

АНТИОКСИДАНТНИ ПОТЕНЦИЈАЛ БИЉКЕ МАТОЧИНА (*Mellitis Melisophyllum*)

Јанићијевић Худомал С.¹, Кенић Ј.², Арсић-Комљеновић Г.³

¹Институт за фармакологију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

²Представништво-Richter Geder Београд.

³ВМШ "Милутин Миланковић" Београд

ANTIOXIDATIVE POTENCY OF PLANT MELLITIS MELISOPHYLLUM

Јанићијевић Худомал С.¹, Кенић Ј.², Арсић-Комљеновић Г.³

¹Institute of pharmacology, Medical faculty, Pristina, Kosovska Mitrovica

²co Richter Geder Belgrade

³VMŠ "Milutin Milanković" Beograd

SUMMARY

One of the paradoxes of life on the Earth is that, on one side, oxygen is necessary for living of aerobic organisms. On the other side, increased concentrations of oxygen and especially its reactive metabolites (reactive oxygen species) may lead to the development of number diseases such as Alzheimer, Parkinson, ischemia-reperfusion injury, coronary atherosclerosis, diabetes mellitus, hypertension, and cancer genesis, as well as in the aging process (1, 2,3). A major source of free radicals in biological systems is molecular oxygen (O₂). By interacting with fundamental cell structures and biomolecules, reactive oxygen species (ROS) can lead to the development of many pathophysiological disorders (4,5). Active principles from plant family Lamiaceae (flavonoids and phenolic compounds, polyphenols), like plant *Mellitis melisophyllum*, may act as new potential antioxidants.

Keywords: Lamiaceae, *Melittis melisophyllum*, Antioxidant plant, Flavonoids

САЖЕТАК

Један од парадокса живота на нашој планети је да молекула кисеоника који одржава у животу аеробне организме, није само основа енергетског метаболизма и процеса респирације, већ је одговоран и за настанак многих обољења и дегенеративних стања. Делимично редуковани облици кисеоника имају улогу у настанку великог броја различитих поремећаја код човека, као што су: старење, артритис, канцер, неуродегенеративне болести (Alzheimer, Parkinson) и друге (1, 2). Слободни радикали кисеоника у условима њихове хиперпродукције или неадекватне елиминације врше оксидацију незасићених масних киселина (3), нуклеинских киселина (4), липопротеина (5) и других биомолекула, мењајући флуидност мембране. Активни биљни састојци (флавоноиди, фенолне компоненте, полифеноли) у биљци маточина, из породице Lamiaceae могу бити потенцијални снажни антиоксиданси.

Кључне речи: Lamiaceae, *Melittis melisophyllum*, Антиоксидантна биљка, Флавоноиди

УВОД

До данашњих дана сачувани историјски и културни споменици сведоче да су се лековите биљке користиле у давној прошлости. Историја лековитих супстанци добијених од биљака стара је колико и људски род. Истраживање лековитих биљака (секундарних биомолекула из биљака) веома је интензивно у последњих неколико година (објави се око 15000 референци у току једне године). Према подацима WHO, само 1999. године објављено је 58 монографија, а експерти ове организације истичу податак да је проучено свега стотинак биљака од око 5000 за које се претпоставља да имају лековито дејство (6).

Екстракти, тинктуре, чајеви, као и изоловани биомолекули су одавно ушли у хемотерапију као помоћна лековита средства. Без обзира на тако велики број

истраживања то је само врх леденог брега које представљају биљке и свако истраживање даље доприноси њиховом проучавању.

Антиоксидантна заштита

У току еволуције, као адаптивни одговор на токсично деловање кисеоника, код аеробних организама је дошло до стварања комплексних механизма заштите од оксидативних оштећења. Основна улога ових механизма је да смање количину и неконтролисано стварање реактивних кисеоничних честица (ROS) и њихових прекурсора у ћелији. Механизми заштите се разликују, али сви делују хармонично и синхронизовано.

