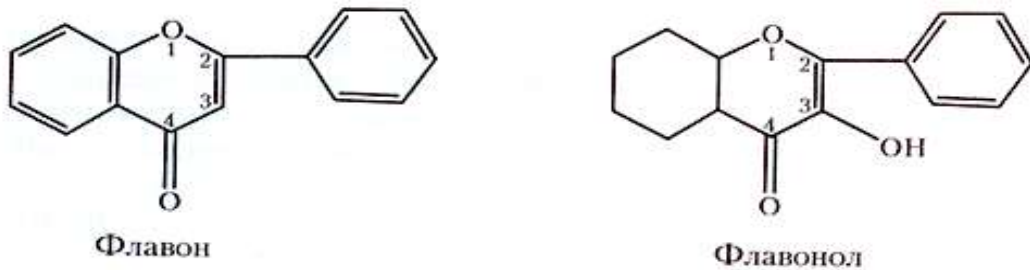


Рис.2.7. Циклічна будова флавонолу та флавонолу

Халкони і дигідрохалкони – сполуки з відкритим пірановим кільцем. У кислому середовищі перетворюються на флавонони. До халконів належить ізоліквіритон (солодка гола)( рис. 2.8).

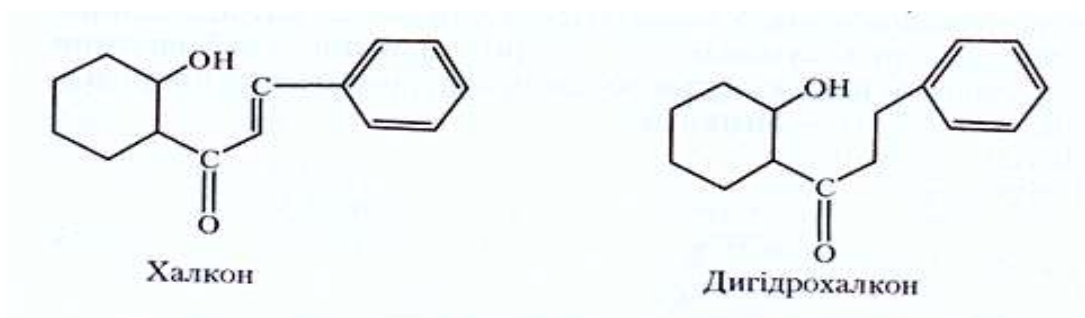


Рис. 2.8. Циклічна будова халкону та дигідрохалкону

Аурони мають па'ятичлений гетеро цикл. Аурони – жовті, оранжеві або оранжево – червоні пігменти рослин( рис. 2.9).

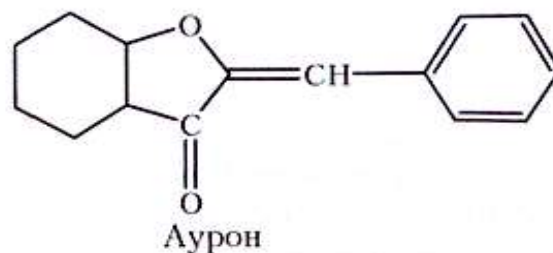


Рис. 2.9. Циклічна будова аурону

Клас ауронів, які мають п'ятичленний гетероцикл, можна розглядати як похідні 2-бензиліденкумарона (рис. 2.10).

Флавоноїди з відкритим пропановим фрагментом називаються халкони та дигідрохалкони (рис. 2.11).

Флавоноїди можуть конденсуватися між собою і з іншими фенольними сполуками: фенолкарбонowymi і оксикоричними кислотами, лігнанами, а також з ізопреноїдами, алкалоїдами та ін. [38].

Поряд з мономерними флавоноїдами описані природні димери (біфлавоноїди), олігомери, що побудовані з залишків лейкоантоціанів або антоціанів, та полімери (конденсовані таніни).

