

**РОЗМАРИНОВАЯ КИСЛОТА И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ
PRUNELLA GRANDIFLORA И *PRUNELLA VULGARIS* (LAMIACEAE)**

Л.И. Алексеева¹, Е.В. Болотник²

¹Институт биологии Коми научного центра УрО РАН,
167610, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, e-mail: alexeeva@ib.komisc.ru
²Ботанический сад УрО РАН, 620144, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а

Показано наличие розмариновой кислоты и антиоксидантной активности в растениях *Prunella grandiflora* L. (черноголовка крупноцветковая) и *Prunella vulgaris* L. (черноголовка обыкновенная). Содержание розмариновой кислоты в *Prunella grandiflora* составляет 53.00–41.77 мг/г. Антиоксидантная активность *Prunella grandiflora*, определенная с использованием 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразина (ДФПГ), составляет 0.025–0.035 г/л.

Ключевые слова: *Prunella grandiflora* L., *Prunella vulgaris* L., розмариновая кислота, антиоксидантная активность.

**ROSMARINIC ACID AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *PRUNELLA*
GRANDIFLORA AND *PRUNELLA VULGARIS* (LAMIACEAE)**

L.I. Alekseeva¹, E.V. Bolotnik²

¹Institute of Biology, Komi Scientific Center, Ural Branch, RAS,
167610, Syktyvkar, Kommunisticheskaya str., 28, e-mail: alexeeva@ib.komisc.ru
²Botanical Garden, Ural Branch, RAS, 620144, Ekaterinburg, 8 March str., 202a

Shown the presence of rosmarinic acid and antioxidant activity in plants *Prunella grandiflora* L. and *Prunella vulgaris* L. The content of rosmarinic acid in *Prunella grandiflora* is 53.00–41.77 mg/g. Antioxidant activity of *Prunella grandiflora*, some using 2,2'-diphenyl-1-pikrilgidrazinala (DPPH) is 0.025–0.035 g/l.

Key words: *Prunella grandiflora* L., *Prunella vulgaris* L., rosmarinic acid, antioxidant activity.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что розмариновая кислота является типичным соединением в видах семейства *Lamiaceae* (губоцветные) (Petersen, Simmonds, 2003). В растениях *Rosmarinus officinalis* L. (розмарин обыкновенный), *Ocimum basilicum* L. (базилик душистый), *Origanum vulgare* L. (душица обыкновенная), в растениях рода *Salvia* (шалфей) (Shan et al., 2005), *Lavandula angustifolia* Mill. (лаванда узколистная) (Wang et al., 2004), *Melissa officinalis* L. (мелисса обыкновенная) (Kim et al., 2010) обнаружена розмариновая кислота. Она обладает высокой противовоспалительной (Al-Sereiti et al., 1999), антимуtagenной (Santamaria et al., 1987), противоопухолевой, антипролиферативной (Makino et al., 2000) и антициклооксигеназной (Patrick, Kalidas, 2004), антиаллергенной (Ito et al., 1998), антидепрессантной (Takeda et al., 2002), антивирусной активностью, в том числе против вируса иммунодефицита человека (Mazumder et al., 1997), является одним из эффективных натуральных антиоксидантов (Malencic et al., 2000) и может защищать от свободнорадикальных патологий, таких как атеросклероз, ишемическая бо-

лезнь сердца, онкологические заболевания, лучевая болезнь (Lu, Foo, 2002). Однако все известные растения, содержащие розмариновую кислоту, произрастают за рубежом и в южных зонах европейской части России. Актуальным является поиск растений с высоким содержанием розмариновой кислоты, произрастающих в России.

Известно, что *Prunella vulgaris* – вид с высоким содержанием розмариновой кислоты (Huang et al., 2009). Среди растений семейства *Lamiaceae* род *Prunella* широко используется в народной медицине. *Prunella vulgaris* L. (черноголовка обыкновенная) – многолетнее травянистое растение, произрастающее в Европе, Азии (включая Индию, Китай, Монголию, Иран, Японию), Северной Америке, Северной Африке, Австралии (Флора СССР, 1954), широко применяется в народной и традиционной медицине, обладает противовоспалительными, антигистаминными (Fang et al., 2005), противовирусными (Škottová et al., 2004), противогрибковыми (Георгиевский, 1990) и антиоксидантными свойствами (Shin