Систем заштите од оксидативних оштећења обухвата:

- ензиме антиоксидантне заштите: супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT), пероксидаза (Px),

глутатион-пероксидаза (GSH-Px), глутатион-редуктаза (GSHR), глутатион S-трансфераза (GST) и др.

- ниско-молекуларне ендogene антиоксидансе: витамин Ц (аскорбинска киселина), витамин Е (α -токоферол), витамин А, каротеноиди, коензим Q (убихинон), глутатион, мокраћна киселина, флавоноиди и друга фенолна једињења;

- високо-молекуларне ендogene антиоксидансе: протеини који садрже јоне гвожђа или бабра: трансферин, феритин, лактоферин, хаптоглобин, албумин, церулоплазмин и др.

Ензими који неутралишу супероксидне анјоне, водоник пероксид и липидне пероксиде (супероксид димутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатион пероксидаза (GSH-Px) заједно чине тзв. прву линију антиоксидативне заштите, док ендogene неутрализатори слободних радикала (витамини А, Е, Ц и К, коензим Q10, селен, бета-каротен, цистеин, цистамин, метионин, глутатион) представљају секундарну линију одбране (7).

Антиоксиданси су материје које, иако присутне у малим количинама, могу да спрече оксидацију или смање обим сразмерно велике количине биолошких молекула (9). Антиоксиданси спречавају иницијацију или прекидају пропацију липидне пероксидације. Протеини који везују јоне метала спречавају липидну пероксидацију (LPx). Хелијске мембране садрже липофилне антиоксиданте који прекидају ланчану реакцију липидних пероксида. Између дејства различитих врста антиоксиданаса постоји синергизам. Вероватно је да је за уравнотежено антиоксидантно дејство неопходно дејство и липидних и хидрофилних антиоксидантних материја.

Биљке и антиоксидантна заштита

Биљке из фамилије *Lamiaceae*

Лековита својства биљака из фамилије *Lamiaceae*, позната су још од давнина. Нови светски трендови у науци све више указују на повезаност многих обољења са оксидативним стресом. Фитохемијска испитивања указала су на то да листови неких биљака из рода *Lamiaceae* (*Melissa officinalis*) садрже више различитих типова антиоксиданата, углавном полифенола, флавоноида који показују високу антиоксидантну активност: rosmarinic acid, catehin, volatile oils (10,11).

Patora и сарадници (12) су 2002. године детектовали 6 флавоноида у листу *Melissa officinalis* L., *Lamiaceae*. Њихова структура је одређивана спектрометријским методама (UV, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR и FAB MS). Детектовани су: luteolin, luteolin 7-O-beta-D-glucopyranoside, apigenin 7-O-beta-D-glucopyranoside, luteolin 7-O-beta-D-glucuronopyranoside, luteolin 3'-O-beta-D-glucuronopyranoside и luteolin 7-O-beta-D-glucopyranoside -3'-O-beta-D-glucuronopyranoside. Последња три флавоноида су детектована по први пут: luteolin 7-O-beta-D-glucopyranoside-3'-O-beta-D-glucuronopyranoside као нови састојци ове биљке. Heitz и сарадници (13), су објавили да је Luteolin 3'-glucuronide главни флавоноид у *Melissa officinalis*.

Антиоксидантна активност биљке, мерена FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) техни-

ком показала је да се максимум активности јавља два пута у току вегетативног периода, у време цветања и у периоду брања (14). Промене у антиоксидативној активности делова биљака су уједначени, изузев у јулу месецу, када је измерена висока активност у стабљичи и изданцима а ниска активност у листовима. Сматра се да фаза интензивног развоја листа проузрокује пад концентрације секундарних биомолекула током лета.

Антиоксидантна активност флавоноида се огледа у инхибиторном ефекту на LPx, која је последица њихове антиоксидантне и комплексирајуће способности. Флавоноиди повећавају активност антиоксидантних ензима па тако директно утичу на смањење концентрација штетних кисеоничних радикала у хелији (15).