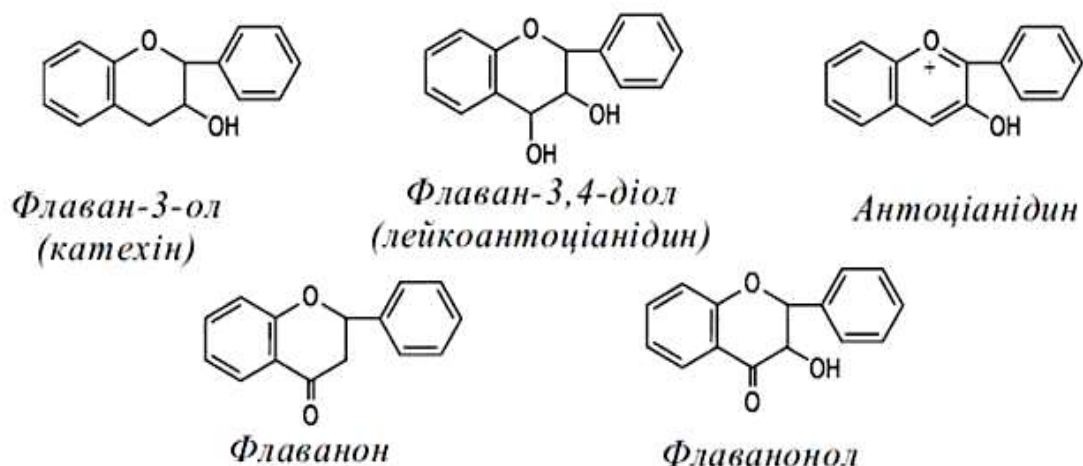


Рис. 2.10.Циклічна форма флавонолів

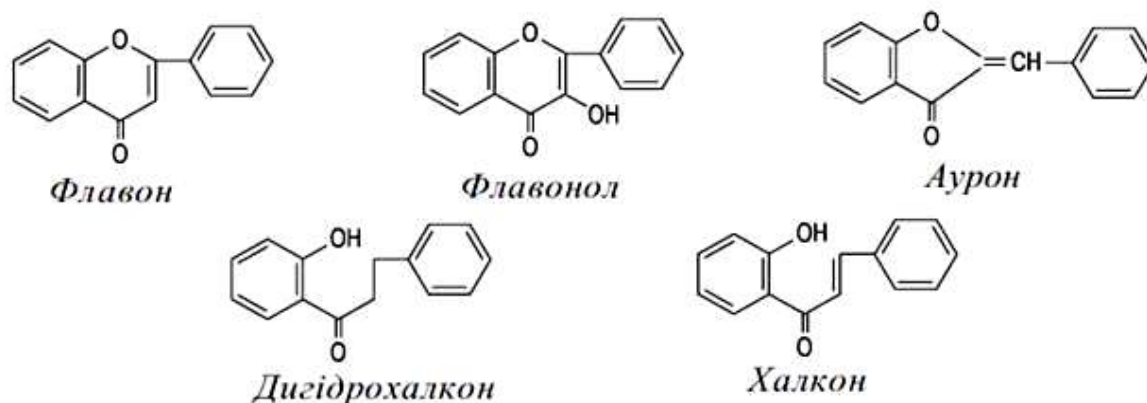
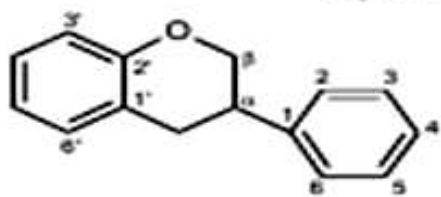
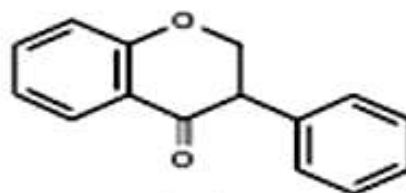


Рис. 2.11.Флавоноїди та їх похідні

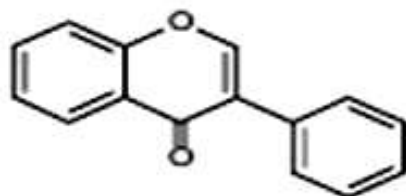
*Прості ізофлавоноїди*



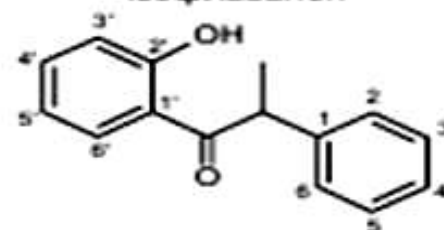
Ізофлаван



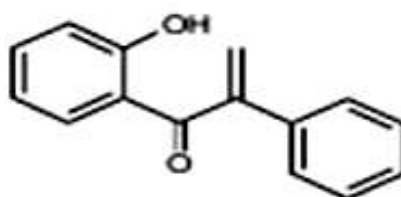
Ізофлаванон



Ізофлафон

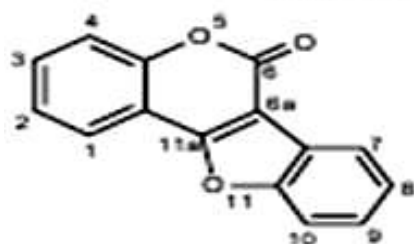


Ізодигідрохалкон

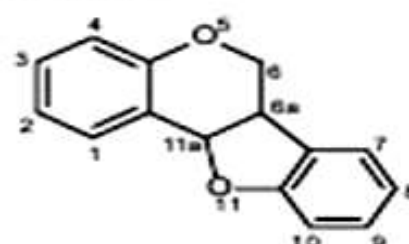


Ізохалкон

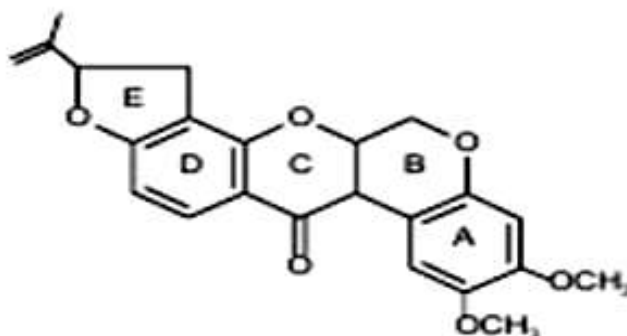
*Конденсовані ізофлавоноїди*



Куместан,  
або кумаранокумарин



Птерокарпан,  
або кумаранохроман



Ротенон, або хроманохроманон

Рис. 2.12. Прості Ізофлавоноїди

До складу ізофлавоноїдів входить фенільний радикал у С3. В основі класифікації ізофлавоноїдів є ступінь окислення пропанового фрагмента і характер гетероциклу. Ізофлавоноїди ділять на прості й конденсовані. До простих ізофлавоноїдів належать ізофлавани, ізофлавонони, ізофлавонони, ізохалкони; до конденсованих - куместани, птерокарпани, ротеноїди тощо(рис. 2.12) [22].

До складу неофлавоноїдів входить фенільний радикал у С4. Серед неофлавоноїдів зустрічаються підкласи флавану, флавону, халкону. Внаслідок заміщення С4 положення замість  $\gamma$ -пірону в групі трапляються сполуки з  $\alpha$ -піроновим гетероциклом (рис. 2.13) [39].

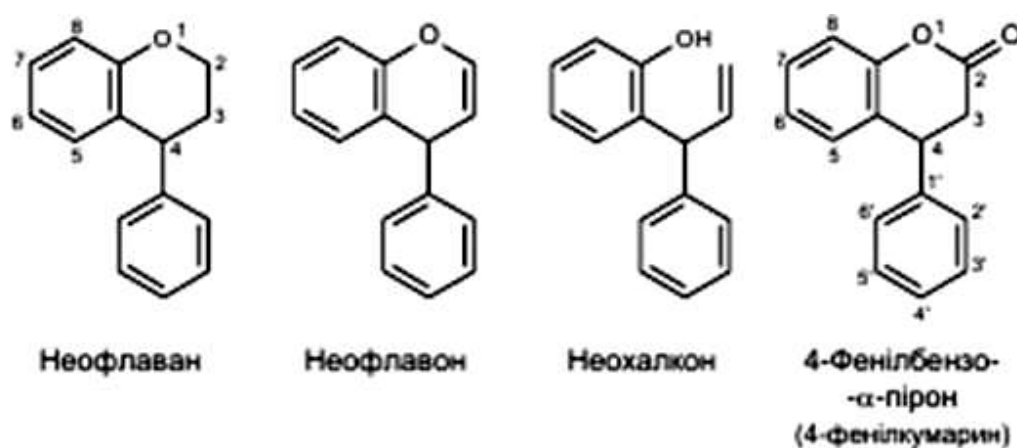


Рис. 2.13. Циклічна форма неофлавоноїдів

Флавоноїди зустрічаються у вільному стані, але дуже рідко. Більшість з них знаходиться у глікозидній формі. Вуглеводні залишки представлені D-глюкозою, D-галактозою, D-ксилозою, L-рамнозою, L-арабінозою, D-глюкуроною та D-галактуроною кислотами тощо.