et al., 2001). *Prunella grandiflora* L. (черноголовка крупноцветковая) – многолетнее растение, произрастающее в Европе, Азии и Северной Африке (Сорные растения..., 1935).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Отбор проб растительного сырья проводили в 2011 г. во время цветения в природных популяциях Свердловской области и культивируемых в Ботаническом саду Уральского отделения Российской академии наук. Гербарные образцы *P. grandiflora* и *P. vulgaris* хранятся в гербарии Ботанического сада УрО РАН (SVER) в г. Екатеринбурге. Надземную часть растений высушивали при комнатной температуре и измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Образцы надземной части растений в трех повторностях (0.1 г) экстрагировали 10 мл 96%-го метанола в круглодонном колбе при нагревании с обратным холодильником на водяной бане 1 час. После охлаждения экстракт фильтровали.

Содержание фенольных соединений в экстрактах растений определяли с помощью реактива Фолина-Чокальтеу (Tsaο et al., 2005). Оптическую плотность всех образцов измеряли при длине волны 765 нм на фотоэлектрическом фотометре КФК-3. Результаты выражали как эквивалент грамма галловой кислоты на 100 г сухой массы. Содержание флавоноидов в экстрактах растений определяли спектрофотометрическим методом по реакции комплексообразования с хлоридом алюминия (Chang et al., 2002). Оптическую плотность растворов измеряли на фотоэлектрическом фотометре КФК-3 при длине волны 415 нм. Результаты выражали как эквивалент грамма кверцетина на 100 г сухой массы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По литературным данным содержание фенольных соединений у представителей других родов семейства составляет: в *Origanum vulgare* L. – от 206.25 мг/г (Kulisic et al., 2006) до 101.7 мг/г (Shan et al., 2005), *Salvia officinalis* L. – 53.2 мг/г, *Rosmarinus officinalis* L. – 50.7 мг/г, *Ocimum basilicum* L. – 36.4 мг/г (Shan et al., 2005), *Lavandula angustifolia* Mill. – 6.52 мг/г (Yoo et al., 2008), *L. angustifolia* – 5.4 мг/г (Miliauskas et al., 2004), *Melissa officinalis* L. – 1.26 мг/г (Zheng, Wang, 2001). Количество аналогичных веществ в растениях содержится: в *Origanum vulgare* – 150.0 мг/г (Kulisic et al., 2006), род *Salvia* – от 91 до 253 мг/г (Asadi et al., 2010), *Melissa officinalis* L. – 43.1 мг/г (Kolesnikov, Gins, 2001), *Rosmarinus officinalis* [*Rosemarynus*] L. – 4.48 мг/г (Yoo et al., 2008), *Lavandula angustifolia* Mill. – 3.90 мг/г (Yoo et al., 2008), *L. angustifolia* – 0.3 мг/г (Miliauskas et al., 2004), *Ocimum basilicum* L. – 0.21 мг/г (Shan et al., 2005). В растениях *P. vulgaris* и *P. grandiflora* показаны средние значения содержаний фенольных соединений и

Цель исследования – изучить содержания розмариновой кислоты и антиоксидантную активность в растениях рода *Prunella grandiflora* и *P. vulgaris*, произрастающих на территории Свердловской области.

Розмариновую кислоту в экстрактах растений определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на оборудовании производства “Knauer”: насос Smartline 1000, детектор UV-VIS Smartline 2500, $\lambda = 336$ нм с использованием колонки Microsorb TM-100 A C18, 7 мкм (250 × 4 мм), элюента вода–ацетонитрил–фосфорная кислота (80:20:0.05, по объему) при скорости элюирования 0.7 мл/мин, сравнивая времена удерживания со стандартным образцом розмариновой кислоты. УФ-спектр розмариновой кислоты регистрировали на оборудовании “Smartline”.

Величину антиоксидантной активности определяли колориметрическим методом, используя 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ) (Sigma-Aldrich) (Kulisic et al., 2006). Ингибирование свободных радикалов ДФПГ в процентах (I %) рассчитывали следующим образом:

$$I \% = (A_{\text{контроля}} - A_{\text{образца}}) / A_{\text{контроля}} \cdot 100,$$

где $A_{\text{контроля}}$ – поглощение контроля реакции; $A_{\text{образца}}$ – поглощение исследуемого раствора.