Последњих година посебно интересовање влада за истраживања на пољу потенцијалне примене препарата од биљака из фамилије *Lamiaceae* (*M. officinalis*) у лечењу Alzheimer-ове болести, јер је доказано да постоји ефикасност у лечењу умерених стадијума ове болести (16).

Поред матичњака, антиоксидантни потенцијал показује још једна биљка из фамилије *Lamiaceae*, а то је маточина (*Melittis melissophyllum*), која садржи значајне количине секундарних биомолекула. Иако се у народној медицини већ дуго користи, биљка није још довољно истражена. Последњих година стидљиво се појављују радови о њеном саставу и доказаним антиоксидантним ефектима на експерименталним животињама (14).

Биолошке карактеристике

Melittis melissophyllum L.

Матичњак је вишегодишња зељаста биљка, распрострањена широм Европе, Азије и Америке. Опште примењени европски таксономски системи убрајају матичњак у ред *Lamiales*, фамилија *Lamiaceae* (Слика 1).



Слика 1. - Изглед биљке у цвету: *Melittis melissophyllum* L

Систематика: Kingdom: Plantae; Razdeo: Magnoliophyta; Klasa: Magnoliopsida; Ped: Lamiales; Familija: Lamiaceae; Rod: Melittis; Vrsta: Melittis melissophyllum L.

Опште распрострањење: западна, јужна и централна Европа. Маточина је вишегодишња, врло лепа зељата уснагица, висока до 60 цм. Ризом је кос, прилично дебео, стабљика усправна, висока, неразграната, тупо четвороугласта. Листови су разређени по стаблу, највећи у доњем делу цветног региона. Лиска јајаста, при основи заокружена до клинаста, на врху шиљаста или заобљена. Цветови сложени у дихазије које граде привидне пршљенове у пазуху листова у горњем делу стабљике. У периоду од маја до јула развијају се крупни бело-жућкасти или тамно-ружичасти цветови. Плодови јајаста, троугласта, голи, глатки некада покривени са длакама. Укуса је горког и ароматичног, тек кад се осуши, ослободи се гликозидно везани кумарин, због којег сува биљка пријатно мирише (15,16).

Станиште: У светлим листопадном шумама (храст), ређе у четинарским и у шикарама, на шумским чистинама, на пошумљеним стрмим обронцима, на подлози богатој кречом.

Ball (17) је описао три подврсте: *subsp. Melisso-phyllum* са стаништем у западној Европи, *subsp. carpatica* са стаништем у источној Европи и *subsp. albida* са стаништем на Балканском полуострву и јужној Италији.

У народну позната под именима: МАТОЧИКА, МАТОЧИНА, МАТИЧИКА, ТИЧИНА, МЕДЕНИКА, КОБИЉАЧА, ПЧЕЉАК (Туцаков, 1996). У западној литератури се помиње под именом “Bastard balm”. Синоними: *Melittis sylvestris*, *Melittis grandiflora* (18, 19, 20).

У биљци има флавоноида. Употребљава се биљка у цвету. Делује слично другим кумаринским биљкама: лазаркињи и кокоцу. У заједници с матичњаком, одољеном и хмељом употребљава се у облику чаја против несанице, нервозе и сличних болести. Анализа испарљивих компонената надземног дела врсте *Melittis melisophyllum subsp. albida* која је сакупљана у Шпанији (Табела 1) објављена је у раду Skaltsa-Diamantidis и сарадника (21):

- chrysanthenyl acetate (12,3%),
- α-terpineol (17.1%) и
- caryophyllene oxide (10.8%)

Дакле, маточина (*Melittis melisophyllum*) садржи значајне количине секундарних биомолекула (6% розмаринске киселине, и флавоноида), који могу да делују као снажани антиоксиданти.