Здебільшого флавоноїдні глікозиди - це O-глікозиди. Зустрічаються також C- і C – O-глікозиди. Залежно від кількості й положення вуглеводних залишків вирізняють монозиди, біозиди, триозиди, диглікозиди та ін. [40].

### 2.3. Якісні реакції на виявлення флавоноїдів

Можна виділити дві групи методик, які найчастіше зустрічаються для кількісного визначення суми флавоноїдів. Перша – прямі спектрофотометричні методики з розрахунком кількісного вмісту методом показника поглинання після попереднього розділення або хроматографічного виділення флавоноїдів із сировини чи готового лікарського засобу [3, 4, 8].

Друга група методик – це методики із застосуванням стандарту [5]. Попередньо проводиться гідроліз усіх форм флавоноїдів до агліконів, а потім для отримання забарвленого продукту використовують реакцію комплексоутворення алюмінію хлориду з виділеними агліконами. Ця методика застосовується для контролю якості ЛРС відповідно до вимог чинної ДФУ [1].

Згідно з даними, що доводять літературні джерела, кураї містять флавоноїди, представлені, головним чином, похідними кемпферолу або кверцетину, і ізофлавоноїдами (5,2-дигідрокси-5-метокси-6,7-метилендіокси-ізофлавоон) [1].

Якісні реакції. Приготування витягу: 3 г подрібненої сировини поміщують у конічну колбу на 100 мл зі зворотним холодильником, заливають 35 мл 70 %-го спирту і нагрівають на киплячому водяному нагрівнику 20 хв., періодично перемішуючи. Після охолодження екстракт фільтрують і очищають, для цього фільтрат наносять на колонку діаметром 1 см, заповнену 1 г поліамідного сорбенту. Флавоноїди з колонки вимивають 70 %-м спиртом. Очищений екстракт упарюють до 1/2 об'єму і використовують для проведення якісних реакцій та хроматографічного виявлення флавоноїдів.

Примітка. Роботу проводять у порівнянні з 0,1 %-м розчином рутину.

Ціанідінова реакція. До 1 мл очищеного екстракту (0,1 %-го розчину рутину) додають по 2 - 3 краплі концентрованої хлороводневої кислоти і щіпку порошку металічного магнію; з'являється забарвлення різного кольору, (залежно від будови сполук) внаслідок утворення ціанідинів(рис.2.14).



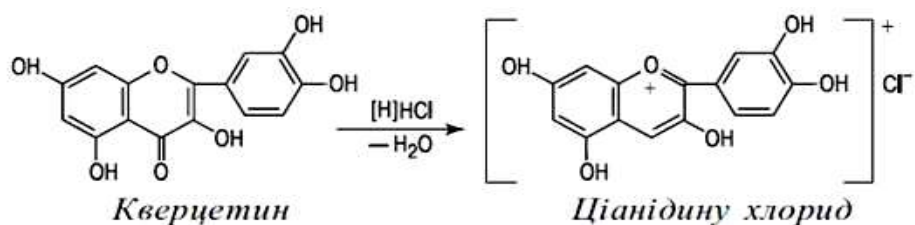


Рис.2.14. Ціанідинова реакція

Реакція із ацетатом свинцю. До 1 мл екстракту, який очищений (і 0,1 % розчину рутину) додають по 3-5 краплі 10 %-го розчину ацетату свинцю: при цьому має утворитися осад (див. рис.2.15).

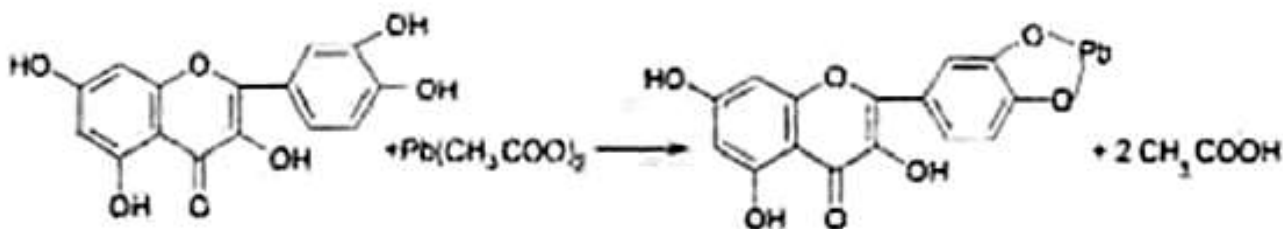


Рис.2.15. Реакція із свинцю ацетатом

Хроматографічне визначення флавоноїдіва. 5 мл екстракту упарюють на водяному нагрівнику у випарувальній чашці досуха. Залишок розчиняють у 0,3 - 0,5 мл спирту і наносять на дві пластинки, поряд наносять зразки “свідків” - розчини рутину і кверцетину. Пластинки сушать і поміщають в системи розчинників (див. рис.2.16).

(А) - етилацетат-оцтова кислота - вода (70:15:17) (для агліконів),

(Б) - метанол-оцтова кислота - вода (18:1:1) (для глікозидів).

Хроматограми висушують у витяжній шафі і розглядають їх при денному та УФ-світлі до і після обробки 10 %-м спиртовим розчином луку.

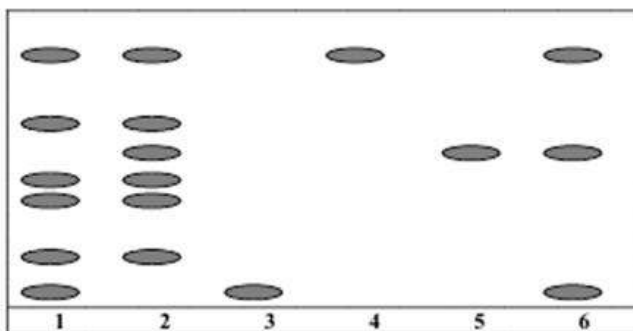


Рис.2.16. Хроматограма спиртових витяжок

## 2.4. Спектрофотометричний метод визначення фенольних сполук

Визначення суми фенольних сполук проводили спектрофотометричним методом (спектрофотометр КФК-2МП) за методикою Фоліна-Чокальтеу, використовуючи як стандартний зразок розчин галової кислоти [40].