Концентрация экстракта, при которой происходит 50 % ингибирования (IC_{50} , г/л), рассчитывается по графику зависимости процента ингибирования от концентрации экстракта. Чем меньше значение, тем выше антиоксидантная активность.

Все измерения проводили в трехкратной повторности.

флавоноидов (см. таблицу). Таким образом, *P. vulgaris* и *P. grandiflora* наряду с другими растениями семейства *Lamiaceae* являются источниками фенольных соединений и флавоноидов.

Во всех образцах растений *P. grandiflora* и *P. vulgaris* имеется соединение, время удерживания которого в указанной системе растворителей составляет 24.5 мин и совпадает с временем удерживания розмариновой кислоты (рис. 1). УФ-спектр (рис. 2) соответствует спектру розмариновой кислоты, которая является доминирующим компонентом среди фенолкарбоновых кислот *P. grandiflora* (70–89 %) и *P. vulgaris* (82–87 %). Содержание розмариновой кислоты в *P. grandiflora* (41.77–52.39 мг/г) выше, чем в *P. vulgaris* (17.88–31.17 мг/г). В результате интродукции *P. grandiflora* и *P. vulgaris* содержание розмариновой кислоты не снижается.

Растения семейства *Lamiaceae* содержат различные концентрации розмариновой кислоты: *Ocimum*

Химический состав и антиоксидантная активность *Prunella grandiflora* и *P. vulgaris*

Вид	Место произрастания	Фенольные соединения, мг/г	Флавоноиды, мг/г	РК*, мг/г	IC ₅₀ , г/л
<i>P. grandiflora</i>	Красноуфимский район, с. Свердловское	61.90 ± 3.09	28.21 ± 1.44	41.77 ± 0.49	0.031 ± 0.002
	Там же, гора Мокрая	80.00 ± 4.28	28.47 ± 1.22	46.49 ± 0.99	0.025 ± 0.001
	Там же, Александровские Сопки	71.52 ± 4.35	25.45 ± 1.36	52.39 ± 1.02	0.035 ± 0.002
	Интродукционный участок (материал из Красноуфимского района, Александровские Сопки)	76.20 ± 4.81	35.06 ± 1.86	53.00 ± 0.09	0.034 ± 0.002
<i>P. vulgaris</i>	Красноуфимский район, с. Нижний Иргинск	56.96 ± 2.87	17.09 ± 0.88	31.17 ± 1.13	0.044 ± 0.002
	Интродуцированный участок (материал из Красноуфимского района, с. Нижний Иргинск)	71.27 ± 4.21	31.01 ± 1.89	35.92 ± 0.38	0.044 ± 0.002
	Там же (материал из Красноуфимского района, р. Иргина)	34.56 ± 1.79	16.81 ± 0.98	17.88 ± 1.93	0.074 ± 0.004
	Там же	75.19 ± 4.22	31.17 ± 1.99	48.18 ± 0.62	0.031 ± 0.002
	Там же (материал из Красноуфимского района, Александровские Сопки)	77.22 ± 4.28	29.40 ± 1.56	49.68 ± 0.77	0.035 ± 0.002

* РК – розмариновая кислота.

basilicum – 10.86 мг/г (Shan et al., 2005), *Origanum vulgare* – от 3.89 мг/г (Kulisic et al., 2006) до 25.63 мг/г (Shan et al., 2005), *Rosmarinus officinalis* – 10.0 мг/г (Wang et al., 2004), *Salvia officinalis* – 21.86 мг/г (Shan et al., 2005), *S. verbenaca* L. – 29.30 мг/г, *S. virgata* Jacq. – 7.42 мг/г, *S. staminea* L. – 5.29 мг/г (Тере, 2008), *Lavandula angustifolia* – 2.0 мг/г (Wang et al., 2004), *Prunella vulgaris* – от 16.8 до 44.4 мг/г (Huang et al., 2009). Содержание розмариновой кислоты выше, чем в изученных нами видах *P. grandiflora* и *P. vulgaris*, обнаружено только в *Melissa officinalis* – 50.7 мг/г (Kim et al., 2010). Однако это растение требовательно к свету и теплу, имеет низкую зимостойкость, большинство особей в интродукции выпадает через 2–3 года (Васфилова, 2011). Напротив, *P. grandiflora* и *P. vulgaris* легко инт-

родуцируются вегетативно и семенами, имеют высокую всхожесть семян – 95 %. Таким образом, на территории России *P. grandiflora* и *P. vulgaris* являются наиболее перспективными источниками розмариновой кислоты.

