

---

Научная статья/Research Article

УДК 543.544:547.913

DOI: 10.36718/1819-4036-2023-1-206-213

**Александр Алексеевич Ефремов<sup>1✉</sup>, Елена Евгеньевна Савельева<sup>2</sup>,  
Надежда Анатольевна Булгакова<sup>3</sup>, Ирина Дементьевна Зыкова<sup>4</sup>,  
Дмитрий Валентинович Волков<sup>5</sup>**

<sup>1,4</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

<sup>1,5</sup>Специальное конструкторско-технологическое бюро «Наука» Красноярского научного центра СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

<sup>2,3</sup>Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

<sup>1,2,3,5</sup>aefremov15@mail.ru

<sup>4</sup>izykova@sfu-kras.ru

### **КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ КОТОВНИКА КОШАЧЬЕГО КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ**

*Цель исследования – получение водных и водно-спиртовых экстрактов котовника кошачьего (мелиссы лимонной), определение в них общего содержания фенольных соединений и флавоноидов, анализ компонентного состава полученных экстрактов методом ВЭЖХ и установление антирадикальной активности экстрактов. Экстрактивные вещества из исходного сырья выделяли методом экстракции водой или водно-спиртовыми смесями (использовали 20, 40, 70 и 95 % спирт) при температуре их кипения в течение 1,0 ч. Навеска сырья – 1,0 г, объем раствора – 100 мл. После фильтрования полученные растворы подвергались дальнейшим исследованиям на компонентный состав и антирадикальную активность. Установлено, что чистый спирт извлекает минимальное количество веществ, сумма которых составляет 15,4 %. Водно-спиртовые смеси извлекают практически одинаковое количество веществ, которые составляют 19,7–21,3 % в расчете на воздушно-сухую навеску сырья. Результаты ДФПГ-теста, определенные кинетическим методом, показали, что величина АРА минимальна для спирторастворимых веществ – 2,7 % и возрастает для водно-спиртовых экстрактов от 16,6 % в случае 70 % экстракта до 25,2 % для 20 % водно-спиртового экстракта. Максимальное значение АРА характерно для водных экстрактов и составляет 38,5 %. Экстрактивные вещества котовника кошачьего обладают низкой антирадикальной активностью, которая не превышает 50 %. В полученных экстрактах определено общее содержание фенольных соединений (по реакции с реактивом Фолина-Чокальтеу), составляющее 0,09–0,69 вес.% в пересчете на галловую кислоту. Эта величина равномерно возрастает при переходе от чистого спирта к воде. По реакции с хлоридом алюминия определено общее содержание флавоноидов в полученных экстрактах: она минимальна в случае спиртового экстракта (0,24 % в пересчете на лютеолин) и максимальна в случае водного экстракта (0,57 % в пересчете на лютеолин). Величина АРА хорошо коррелирует с общим содержанием фенольных соединений (коэффициент корреляции – 0,9522), в то время как коэффициент корреляции величины АРА с общим содержанием флавоноидов составляет всего лишь 0,8809. Методом ВЭЖХ исследован компонентный состав фенольных соединений в полученных экстрактах. Максимальное количество фенольных соединений обнаружено в водных экстрактах, а минимальное – в спиртовых. Среди компонентов идентифицированы фенолкарбоновые кислоты: галловая, кофейная, хлорогеновая, кофейная и феруловая. Присутствует рутин и некоторые гликозиды.*

---

© Ефремов А.А., Савельева Е.Е., Булгакова Н.А., Зыкова И.Д., Волков Д.В., 2023

Вестник КрасГАУ. 2023. № 1. С. 206–213.

Bulliten KrasSAU. 2023;(1):206–213.

**Ключевые слова:** котовник кошачий (мелисса лимонная), водные, спиртовые и водно-спиртовые экстракты, антирадикальная активность, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ)

**Для цитирования:** Компонентный состав и антирадикальная активность экстрактивных веществ котовника кошачьего Красноярского края / А.А. Ефремов [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2023. № 1. С. 206–213. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-1-206-213.