Для цього 0,2 см<sup>3</sup> отриманої витяжки переносили в мірну колбу 25 см<sup>3</sup>, додавали 17,5 см<sup>3</sup> гліколевого буферного розчину (рН=12,9), 1 см<sup>3</sup> реактиву Фоліна-Чокальтеу і доводили очищеною водою до мітки. Вміст колби перемішували і залишали на 30 хв. Оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі за довжини хвилі 760 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

В якості розчину порівняння використовували суміш, що складалася з 1 см<sup>3</sup> реактиву Фоліна-Чокальтеу, 17,5 см<sup>3</sup> гліколевого буферного розчину з рН=12,9 і 6,5 см<sup>3</sup> води очищеної. Паралельно визначали оптичну густину розчину стандартного зразка галової кислоти, виготовленого аналогічно досліджуваному розчину.

Кількісний вміст суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту в абсолютно сухій сировині у відсотках (X) обраховували за формулою:

$$X = \frac{D_1 \cdot C \cdot V_{заг} \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot V \cdot (100 - w)}$$

де  $D_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$D_0$  – оптична густина розчину ФСЗДФУ галової кислоти;

$C$  – концентрація розчину ФСЗДФУ галової кислоти, г/см<sup>3</sup> (0,4·10<sup>-3</sup>);

$m$  – наважка сировини, г;

$V_{\text{заг}}$  – загальний об'єм екстракту, см<sup>3</sup>;

$V$  – об'єм, взятий для визначення, см<sup>3</sup>;

$w$  – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

## 2.5. Висновки до розділу

Встановлено, що флавоноїди - це природні речовини, які містяться в рослинах. Науково доведено, що вони мають здатність регулювати діяльність людського організму, а тому широко застосовуються для лікування багатьох захворювань.

Однією з важливих особливостей флавоноїдів є їхня антиоксидантна дія. Крім того, що флавоноїди самі виконують роль антиоксидантів, вони також посилюють дію вітамінів А, Е, С, які також є природними антиоксидантами.

Така дія флавоноїдів є дуже важливою для збереження та відновлення здоров'я. Адже в організмі людини під впливом стресових ситуацій, негативних чинників довкілля (забрудненість води, повітря, захімізована їжа, зловживання медикаментами тощо), в організмі зростає концентрація вільних радикалів, які спричинюють виникнення різноманітних хвороб. Науково доведено, що вільні радикали «винні» в розвитку більш як ста захворювань.

Показано, що для екстрагування флавоноїдів з лікарської рослинної сировини використовують нижчі спирти або спирто-водні суміші.

Для визначення флавоноїдів використовують якісні реакції та спектрофотометричний метод.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ

#### **3.1. Визначення оптимальних параметрів екстракції фенольних сполук з меліси лікарської *Melissa officinalis***

Сушена трава меліси лікарської *Melissa officinalis* є готовою природною функціональною біодобавкою, проте існуюча технологія настоїв на її основі є недосконалою.

Поширену традиційну технологію ароматизованих настоїв для подальшого приготування напоїв та вин передбачає використання як екстрагенту водних розчинів етилового спирту з об'ємною часткою спирту 30-80% і тривалістю настоювання 10-20 діб або ж приготування водних настоїв рослинної сировини шляхом заливання їх киплячою водою і витримування при температурі 70-80°C протягом 4-6 годин [41-44].

Отримані першим способом настої через високу об'ємну частку етилового спирту можна додавати в напої та вина в обмеженій кількості так, щоб не перевищити їх об'ємної частки етилового спирту, що регламентується. Дещо покращуючи аромат напоїв та вин, вони істотно не впливають на підвищення біологічної цінності смакові показники готової продукції.

За другого способу приготування настоїв прискорення процесу екстрагування за підвищеної температури приводить до погіршення їх якості, оскільки в разі нагрівання вище 40°C інтенсифікуються реакції меланоїдиноутворення, окислення й полімеризації термолабільних ароматичних речовин, фенольних сполук, з'являється трав'янистий, лікарський смак, змінюється колір [45].

З метою підвищення вмісту біологічно активних сполук у настоях були проведені дослідження з визначення можливості зниження об'ємної частки етилового спирту в екстрагенті в поєднанні з такими чинниками інтенсифікації процесу

екстрагування повітряно-сухої сировини: підвищення міри подрібнення сировини та проведення екстрагування з постійним перемішуванням суміші, що екстрагується.

Встановлено, що антиоксидантні властивості препаратів меліси лікарської *Melissa officinalis* обумовлені вмістом поліфенольних сполук – флавоноїдними глікозидами – проантоціанолінами, кверцетину, кемпферолу, ізорафнетину.

Основні фактори, що вивчали для визначення впливу на повноту і швидкість екстракції, були: дисперсність рослинної сировини, природа екстрагенту, тривалість екстрагування, співвідношення сировина : екстрагент, кратність екстракції.

Вивчення впливу ступеня подрібнення сировини на повноту екстракції діючих речовин проводили для трави меліси лікарської *Melissa officinalis*, яка була зібрана і висушена при температурі 25 °С до повітряно-сухого стану [46].

Сировину подрібнювали і просіювали крізь сита з розміром отворів 0,25; 0,5; 1,0 мм. З кожної фракції відбирали по 0,5 г (точна наважка) сировини та переносили в колбу на 100 см<sup>3</sup>, додавали 25 см<sup>3</sup> очищеної гарячої води та нагрівали на киплячому зі зворотним холодильником протягом 30 хв при періодичному перемішуванні. Витяжки охолоджували до кімнатної температури, відфільтровували в мірну колбу на 25 см<sup>3</sup>, за необхідності доводили до мітки очищеною водою, перемішували та визначали вміст фенольних сполук (табл. 3.1). Кожне визначення проводили для 3 паралельних партій, кінцеве значення вираховували як середнє значення.

З наведених даних у табл. 3.1 можна зробити висновок, що максимальне вилучення фенольних речовин досягається при подрібненні сировини до розміру частинок 0,5 мм і становить 7,12 %. Подальше подрібнення сировини до розміру частинок <0,25 мм робити недоцільно, оскільки це призводить до зниження виходу фенольних речовин на 4,5 %.