Антиоксидантная активность в образцах *P. grandiflora* (см. таблицу) выше, чем в изученных нами образцах *P. vulgaris*. Это связано с более высоким содержанием фенольных соединений, флавоноидов и розмариновой кислоты в *P. grandiflora* по сравнению с *P. vulgaris*. Очень высокая антиоксидантная активность в растениях семейства *Lamiaceae* ранее была обнаружена в *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* – 0.014 г/л (Vundač et al., 2007), в растениях рода *Salvia* – от 0.012 до 0.024 г/л (Kelen, Тере, 2008), *Rosmarinus officinalis* – 0.036 г/л (Mata et al., 2007), *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* – 0.092 г/л (Kulisic et al., 2006), *Origanum vulgare* – 0.16 г/л (Barros et al., 2010), *Lavandula angustifolia* – 0.078 г/л (Yoo et al., 2008), *Ocimum basilicum* – 0.15 г/л (Matsuura et al., 2003). Виды *P. vulgaris* и *P. grandiflora* наряду с другими растениями семейства *Lamiaceae* имеют высокую антиоксидантную активность. Коэффициент детерминации между содержанием розмариновой кислоты и антиоксидантной активностью в растениях рода *Prunella* составила

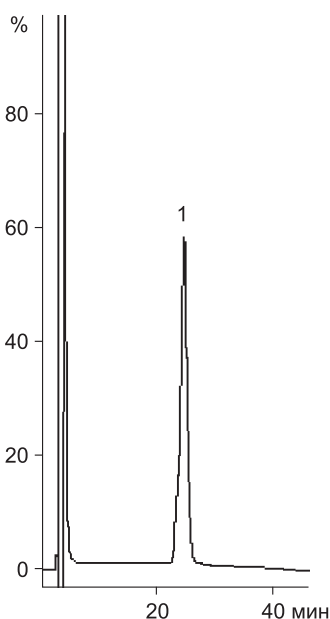


Рис. 1. Обращенно-фазовая ВЭЖХ метанольного экстракта *Prunella grandiflora* L.

Пик 1 – розмариновая кислота.

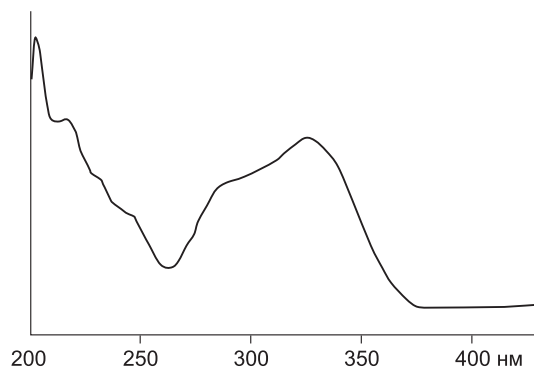


Рис. 2. УФ-спектр розмариновой кислоты.

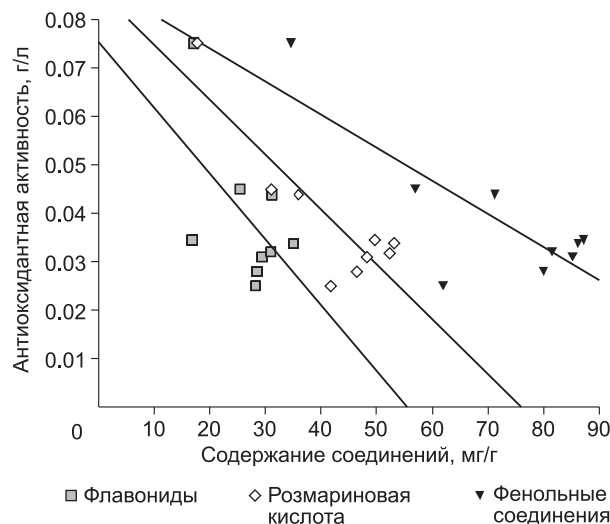


Рис. 3. Корреляция антиоксидантной активности и содержания фенольных соединений, флавоноидов и розмариновой кислоты в растениях рода *Prunella*.