**Alexander Alekseevich Efremov<sup>1✉</sup>, Elena Evgenievna Savelyeva<sup>2</sup>,  
Nadezhda Anatolyevna Bulgakova<sup>3</sup>, Irina Dementievna Zykova<sup>4</sup>, Dmitry Valentinovich Volkov<sup>5</sup>**

<sup>1,4</sup>Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

<sup>1,5</sup>Special Design and Technology Bureau "Nauka" of the Krasnoyarsk Scientific Center of the SB RAS – a separate subdivision of the FRC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

<sup>2,3</sup>Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia

<sup>1</sup>aefremov15@mail.ru

<sup>2</sup>aefremov15@mail.ru

<sup>3</sup>aefremov15@mail.ru

<sup>4</sup>izykova@sfu-kras.ru

<sup>5</sup>aefremov15@mail.ru

### COMPONENT COMPOSITION AND ANTI-RADICAL ACTIVITY OF CATNIP EXTRACTIVE SUBSTANCES OF THE KRASNOYARSK REGION

*The purpose of the study was to obtain aqueous and aqueous-alcoholic extracts of catnip (lemon balm), determine the total content of phenolic compounds and flavonoids in them, analyze the component composition of the obtained extracts by HPLC, and establish the antiradical activity of the extracts. Extractive substances from the feedstock were isolated by extraction with water or water-alcohol mixtures (20, 40, 70 and 95 % alcohol were used) at their boiling point for 1.0 h. The sample of raw materials was 1.0 g, the volume of the solution was 100 ml. After filtration, the resulting solutions were subjected to further studies on the component composition and antiradical activity. It has been established that pure alcohol extracts the minimum amount of substances, the sum of which is 15.4 %. Water-alcohol mixtures extract almost the same amount of substances, which are 19.7–21.3 % based on an air-dry sample of raw materials. The results of the DPPH test, determined by the kinetic method, showed that the ARA value is minimal for alcohol-soluble substances – 2.7 % and increases for water-alcohol extracts from 16.6 % in the case of 70 % extract to 25.2 % for 20 % water-soluble alcohol extract. The maximum value of ARA is typical for aqueous extracts and is 38.5 %. Catnip extracts have low antiradical activity, which does not exceed 50 %. In the extracts obtained, the total content of phenolic compounds was determined (by reaction with the Folin-Ciocalteu reagent), which is 0.09–0.69 wt. % in terms of gallic acid. This value increases evenly when moving from pure alcohol to water. By reaction with aluminum chloride, the total content of flavonoids in the obtained extracts was determined: it is minimal in the case of an alcoholic extract (0.24 % in terms of luteolin) and maximum in the case of an aqueous extract (0.57 % in terms of luteolin). The APA value correlates well with the total content of phenolic compounds (correlation coefficient – 0.9522), while the correlation coefficient of the APA value with the total content of flavonoids is only 0.8809. The HPLC method was used to study the component composition of phenolic compounds in the obtained extracts. The maximum amount of phenolic compounds was found in aqueous extracts, while the minimum amount was found in alcohol extracts. Phenolcarboxylic acids were identified among the components: gallic, caffeoylquinic, chlorogenic, caffeic and ferulic. Rutin and some glycosides are present.*

**Keywords:** catnip (lemon melissa), aqueous, alcoholic and aqueous-alcoholic extracts, antiradical activity, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

**For citation:** Component composition and anti-radical activity of catnip extractive substances of the Krasnoyarsk Region / A.A. Efremov [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2023;(1): 206–213. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-1-206-213.

**Введение.** Мелисса лекарственная – *Melissa officinalis* L. семейство Губоцветные (*Lamiaceae*) используется в народной и научной медицине многих стран мира, широко распространена на Балканах, в Северной Африке, Северной Америке, в Иране, в Средней Азии, в России и других регионах мира [1, 2]. Обширный ареал ее произрастания и широкий спектр практического применения при лечении ряда заболеваний организма человека делает мелиссу официальным растением во многих странах мира [3, 4].

В семействе *Lamiaceae* известны как минимум три вида мелиссы: мелисса лекарственная; мелисса лимонная (котовник кошачий) и мелисса турецкая (змееголовник молдавский) [5]. Наиболее распространенным видом мелиссы в диком виде в Сибирском регионе является мелисса лимонная – котовник кошачий. Распространен котовник практически во всех областях средней полосы России, в Сибири и на Алтае.

Учитывая тот факт, что котовник кошачий по морфологическим признакам похож на мелиссу лекарственную и имеет явно выраженный лимонный запах, можно ожидать, что в нем может содержаться значительное количество экстрактивных веществ, которые придавали бы ему лечебные свойства.