Вплив дисперсності сировини на повноту екстракції фенольних сполук з трави меліси лікарської *Melissa officinalis*

Розмір частинок сировини, мм	Вміст БАР, %					
	Партія сировини					Середнє значення
	1	2	3	4	5	
0.5	7	7,1	7,3	7	7,2	7,12
1	5,5	5,4	5,3	5,8	5,4	5,48
2	4,9	5,2	5,1	4,9	5,3	5,08
3	4,8	4,9	4,7	4,9	5	4,86
4	4,6	4,7	5	4,8	4,5	4,72
5	4,5	4,6	4,3	4,5	4,4	4,46

Для виявлення найкращих екстрагентів при одержанні витяжок були використані розчини етилового спирту (96 %, 70 %, 50 %, 30 %) та вода очищена. Беручи до уваги оптимальну дисперсність, із рослинної сировини (ступенем подрібнення 0,5 мм) готували витяжки згідно з вищеведеною методикою та аналізували в них вміст діючих речовин (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив природи екстрагента на повноту екстракції фенольних сполук з трави меліси лікарської *Melissa officinalis*

Екстрагент	Вміст фенольних сполук, %			
	Партія 1	Партія 2	Партія 3	Середнє значення
Вода очищена	15,04	13,96	14,56	14.52±0,56

Розчин етилового спирту	30%	9,18	9,86	8,920	9,32±0,40
	50%	19,15	19,40	18,80	19,15±0,25
	70%	13,60	13,98	13,20	13,59±0,39
	96%	12,16	12,06	12,47	12,23±0,17

Аналізуючи дані табл. 3.2, можна зробити висновок, що найкращим екстрагентом є 50 % розчин етилового спирту, за таких умов екстракції вилучається 19,15 % фенольних речовин. Зміна концентрації етилового спирту у розчині (підвищення та зниження) на 20 % призводить до зниження кількості вилучених фенольних речовин.

При екстракції трави меліси лікарської *Melissa officinalis* водою вихід фенольних речовин нижчий порівняно зі спиртом і становить 14,52 %. Однак, для рідких екстрактів цей показник є досить високим, тому воду також можна розглядати як екстрагент фенольних речовин у тих випадках, коли забороняється використовувати спиртові екстракти (для дітей, вагітних жінок та жінок у період лактації). У зв'язку з цим подальші дослідження проводили при екстрагуванні фенольних речовин водою та 20 % розчином етилового спирту.

Екстрагентами були вода й водно-спиртові розчини з різною об'ємною часткою етилового спирту. Співвідношення об'єму екстрагента до маси сировини складало 20:1. Сировину (мелісу лимонну) подрібнювали до розміру часток 0,5-1,0 мм. Екстрагування проводили одноразове з безперервним перемішуванням суміші, що екстрагувалася [47].

Для визначення оптимальних параметрів екстрагування в настоях визначали масову концентрацію фенольних сполук. Залежність масової концентрації фенольних сполук у настоях від тривалості екстрагування наведено на рисунку 3.1.

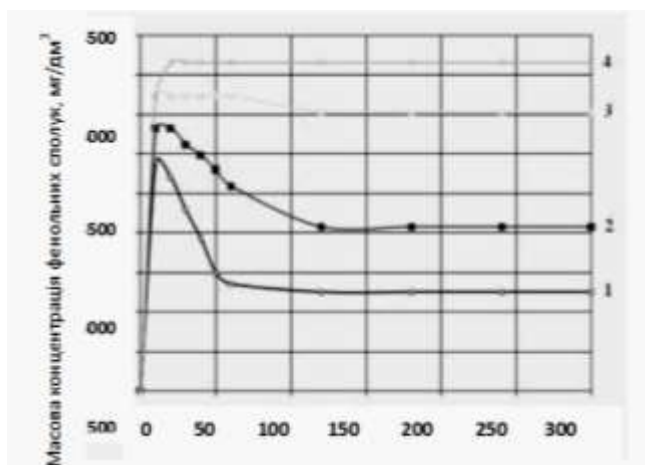


Рис.3.1. Вилучення фенольних сполук із меліси: 1 –водна екстракція; 2 – екстракція водно-спиртовим розчином з об’ємною часткою етилового спирту 18%; 3 –екстракція водно-спиртовим розчином з об’ємною часткою етилового спирту 35%; 4 –екстракція водно-спиртовим розчином з об’ємною часткою етилового спирту 50%

Аналіз експериментальних даних, наведених на рис. 3.1 показує, що вище вказані чинники інтенсифікації екстрагування дозволяють значно скоротити тривалість отримання настоїв від 10-20діб (за традиційною технологією) до 20 хв.

У той же час, зі зменшенням в екстрагенті об’ємної частки етилового спирту до 18% і в разі водної екстракції після досить стрімкого зростання масової концентрації фенольних сполук за перші 10-20 хвилин процесу, спостерігається її лавиноподібне зниження, що супроводжується збільшенням інтенсивності забарвлення отриманих настоїв.

Відбувається це внаслідок діяльності окислювальних ферментів, для яких дані умови середовища є оптимальними, такими, що приводять до окислення мономірних фенольних сполук, утворення хінонів, які вступають у реакції конденсації з утворенням флобафенів і меланінів, які мають темно-коричневе забарвлення.

Існують декілька способів інактивації окислювальних ферментів сировини. Найбільш прийнятним для отримання ароматизованих настоїв для напоїв та вин є використання органічних харчових кислот: лимонної, яблучної, винної та ін.

Дослідження динаміки вилучення фенольних сполук із пряно-ароматичних рослин водними і водно-спиртовими розчинами з додаванням різної кількості



лимонної кислоти показали, що підкислення екстрагенту до масової концентрації не менше  $8\text{г/дм}^3$  запобігає окисленню фенольних сполук, сприяє більшому їх вилученню з пряно-ароматичної рослинної сировини, а також позитивно позначається на органолептичних та оптичних характеристиках отриманих настоїв [45].

На підставі розроблених параметрів були отримані настої ПАРС для створення напоїв та вин. Основними критеріями під час вибору ПАРС були такі: дозвіл органів Держсанепіднагляду для застосування в харчовій промисловості, наявність значущих кількостей БАР, оригінальні органолептичні показники, широкий ареал поширення або легкість інтродукції. Були відібрані цвіті листя меліси лікарської.