Флавоноиди

Флавоноиди су веома распрострањена група биљних пигмената, односно хидросолубилни полифенолни молекули који садрже 15 угљеникових атома. Термин "флавоноиди" предложили су Geisman и Hinseiner 1952.г. за детерминацију свих пигмената који имају C6-C3-C6 скелет, у којима су два бензолова прстена повезана преко кратког ланца са 3 угљеникова атома (C3 јединице). Један од угљеникових атома кратког ланца је увек повезан са угљеником из бензоловог прстена.

До сада је у биљкама пронађено више од 4000 флавоноида (22) и подељени су у 6 главних група (антоцијаниди, флавоноли, флаволи, флаванони, изофлаволи, халкони). Овако велика разноликост флавоноида може се објаснити бројним модификацијама основне структуре. Флавоноиди се најчешће могу наћи у воћу, чајевима и соји. Зелени и црни чај садрже 25 % флавоноида, јабука садржи кверцетин, лимун садржи рутин и хесперидин. У ћелији се налазе у вакуолама, хлоропластима и хромопластима, у облику гликозида а у изумрлим ћелијама слободни без гликозида. Најраспрострањенији од свих флавоноида су флаволи и флавоноли. Од флавонола у биљкама су најзаступљенији кверцетин, камферол и мирцетин. Кверцетин се сматра најраспрострањенијом компонентом свих биљних фенола. Од флавонола најприсутнији су лутеолин и апигенин.

Флавоноидна једињења поседују значајне еколошке и фармаколошке особине. Флавоноиди имају велики еколошки значај јер заједно са каротенима дају боју цветовима и плодовима биљака. Због интензивне апсорпције УВ зрачења имају протективно дејство, могу да инхибирају раст ларви и служе за застрашивање хербивора. Поред овог флавоноиди имају и читав низ других фармаколошких активности, као што су хепатопротективна, антимулагена, антиинфламаторна, анти-

Табела 1. - Садржај испарљивих компоненти (%) у врсти *Melittis melisophyllum subsp. Albida*, добијен методом термална десорпција-масена спектрометрија.

Component	I	MMF2(%)	MMD2(%)	Method
α-Pinene	934	t	t	MS, I ₂
1-Octen-3-ol	970	t	t	MS, I ₂
3,4-Dihydrocoumarin	1337	t	t	MS, I ₁
Coumarin	1391	82.6	81.1	MS, I ₁
β-Caryophyllene	1418	0.5	t	MS, I ₂
Germacrene D	1477	0.9	t	MS, I ₁
γ-Muurolene	1472	t	t	MS, I ₁
Bicyclogermacrene	1492	1.0	t	MS, I ₁
(Z)-β-Ionone	1505	t	t	MS, I ₂
Spathulenol	1567	0.6	1.0	MS, I ₂
Caryophyllene oxide	1572	t	t	MS, I ₂
Hexadecanoic acid	1957	t	6.6	MS, I ₁
Phytol	2097	1.5	6.3	MS, I ₁
8, 11, 14-Eicosatrienoic acid	2135	t	0.7	MS, I ₁
Hexacosane	2600	6.4	4.3	MS, I ₂
Heptacosane	2700	4.3	0.1	MS, I ₂

алергијска, антивирусна, кардиопротективна и друга дејства (23,24). Кверцетин је познат по свом антипиретичком деловању. Епидемиолошке студије су показале да је инциденца срчаних обољења у обрнутој пропорцији са уносом флавоноида храном.

Флавоноиди могу спречити оксидацију LDL чиме се смањује ризик за настанак атеросклерозе (25). Дневни унос флавоноида храном може бити од 50 до 500мг. Раније се сматрало да неки флавоноиди садрже анксиолитичко дејство, међутим истраживања која су поредила синтетичке флавоноиде и референтну супстанцу диазепам, показала су слабије ефекте флавоноида (26). Флавоноиди кверцетин и нарингенин инхибирају ензиме оксидаза мешовите функције (citohrom P450) који катализују биоактивацију карциногена (27).