**Цель исследования** – получение водных и водно-спиртовых экстрактов, определение в них общего содержания фенольных соединений и флавоноидов, анализ компонентного состава полученных экстрактов методом ВЭЖХ и установление антирадикальной активности экстрактов.

**Объекты и методы.** Исходное сырье (вся надземная часть растений) собирали в период цветения в июле-августе 2021 г. на дачных участках Емельяновского района Красноярского края. Принадлежность исходного сырья к котовнику кошачьему проводилась по основным морфологическим признакам этого растения. Листья и соцветия измельчали до размеров 1–3 мм, стебли отбрасывали и сушили на воздухе в тени до воздушно сухого состояния.

Экстрактивные вещества из исходного сырья выделяли методом экстракции водой или водно-спиртовыми смесями (использовали 20, 40, 70 и 95 % спирт) при температуре их кипения в течение 1,0 ч. Навеска сырья составляла 1,0 г, объем раствора – 100 мл. После фильтрования полученные растворы подвергались дальней-

шим исследованиям на компонентный состав и антирадикальную активность.

Общее содержание фенольных соединений проводили с использованием реактива Фолина-Чокальтеу, а расчет проводили в пересчете на галловую кислоту с использованием формулы

$$X, \% = (A \cdot 100) / A^{1\%_{1\text{см}}} \cdot l,$$

где  $A$  – оптическая плотность исследуемого раствора в комплексе с реактивом Фолина-Чокальтеу при 750 нм;  $A^{1\%_{1\text{см}}}$  – удельный показатель поглощения галловой кислоты в комплексе с реактивом Фолина-Чокальтеу при 750 нм, равный 47,3 [6];  $l$  – объем экстракта, взятый для анализа, мл.

Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин определяли спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность комплекса флавоноидов с 2 % раствором алюминия хлорида в 95 % этаноле через 60 мин [7].

Величину антирадикальной активности (АРА) определяли с использованием ДФПГ кинетическим методом [6, 8]. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 1 мл исходного экстракта и доводили до метки соответствующим растворителем. При проведении измерений в кювету с исследуемым раствором добавляли 3 мл разбавленного экстракта и 3 мл рабочего раствора ДФПГ, в кювету с раствором сравнения – 3 мл разбавленного экстракта и 3 мл этанола 95 %. Контрольным раствором являлся раствор ДФПГ.

Для расчета процента ингибирования использовали формулу

$$\% \text{ ингибирования} = (A_0 - A_x) \cdot 100 \% / (A_0),$$

где  $A_0$  – оптическая плотность ДФПГ в отсутствии растительного экстракта (контроль);  $A_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора растительного экстракта с ДФПГ.

Ход реакции контролировали по уменьшению величины оптической плотности растворов в видимой области на длине волны 517 нм в течение 30 мин.

Для проведения кинетических измерений использовали 0,008 % ( $C = 1,7 \cdot 10^{-4}$  моль/л) раствор ДФПГ в этаноле 95 % (растворяли на ультразвуковой ванне).

Природу экстрактивных веществ в экстрактах проводили с использованием УФ-спектрометрии и жидкостной хроматографии. Электронные спектры поглощения записывали на спектрометре Shimadzu-1700 в кюветах толщиной 1,0 см при комнатной температуре.

Компонентный состав экстрактов котовника осуществляли на жидкостном хроматографе «Миллихром А-02» с использованием колонки 75×2-мм, подвижная фаза вода + ацетонитрил в градиентном режиме ацетонитрила от 0 до 100 % в течение 30 мин. Идентификацию соединений проводили с использованием внутренних стандартов органических кислот, лютеолина, рутина, кварцетина и других.

**Результаты и их обсуждение.** Количество экстрактивных веществ, извлекаемых из котовника кошачьего водой, 20, 40 и 70 % этанолом, практически одинаково и составляет 19,7–21,3 вес.%. Чистый спирт извлекает заметно меньшее количество веществ – около 15,4 вес.%.

В электронных спектрах поглощения всех экстрактов присутствуют полосы поглощения в области 280–325 нм (рис. 1). Поглощение в данной области спектра однозначно указывает на присутствие в экстрактах котовника фенолкарбоновых кислот, которыми, согласно литературным данным, могут быть галловая, хлорогеновая, цикориевая, кофейная, салициловая и феруловая кислоты [11–13], часто встречающиеся в растениях данного семейства.