Для запобігання хімічній взаємодії сполук, втрадіючого початку й утворення шкідливих для організму речовин, які часто мають місце у випадку створення багатокомпонентних композицій, настої готували з одного виду ПАРС. Для порівняльної оцінки був виготовлений водно-спиртовий настій меліси лікарської за традиційною технологією: повітряно-суху траву заливали водним розчином етилового спирту (об'ємна частка спирту 50%).

Відношення об'єму екстрагенту до маси сировини складало 10:1, тривалість екстрагування – 10 діб при одноразовому щодобовому перемішуванні. Після закінчення зазначеного терміну настій відокремлювали від сировини. Сировину вдруге заливали водним розчином етилового спирту (об'ємна частка спирту 25%) і проводили настоювання протягом 10 діб із щодобовим одноразовим перемішуванням [35].

Настій 2-го заливу відокремлювали від сировини та об'єднували з настоем 1-го заливу. Об'ємна частка етилового спирту в отриманому настоеві склала 34%. Фізико-хімічні показники отриманих настоїв наведено в табл.3.3.

## Фізико-хімічні показники настоїв пряно-ароматичної рослинної сировини

Настій	Масова частка розчинних сухих речовин, %	рН	Масова концентрація, мг/дм <sup>3</sup>					
			фенольних сполук	амінного азоту	К	Na	Ca	Mg
Водний на мелісі	2,0	3,8	3250,0	58,8	1560,0	19,0	209,0	157,9
Водно-спиртовий на мелісі (традиційна технологія)	1,8	5,2	3750,0	39,2	1020,0	15,0	55,0	143,5

Аналізуючи дані таблиці, слід зазначити, що за вмістом біологічно активних сполук пріоритет належить настоям, виготовленим за розробленою технологією. Замасовою концентрацією фенольних сполук (3250 мг/дм<sup>3</sup>) отримані настої конкурують із червоними винами (1500-5000 мг/дм<sup>3</sup>).

Таким чином, подрібнюючи повітряно-суху пряно-ароматичну рослинну сировину до розміру часток 0,5...1,0 мм і проводячи процес екстракції в умовах постійного перемішування й інгібування окислювальних ферментів, можна отримати високоякісні настої із значним скороченням тривалості екстрагування від 10-20 діб до 20 хв.

Настої за вдосконаленою технологією можуть як самостійно, так і в суміші з іншими інгредієнтами бути основою для функціональних напоїв різних типів, призначених стати джерелом додаткового збагачення організму людини біологічно активними речовинами.

Використання того або іншого виду сировини дозволяє створювати на основі настоїв ПАРС напої з широким спектром функціональних властивостей – тонізуючі, релаксуючі, тощо.

### 3.2. Визначення протимікробної активності екстрактів меліси лікарської *Melissa officinalis*

Скринінг зразків на антимікробну активність проведено на штаммах грампозитивних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* 19659 <sup>TM</sup> і грамнегативною штамом *Escherichia coli* ATCC 8739 та до дріжджового грибка *Candida albicans* 10231 <sup>TM</sup> дискодифузійним методом [41]. В якості препаратів порівняння, згідно з вимогами, використовували стандартні – бензилпеніцилін для мікроорганізмів і ністатин для дріжджового грибка *C. albicans*. Рідким живильним середовищем згідно був поживний агар [2].

Для проведення дослідження готували суспензію, яка містить стандартну кількість життєздатних клітин мікроорганізмів, яку засівали газомом на поверхню живильного середовища в чашки Петрі. На стерильні диски з фільтрувального паперу наносили 0,01 мл зразка. Диски з препаратами накладали на посів на відстані 2,5 см від центру чашки по колу (на одну чашку 4 диска). Посіви інкубували 24 год при 36 °С. Після інкубації, на тлі рівномірного бактеріального газону навколо дисків утворювалися зони повного і часткового пригнічення росту мікроорганізмів. Облік результатів здійснювали шляхом вимірювання діаметра зон пригнічення росту.

Антимікробна активність зразків оцінювалася по діаметру зон затримки росту тест-штамів (мм). Діаметр зон затримки росту менше 10 мм та суцільним зростанням в чашці оцінювали як відсутність антибактеріальної активності, 10-15 мм – слабка активність, 15-20 мм - помірно виражена активність, понад 20 мм – виражена. Кожен зразок випробовувався в трьох паралельних дослідах [42, 43].

У таблиці 3.4 представлені результати дослідження антимікробної активності водних і водно-спиртових екстрактів, отриманих з повітряно-сухої сировини *Melissa officinalis* методом настоювання і з застосуванням ультразвукового впливу.

З наведених у таблиці 3.4 даних випливає, що зразки водних екстрактів меліси лікарської, отримані при екстракції, мають виражену антимікробну дію відносно *Staphylococcus aureus*, 30 і 90% спиртові екстракти, а також водний екстракт активні щодо *Staphylococcus aureus* і *Bacillus subtilis*. Всі зразки проявили слабку активність

до грамнегативної паличкової бактерії – кишкової палички *Escherichia coli*. Крім того, було виявлено слабка антимікробна активність всіх зразків щодо *Candida albicans*[22-24].

Таблиця 3.4

Антимікробна активність досліджуваних зразків екстрактів, мм

Найменування зразків	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Водний екстракт меліси лікарської	16,2	18,2	12,8	2,8
30% -ний спиртовий екстракт меліси лікарської	18,7	20,2	11,0	2,5
50% -ний спиртовий екстракт меліси лікарської	19,8	21,5	13,7	3,0
бензилпеніцилін	23,7	35,7	9,0	-
ністатин	-	-	-	18,5

Варто відзначити підвищення антимікробної активності варіантів екстрактів, які були отримані методом 50% водно-спиртового екстрагування.

### 3.3. Висновки дорозділу

На основі проведених досліджень визначено оптимальні параметри процесу екстракції БАР з меліси лікарської *Melissa officinalis*, які становлять: подрібнення сирбини 0,5 мм, співвідношення сировина:екстрагент 1:50, тривалість екстрагування – 20 хв. Також показано, що екстракти містять важливі мікроелементи, а саме кальцій, магній та калій, натрій.

Проведено визначення протимікробної активності екстрактів меліси лікарської. Антимікробну активність проведено на штамах грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* і грамнегативною штамом *Escherichia coli* та до дріжджового грибка *Candida albicans*. Встановлено, що 50% водно-спиртовий екстракт меліси лікарської краще пригнічує патогенні мікроорганізми.

## ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що Меліси лікарська (*Melissa officinalis*) – лікарський засіб, який володіє цілющими властивостями. Відомо, що меліса лікарська *Melissa officinalis* володіє великою кількістю біологічно активних речовин, включаючи флавоноїди (кверцетин, рутин), розмаринову, галову кислоту та ін., які мають потужні антиоксидантні властивості. В роботі показано, що меліса лікарська *Melissa officinalis* чудово входить в терапію різних неврологічних захворювань, які зумовлені стресом. Меліса лікарська *Melissa officinalis* також має седативний, транквілізуючий, спазмолітичний едії. Також відомо, що меліса лікарська *Melissa officinalis* дуже ефективна в при безсонні, головному болі, неврологічних розладах. У народній медицині меліса лікарська *Melissa officinalis* використовується в лікуванні захворювань травної системи, серцевої недостатності, аритмій, анемії, запаморочення, депресії, епілепсії та інших захворювань .

2. Показано, що в екстракті меліси лікарської *Melissa officinalis* містяться біологічно активні речовини такі як: флавоноїди (кверцитрин, рамноцитрин, лютеолін), поліфенольні сполуки (розмаринову, кавову та протокатехуїнову кислоти), монотерпеноїдний альдегід, монотерпенові глікозиди, тритерпени (урсолова кислота, ефірні та олеанолові кислоти).

3. На основі проведених досліджень визначено, що оптимальними параметрами процесу екстракції БАР з меліси лікарської *Melissa officinalis* є подрібнення сирбини 0,5 мм, співвідношення сировина:екстрагент 1:50, тривалість екстрагування – 20 хв. Також показано, що екстракти меліси лікарської *Melissa officinalis* містять важливі мікроелементи: кальній, магній та калій, натрій.

## СПИСОК БІБЛОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ

### ДЖЕРЕЛ

1. Болтабекова З.В. Фармакогностическое исследование по стандартизации новых лекарственных средств на основе травы мелиссы лекарственной (*Melissa officinalis L.*) / дис. канд. фармац. наук З.В. Болтабекова. – Москва :Изд-во Фармаком, 2003. – 122 с.
2. Вронська Л. В. Застосування тонкошарової хроматографії для ідентифікації трави меліси лікарської / Вронська Л. В. // Фармац. часопис. – 2011. –№4. – С. 64-67
3. Mimica-Dukic N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis L. (Lamiaceae)* essential oil / N. Mimica-Dukic, B. Bozin, M. Sokovic, N. Simin // Acta Pol. Pharm. – 2003. – Vol. 60, Iss. 6. – P. 467-470
4. Адамчик М.В.Всемирная энциклопедия. Биология / под ред. М.В. Адамчика. – Минск: Изд-во Современный литератор, 2004.–831 с.
5. Гудзенко А. В. Вміст біологічно-активних речовин та антирадикальні властивості спиртових настоек трави меліси лікарської (*Melissa officinalis L.*) / Гудзенко А. В. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010.– № 5 (18). – С. 17-23
6. Балашова Т.С.Влияние танакана на перекисное окисление липидов крови и агрегационные свойства тромбоцитов у больных инсулинзависимым сахарным диабетом /Балашова Т.С., Кубатиев А.А. //Терапевт. Архив. –1998. – Т.70, №12. –С.49
7. Булаев В.М. Клиническая фармакология экстракта листьев гинкго билоба / Булаев В.М.//Медико-фармац. Вестник. –1996.–№ 7-8. –С. 33.
8. Seyhan N. Antimicrobial activities of different extracts of eight plant species from four different family against some pathogenic microorganisms / N. Seyhan, D. Keskin, A. Uğur // Journal of Food, Agriculture & Environment. – 2012. –Vol.10, Iss. 1. – P. 193-197.

9. Larrondo J.V. Antimicrobial activity of essences from Labiates / J.V. Larrondo, M. Agut, M.A. Calvo-Torras // *Microbios.* – 1995. – Vol. 82, № 332. – P. 171-172.
10. Танакан при дисциркуляторной энцефалопатии. Клинич. геронтология/И.В. Дамулин [и др.]// *Фармаком.*–1996. –№4.–С. 51.
11. ГрушвицкийИ. В. Жизнь растений: в шести томах / ГрушвицкийИ. В., ЖилинС. Г. – Москва :Изд-во Наука 1978. –Т.5 –447 с.
12. Котов А. Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину і настоек на її основі до Державної Фармакопеї України / А. Г. Котов // *Фармаком.* – 2012. – № 3. – С. 31-41.
13. Андреева И.С. Сравнительная оценка антимикробной активности некоторых перспективных лекарственных растений /И.С. Андреева [и др.]// *Растительный мир Азиатской России.* – 2018, № 1(29).– С. 91-99
14. Котов А. Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослинну сировину. Частина 1. / Котов А. Г. // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації.* – 2011. – № 6 (20). – С. 16-22.
15. Assis F. Antibacterial activity of Lamiaceae plant extracts in clinical isolates of multidrug-resistant bacteria / F. Assis, F. Siqueira, I. Goncalves, R. Lacerda, R. Nascimento, S. Araujo, J Andrade, K. Herrera, L. Lima, J. Ferreira // *Anais da Academia Brasileira de Ciências.* – 2018. – Vol. 90, Iss. 2. – P. 1665-1670
16. Carović-Stanko K. Medicinal Plants of the Family Lamiaceae as Functional Foods – a Review / K. Carović-Stanko, M. Petek, M. Grdiša, J. Pintar, D. Bedeković, M.H. Ćustić, Z. Satovic // *Czech J. Food Sci.* – 2016.– Vol. 34, Iss. 5. –P. 377-390
17. Котов А. Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослинну сировину. Частина 2. / Котов А. Г. // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації.* – 2012.– №1 (21). – С. 4-10
18. Bikram S.Biology and chemistry of Ginkgo biloba / Bikram S. // *Fitoterapia.* 2008. – Vol. 79. – P. 401-418