$R^2 = 0.76$ (рис. 3). Это указывает на то, что 76 % антиоксидантной активности соответствует вкладу розмариновой кислоты. Антиоксидантная активность экстрактов растений может также приходиться на другие фенольные соединения и флавоноиды. Коэффициент

детерминации между содержанием фенольных соединений и антиоксидантной активностью в растениях рода *Prunella* составил $R^2 = 0.64$, а коэффициент детерминации между содержанием флавоноидов и антиоксидантной активностью равен 0.31.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в растениях *P. grandiflora* и *P. vulgaris* показано высокое содержание розмариновой кислоты, флавоноидов и фенольных соединений, сравнимое или превышающее в растениях средиземноморских видов семейства *Lamiaceae*.

В результате интродукции *P. grandiflora* и *P. vulgaris* содержание биологически активных соединений не снижается. *P. grandiflora* и *P. vulgaris* являются перспективными источниками розмариновой кислоты.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках научных программ интеграционных и фундаментальных исследований “Анализ морфологической и биохимической изменчивости новых видов лекарствен-

ных растений в связи с проблемой изучения их адаптивного потенциала”, № 12-И-4-2023, “Адаптационные механизмы в природных и интродукционных популяциях растений Сибири и Урала”, проект № 12-С-4-1028.

ЛИТЕРАТУРА

- Васфилова Е.С.** Лекарственные и пряно-ароматические растения в условиях интродукции на Среднем Урале. Екатеринбург, 2011. 245 с.
- Георгиевский В.П.** Биологически активные вещества растений. Новосибирск, 1990. 110 с.
- Сорные растения СССР** / Под ред. Д.А. Келлера. М.; Л., 1935. Т. 4. 414 с.
- Флора СССР** / Под ред. В.Л. Комарова. М.; Л., 1954. Т. 20. С. 494–498.
- Al-Sereiti M.R., Abu-Amer K.M., Sen P.** Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials // *Indian J. Exper. Biol.* 1999. No. 37. P. 124–130.
- Asadi S., Ahmadiani A., Esmacili M.A., Sonboli A., Ansari N., Khodaghali F.** In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study // *Food Chem. Toxicol.* 2010. V. 48, No. 5. P. 1341–1349.
- Barros L., Heleno S.A., Carvalho A.M., Ferreira I.C.F.R.** Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: vitamins and phenolics // *LWT – Food Sci. Technol.* 2010. V. 43. P. 544–550.
- Chang C., Yang M., Wen H., Chern J.** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods // *J. Food Drug Anal.* 2002. No. 10. P. 178–182.
- Fang X., Chang R.C., Yuen W.H., Zee S.Y.** Immune modulatory effects of *Prunella vulgaris* L. // *Int. J. Mol. Med.* 2005. V. 15, No. 3. P. 491–496.
- Huang G.N., Hauck C., Yum M., Rizshsky L., Widrlechner M.P., McCOY J.-A., Murphy P.A., Dixon P.M., Nikolau B.J., Birt D.F.** Rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* ethanol extract inhibits lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 and nitric oxide in RAW 264.7 mouse macrophages // *J. Agric. Food Chem.* 2009. V. 57. P. 10579–10589.