Методом ВЭЖХ установлено, что в экстрактах котовника действительно присутствуют следующие кислоты: галловая, хлорогеновая, кофейная и феруловая. Кроме них присутствуют также некоторые полифенолы, идентифицированные с использованием внутренних стандартов (табл. 1). Следует указать, что на хроматограммах присутствуют как минимум 18 отдельных пиков, идентифицировать которые в полном объеме в настоящее время затруднительно ввиду отсутствия стандартных образцов.

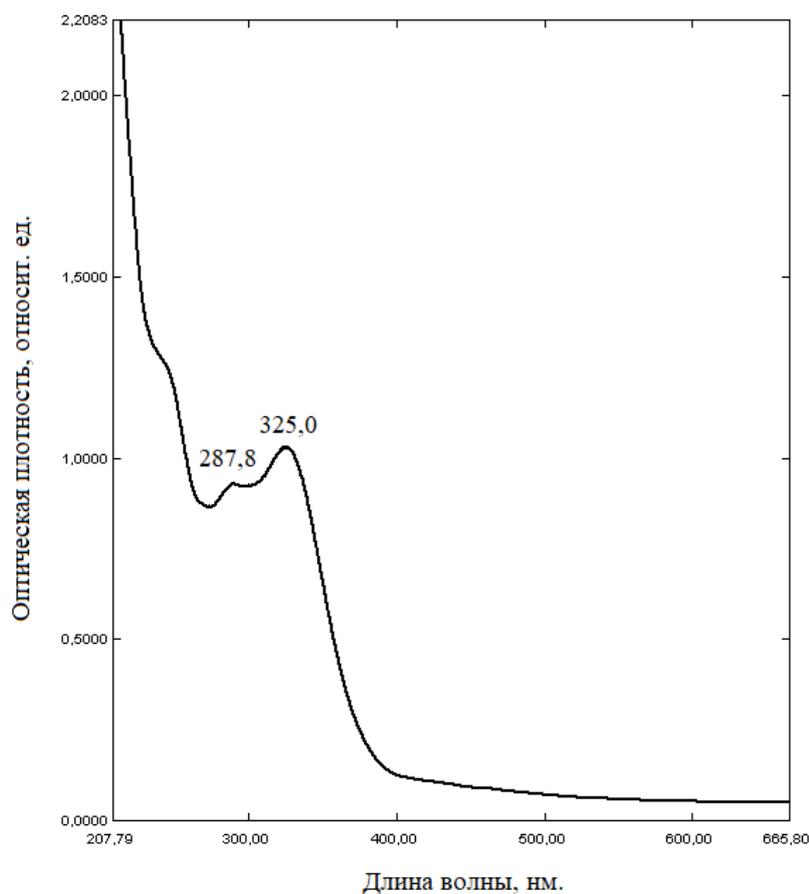


Рис. 1. Электронный спектр экстрактивных веществ котовника, выделенных 40 % этанолом

Состав полифенолов в водном экстракте котовника кошачьего

Время выхода, мин	Вещество	Содержание во фракции, вес. %
7,86	Галловая кислота	0,1
8,82	Кофеилхинная кислота	9,8
10,38	Хлорогеновая кислота	18,5
11,00	Кофейная кислота	12,4
12,73	Лютеолин-7-дигликозид	10,4
13,77	Рутин	0,8
14,02	Апигенин-7-дигликозид	16,1
14,64	Лютеолин-7-гликозид	4,1
15,62	Феруловая кислота	2,4

Очевидно, что идентифицированные соединения обладают противовоспалительной, спазмолитической и жаропонижающей активностью и могут использоваться в качестве лечебно-профилактических средств. Более того, вполне очевидно, что практически все полифенольные соединения обладают антирадикальной активностью, что существенно повышает ценность

экстрактов котовника в борьбе с возникновением онкологических заболеваний [9–11]. В этой связи была изучена антирадикальная активность полученных экстрактов котовника в модельной реакции с ДФПГ. На рисунке 2 приведены данные по изменению антирадикальной активности экстрактов от времени.