19. Shaolin Zheng A new Mesozoic Ginkgo from western Liaoning, China and its evolutionary significance / Shaolin Zheng, Zhiyan Zhou // Review of Palaeobotany and Palynology. 2004. –Vol. 131, № 1-2. – P. 91-103
20. Попова Н. В. Вопросы стандартизации лекарственного растительного сырья – мелиссы листьев / Попова Н. В., Литвиненко В. И. // Фармаком. – 2009. – № 2. – С. 45-50
21. Попова Н. В. Розмариновая кислота в фармакопейных растениях / Попова Н. В. // Фармаком. – 2013. – № 1. – С. 27-31
22. Попова Н. В. Анализ эфирного масла мелисы лекарственной / Попова, Н. В., Литвиненко В. И. // Фармаком. – 2009. – № 1. – С. 37-40
23. Паштецкий В.С. Использование эфирных масел в медицине, ароматерапии, ветеринарии и растениеводстве (обзор) / Паштецкий В.С., Невкрытая Н.В. // Тавр. вестн. аграр. науки. – 2013. – № 1(13). – С. 16-38
24. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 9th Edition: [Website]. 2016. URL: <https://www.edqm.eu/en/europeanpharmacopoeia-ph-eur-9th-edition> (viewed on: 01.05.2021).
25. Jinxing L. Old Ginkgo trees in China // International Dendrology Society Yearbook/ ed. by Jinxing L., Yushi H., Xianpu W. London, 1995. – P. 32-37
26. Козубов Г.М. Современные голосеменные (морфолого-систематический обзор и кариология)/Козубов Г.М., Муратова Е.Н.// Ленинград : Наука, 1986.—192 с.
27. Ультразвуковая экстракция как способ оптимизации технологии извлечения биологически активных веществ из растений вида *Limonium gmelinii* / Д. Т. Касимова [и др.] // Изв. науч.-техн. общ. «КАХАК». – 2020. – № 2(69). – С. 59-67
28. Стешенко О.М. Визначення параметрів екстракції фенольних сполук фітоадаптаційної суміші/Стешенко О. М., Арсеньєва Л. Ю. // Наукові праці ОНАХТ.– 2014. –Т.2, № 4. –С. 51-56
29. European Pharmacopoeia. 7-th ed. – Strasbourg: Print European Directorate for the Quality of Medicines, 2009. – 3357 p.



30. Логвиненко Л.А. Ароматические растения семейства *Lamiaceae* для фитотерапии / ЛогвиненкоЛ.А., ХлыпенкоЛ.А., Марко Н. В. // Фармация и фармакология. – 2016. – № 4. – С. 35-47
31. Петрухина А. В. Окислительный стресс и антиоксиданты. Организм, кожа: сборник статей : монография ; под ред. А. В. Петрухиной. –Москва: Изд-во ООО «Фирма КЛАВЕЛЬ», 2006. – 287 с.
32. Юрьев Д.В. Анализ флавонолгликозидов в препаратах и БАДна основе гинкго билоба /Юрьев Д.В., Эллер К.И., Арзамасцев А.П.//Фармация.– 2003. – №2. – С. 7.
33. Teris A. van Beeka Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals / Teris A. van Beeka, Paola Montoro // Journal of Chromatography A. –2009. –Vol. 1216. –P. 2002-2032.
34. British Pharmacopoeia: [Website]. London, 2019. URL: <https://www.pharmacopoeia.com/> (viewed on:08.01.2019).
35. Araújo S. Volatile compounds of Lamiaceae exhibit a synergistic antibacterial activity with streptomycin / S. Araújo, L. Alves, M. Pinto, G. Oliveira, E. Siqueira, R. Ribeiro, J. Ferreira, L. Lima // Brazilian Journal of Microbiology. – 2014. – Vol. 45, Issue 4. – P. 1341-1347
36. European Pharmacopoeia. 6-th ed. – Strasbourg: Print Council of Europe, 2007. – 4670 p.
37. Рейвн П. Современная ботаника /РейвнП., Эверт Р., Айкхорн С. ; подред. А.Л. Тахтаджяна. –учеб. пособие. – Москва : Изд-во Мир, 1990. – Т.1. – 323 с.
38. European Pharmacopoeia. 5-th ed. – Strasbourg: Print European Directorate for the Quality of Medicines, 2005. – 3680 p.
39. Kozowska M. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae Family / M. Kozowska, A. Laudy, J. Przyby, M. Ziarno, E. Majewska // Acta Poloniae Pharmaceutica & Drug Resear. – 2015. – Vol. 72, Iss. 4. – P. 757-767.

40. Remigius C. Biodiversity within *Melissa officinalis*: Variability of Bioactive Compounds in a Cultivated Collection / C. Remigius, L. Ulrike, F. Chlodwig // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23. – P. 294
41. Воронина Т.А. Ноотропные препараты, достижения и новые проблемы. Экспериментальная и клиническая фармакология /Воронина Т.А., Середенин С.Б. //Вопросы питания.–1998. – №4. –С. 3
42. Владимирова І. М. Фармакопейна стандартизація сировини – цетрарії ісландської слані / ВладимироваІ. М., Георгіянци В. А., Котов А. Г. // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2013. – № 1 (27). – С. 10-13
43. Weidner C. *Melissa officinalis* extract induces apoptosis and inhibits proliferation in colon cancer cells through formation of reactive oxygen species / C. Weidner, C.M. Rousseau, A. Plauth // *Phytomedicine*. –2015. – Vol. 22, Iss. 2. – P. 262-270
44. Miraj S. A review of chemical components and pharmacological effects of *Melissa officinalis* L. / S. Miraj, N. Azizi, S. Kiani // *Der Pharmacia Letter*. – 2016. – Vol. 8, Iss. 6. – P. 229-237
45. Roldán L.P. Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the Lamiaceae family against pathogenic and beneficial bacteria / L.P. Roldán, G.J. Díaz, J.M. Durringer // *Rev Colomb Cienc Pecu*. – 2010. – Vol. 23. – P. 451-461
46. Vitalonea A. Characterization of the Effect of *Epilobium* Extracts on Human Cell Proliferation / Vitalonea A., McCollb J., Thomeb D. // *Karger*. –2003. –Vol. 69, № 2. –P. 79-87
47. Carović-Stanko K. Medicinal Plants of the Family *Lamiaceae* as Functional Foods — a Review / K. Carović-Stanko, M. Petek, M. Grdiša // *Czech J. Food Sci*. – 2016. – Vol. 34, Iss. 5. –P. 377-390

Схема приготування екстракту меліси лікарської *Melissa officinalis*