- Ito H., Miyazaki T., Ono M., Sakurai H.** Antiallergic activities of rosmarinic acid and its related compounds: chemical and biochemical evaluations // *Bioorgan. Med. Chem.* 1998. V. 6, No. 7. P. 1051–1056.
- Kelen M., Tepe B.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora // *Bioresource Technol.* 2008. V. 99. P. 4096–4104.
- Kim S., Yun E.J., Bak J.S., Lee H., Lee S.J., Kim C.T., Lee J.-H., Kim K.H.** Response surface optimised extraction and chromatographic purification of rosmarinic acid from *Melissa officinalis* leaves // *Food Chem.* 2010. V. 121, No. 2. P. 521–526.
- Kolesnikov M.P., Gins V.K.** Phenolic substances in medicinal plants // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2001. V. 37, No. 4. P. 392–399.
- Kulisic T., Dragovic-Uzelac V., Milos M.** Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from *Oregano*, *Thyme* and *Wild Thyme* // *Food Technol. Biotechnol.* 2006. V. 44, No. 4. P. 485–492.
- Lu Y., Foo L.Y.** Polyphenolics of *Salvia* – a review // *Phytochemistry.* 2002. V. 75. P. 197–202.
- Makino T., Ono T., Muso E., Yoshida H., Honda G., Sawayama S.** Inhibitory effects of rosmarinic acid on the proliferation of cultured murine mesangial cells // *Nephrol Dial Transplant.* 2000. No. 15. P. 1140–1145.
- Malencic D.J., Gasic O., Popovic M., Boza P.** Screening for antioxidant properties of *Salvia reflexa* Hornem // *Phytother. Res.* 2000. V. 14. P. 546–548.
- Mata A.T., Proença C., Ferreira A.R., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Araujo M.E.M.** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as *Portuguese* food spices // *Food Chem.* 2007. V. 103, No. 3. P. 778–786.
- Matsuura H., Chiji H., Asakawa C., Amano M.** DPPH radical scavengers from dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*) // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2003. V. 67, No. 11. P. 2311–2316.
- Mazumder A., Neamati N., Sunder S., Schulz J., Pertz H., Eich E., Pommier V.** Curcumin analogues with altered potencies against hiv-1 integrase as probes for biochemical mechanisms of drug action // *J. Med. Chem.* 1997. V. 40. P. 3057–3063.
- Miliauskas G., Venskutonis P.R., van Beek T.A.** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts // *Food Chem.* 2004. V. 85, No. 2. P. 231–237.
- Patrick P., Kalidas S.** Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase *in vitro* // *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* 2004. V. 13, No. 1. P. 101–106.
- Petersen M., Simmonds M.S.J.** Rosmarinic acid // *Phytochemistry.* 2003. V. 62. P. 121–125.
- Santamaria L., Tateo F., Bianchi A., Bianchi L.** Rosmarinus officinalis extract inhibits as antioxidant mutagenesis by 8-methoxypsoralen (8-MOP) and benzo[a]pyrene (BP) in *Salmonella typhimurium* // *Med. Biol. Environ.* 1987. No. 15. P. 97–101.
- Shan B., Cai Y.Z., Sun M., Corke H.** Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents // *J. Agric. Food Chem.* 2005. V. 53, No. 20. P. 7749–7759.
- Shin T.Y., Kim Y.K., Kim H.M.** Inhibition of immediate type allergic reaction by *Prunella vulgaris* in a murine model // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2001. V. 23, No. 3. P. 423–435.
- Škottová N., Kazdová L., Oliarynyk O., Večeřa R., Sobolová L., Ulrichová J.** Phenolics-rich extracts from *Silybum marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats // *Pharmacol. Res.* 2004. V. 50, No. 2. P. 123–130.
- Takeda H., Tsuji M., Matsumiya T., Kubo M.** Identification of rosmarinic acid as a novel antidepressive substance in the leaves of *Perilla frutescens* Britton var. *acuta* Kudo (Perillae Herba) // *Jpn. J. Neuropsychopharmacol.* 2002. No. 22. P. 15–22.
- Tepe B.** Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret and Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* L. from Turkey // *Bioresource Technol.* 2008. V. 99. P. 1584–1588.
- Tsao R., Yang R., Xie S., Sockovie E., Khanizadeh S.** Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple // *J. Agric. Food Chem.* 2005. V. 53, No. 12. P. 4989–4995.
- Vundač V.B., Brantner A.H., Plazibat M.** Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa // *Food Chem.* 2007. V. 104, No. 3. P. 1277–1281.
- Wang H., Provan G.J., Helliwell K.** Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC // *Food Chem.* 2004. V. 87, No. 2. P. 307–311.
- Yoo K.M., Lee C.H., Lee H., Moon B.K., Lee C.Y.** Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs // *Food Chem.* 2008. V. 106, No. 3. P. 929–936.
- Zheng W., Wang S.Y.** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs // *J. Agric. Food Chem.* 2001. V. 49, No. 11. P. 5165–5170.