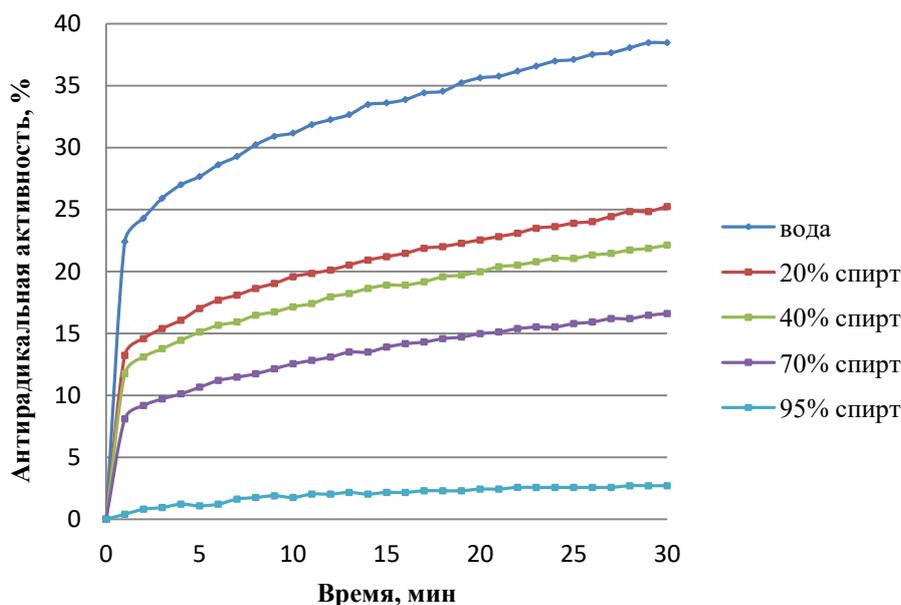


Рис. 2. Зависимость антирадикальной активности полученных экстрактов котовника от продолжительности

Следует отметить, что величина АРА закономерно снижается с возрастанием процентного содержания спирта в экстракте, причем эти изменения достаточно существенны (см. табл. 2).

Учитывая тот факт, что в полученных экстрактах возможно определять отдельно общее содержание фенольных соединений (с реактивом

Фолина-Чокальтеу) и отдельно общее содержание флавоноидов (по реакции с хлоридом алюминия), представляло интерес сопоставить величину АРА с содержанием фенольных соединений и флавоноидов. Используя данные, приведенные в таблице 2, получили графические зависимости, представленные на рисунках 3 и 4.

**Содержание фенольных соединений, флавоноидов и величина антирадикальной активности экстрактов котовника кошачего**

Экстрагент	Содержание фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту, вес. %	Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин, вес. %	Антирадикальная активность, % через 30 мин реакции
Вода	0,686±0,002	0,568±0,098	38,5
Этанол 20 %	0,626±0,013	0,382±0,059	25,2
Этанол 40 %	0,454±0,006	0,407±0,029	22,1
Этанол 70 %	0,433±0,019	0,464±0,005	16,6
Этанол 95 %	0,094±0,006	0,241±0,007	2,7

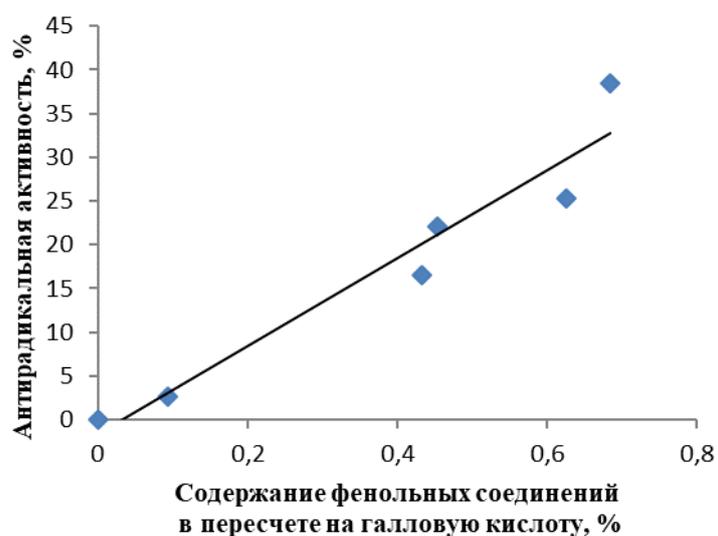


Рис. 3. Зависимость величины АРА полученных экстрактов котовника от содержания фенольных соединений

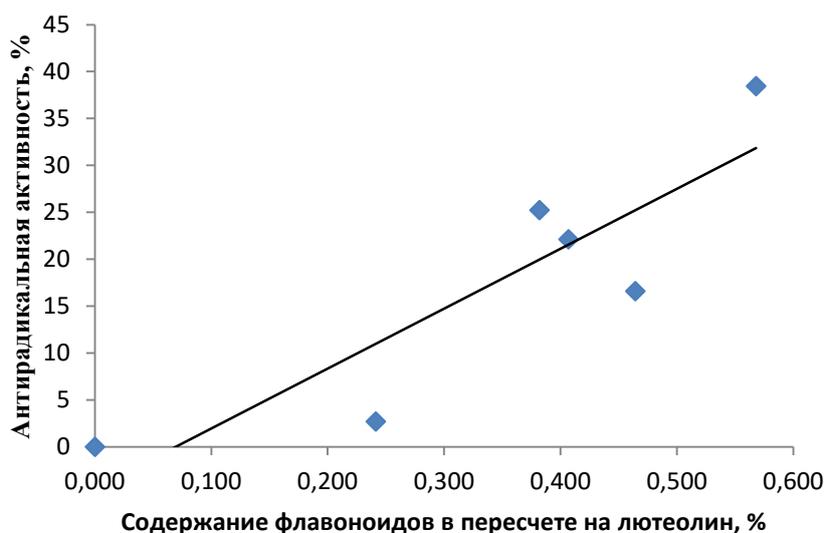


Рис. 4. Зависимость величины АРА полученных экстрактов котовника от содержания флавоноидов

Как видно из представленных данных, наилучшая корреляция между величиной АРА и содержанием отдельных групп соединений наблюдается в случае фенольных соединений: коэффициент корреляции составляет 0,9522, в то время как для флавоноидов он равен всего лишь 0,8809.

Таким образом, можно предположить, что за величину АРА в большей степени ответственны именно полифенольные соединения. Хотя не исключена возможность и того, что определенный вклад в величину АРА вносят и флавоноиды.

Следовательно, котовник кошачий (мелисса лимонная), произрастающая в диком виде в Сибири, может быть использована как лечебно-профилактическое сырье для приготовления чаев, настоек и отваров, так как содержит значительное количество полифенолов, которые обладают полезными свойствами.

### Заключение

1. Определено количество экстрактивных веществ, извлекаемых из надземной части котовника кошачьего водой и водно-спиртовыми растворами. Показано, что эта величина составляет 19,7–21,3 % от веса воздушно-сухого сырья.

2. Методом ВЭЖХ идентифицированы в экстрактах фенолкарбоновые кислоты и некоторые гликозиды.

3. Установлено, что величина антирадикальной активности полученных экстрактов не превышает 38,5 %.

4. Показано, что величина АРА хорошо коррелирует с общим содержанием фенольных соединений в полученных экстрактах.

### Список источников

1. Зузук Б.М., Куцук Р.В. Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.) (аналитический обзор). URL: <http://provisor.co.ua/2002/1>.
2. Зузук Б.М., Куцук Р.В. Мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.) (аналитический обзор). URL: <http://provisor.co.ua/2002/2>.
3. Государственный реестр лекарственных средств. Т. 1. М., 2008. 1398 с.
4. Государственный реестр лекарственных средств. Т. 2. М., 2008. 1208 с.

5. Мелисса лекарственная: перспективы использования в педиатрии / В.А. Куркин [и др.]. Самара: Офорт, 2010. 164 с.
6. Mondal S., Hossain I., Islam Md.N. Determination of antioxidant potential of Cucurbita pepo Linn. (An edible herbs of Bangladesh) // J. of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2017. V. 6, № 5. P. 1016–1019.
7. Ломбоева С.С., Танхаева Л.М., Оленников Д.Н. Методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в надземной части ортилии однобокой (*Orthilia secunda* (L.) House) // Химия растительного сырья. 2008. № 2. С. 65–68.
8. Тринеева О.В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 4. С. 180–197.
9. Биологически активные вещества *Nepeta Cataria* L. / А.Е. Палий [и др.] // Бюллетень ГНБС. 2016. Вып. 118. С. 38–44.
10. Хачирова Ф.С., Челомбитько В.А., Зилфукиров И.Н. Технология и стандартизация сухого экстракта котовника крупноцветного // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2007. № 3. С. 83–85.
11. Chemical composition and biological activity of *Nepeta cilicica*. Bangladesh / G. Iscan [et al.] // J. Pharmacol. 2017. V. 12. P. 204–209.

### References

1. Zuzuk B.M., Kucuk R.V. Melissa lekarstvennaya (*Melissa officinalis* L.) (analiticheskij obzor). URL: <http://provisor.co.ua/2002/1>.
2. Zuzuk B.M., Kucuk R.V. Melissa lekarstvennaya (*Melissa officinalis* L.) (analiticheskij obzor). URL: <http://provisor.co.ua/2002/2>.
3. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv. T. 1. M., 2008. 1398 s.
4. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv. T. 2. M., 2008. 1208 s.
5. Melissa lekarstvennaya: perspektivy ispol'zovaniya v pediatrii / V.A. Kurkin [i dr.]. Samara: Ofort, 2010. 164 s.
6. Mondal S., Hossain I., Islam Md.N. Determination of antioxidant potential of Cucurbita pepo Linn. (An edible herbs of Bangladesh) // J. of

- Pharmacognosy and Phytochemistry. 2017. V. 6, № 5. P. 1016–1019.
7. *Lomboeva S.S., Tanhaeva L.M., Olennikov D.N.* Metodika kolichestvennogo opredeleniya sumarnogo sodержaniya flavonoidov v nadzemnoj chasti ortilii odnobokoj (*Orthilia secunda* (L.) House) // *Himiya rastitel'nogo syr'ya*. 2008. № 2. S. 65–68.
  8. *Trineeva O.V.* Metody opredeleniya antioksidantnoj aktivnosti ob`ektov rastitel'nogo i sinteticheskogo proishozhdeniya v farmacii (obzor) // *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv*. 2017. № 4. S. 180–197.
  9. *Biologicheski aktivnye veschestva Nepeta Cataria L.* / *A.E. Palij* [i dr.] // *Byulleten' GNBS*. 2016. Vyp. 118. S. 38–44.
  10. *Hachirova F.S., Chelombit'ko V.A., Zilfikirov I.N.* Tehnologiya i standartizaciya suhogo `ekstrakta kotovnika krupnocvetnogo // *Izvestiya vuzov. Severo-Kavkazskij region. Estestvennye nauki*. 2007. № 3. S. 83–85.
  11. Chemical composition and biological activity of *Nepeta cilicica*. Bangladesh / *G. Iscan* [et al.] // *J. Pharmacol*. 2017. V. 12. P. 204–209.

Статья принята к публикации 10.10.2022 / The article accepted for publication 10.10.2022.

Информация об авторах:

**Александр Алексеевич Ефремов**<sup>1</sup>, профессор кафедры химии; заведующий отделом комплексной переработки растительного сырья; доктор химических наук, профессор  
**Елена Евгеньевна Савельева**<sup>2</sup>, заведующая кафедрой фармацевтической технологии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук  
**Надежда Анатольевна Булгакова**<sup>3</sup>, доцент кафедры фармацевтической технологии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук  
**Ирина Дементьевна Зыкова**<sup>4</sup>, доцент кафедры химии, кандидат технических наук, доцент  
**Дмитрий Валентинович Волков**<sup>5</sup>, директор Специального конструкторско-технологического бюро «Наука», кандидат физико-математических наук

Information about the authors:

**Alexander Alekseevich Efremov**<sup>1</sup>, Professor at the Department of Chemistry; Head of the Department of Complex Processing of Vegetable Raw Materials; Doctor of Chemical Sciences, Professor  
**Elena Evgenievna Savelyeva**<sup>2</sup>, Head of the Department of Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy, Candidate of Pharmaceutical Sciences  
**Nadezhda Anatolyevna Bulgakova**<sup>3</sup>, Associate Professor at the Department of Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy, Candidate of Pharmaceutical Sciences  
**Irina Dementievna Zykova**<sup>4</sup>, Associate Professor at the Department of Chemistry, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor  
**Dmitry Valentinovich Volkov**<sup>5</sup>, Director of the Special Design and Technology Bureau "Nauka", Candidate of Physical and Mathematical Sciences