Једно од најважнијих својстава флавоноида јесте њихов антиоксидантни потенцијал. Нека од најновијих истраживања доказују антиоксидантну активност флавоноида код оксидативног стреса (28), као и способност ове класе једињења да инхибирају процес липидне пероксидације (29). Екстракти биљака богати фенолним једињењима показали су се као ефикасни инхибитори СС1, индуковане липидне пероксидације липозома (30). Флавоноиди као фенолне компоненте састављене од два хидроксилована или метоксилована ароматична језгра повезана преко С3 јединице, могу отклонити хидроксиди и перокси радикале. Као комплексирајући агенси могу да вежу јоне гвожђа и тиме инхибирају Фентонову реакцију, којом се генеришу токсични ОН радикали.

Антиоксидативна активност флавоноида се огледа у инхибиторном ефекту на липидну пероксидацију која је последица њихове антиоксидантне и комплексирајуће способности. Флавоноиди повећавају активност антиоксидантних ензима па тако директно утичу на смањење концентрација штетних кисеоничних радикала у ћелији (31).

Последњих година постоје подаци који указују да неки флавоноиди могу у одговарајућим условима да иницирају оштећења ДНК, протеина (32). Због тога је важно експериментално проверити под којим условима и у којим дозама биомолекули делују као анти или прооксиданси.

ЛИТЕРАТУРА

- Halliwell, B. Antioxidants and Human Disease: A General Introduction. *Nutr. Rev.* 1997; 55, 44-52.
- Shirwaikar, A.; Rajendran, K.; Kumar, C.D. In vitro Antioxidant Studies of *Annoasquamosa* Linn. Leaves. *Ind. J. Exp. Biol.* 2004; 42, 803-807.
- Veltiščev Iu.E., Jureva E.A., et al: Biologičeski aktivneye metabolity membrannyh glicerofosfolipidov v norme i pri patologii. *Vopr. Med.Khim.* 1987; 33 (2):2-9.
- Akasaka S.: Inactivation of transforming activity of plasmid DNA by lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta.* 1986; 867(4): 201-208.
- Palinski W., Rosenfield M.E., Yla-Hertuala S., Gurtuer G.C., Socher S.S., Butler S.W., Parthasarty S., Carew T.E., Stienberg D., Witztum J.L.: Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc.Natl.Acad. Sci. USA.* 1989; 86(4):1373-1376.
- www.who.com
- Halliwell B.:Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutr. Rev.*1994; 52 (8) 253-256.
- Cadenas E., Davies J.A.K. Mitochondrial free radicals generation oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine.* 2000; 29(3-4): 222-230.
- Cotgreave I.A., Moldeus P., Orrenius S.: Host biochemical defense mechanisms against peroxidants. *Pharmacol. Toxicol.* 1998; 28:189-212.
- Jorge R.M., Leite J.V., Oliveira A.B., et al.: Evaluation of antiinflammatory and antitumor activities of *Maytenus ilicifolia*, *Journal of Ethnopharmacology*, 2004; 94(1):93-100.
- Zhan H., Zhang Z., Xin YM., Li T., Wei SH. Changes of cardiac catecholamines in rats after repeated +Gz exposures and protective effects of low-G preconditioning and tea polyphenols. *Space Med Med Eng (Beijing).* 2003 Aug; 16(4):239-42.
- Patora J., Klimek B. Flavonoids from lemon balm (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae); *Acta Pol Pharm.* 2002 Mar-Apr; 59(2):139-43.
- Heitz A., Carnat A., Fraisse D., Carnat AP., Lamaison JL; Luteolin 3'-glucuronide, the major flavonoid from *Melissa officinalis* subsp. *officinalis.*, *Fitoterapia.* 2000 Apr; 71 (2): 201-2.
- Szollosi R., Varga I. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaption of FRAP method), *Acta Biologica Szegediensis*, 2002; 46(3-4):125-127, 2002.
- Kenic J.: Uticaj alkohola i ekstrakta melise (*Melittis melissophyllum*) na razvoj oksidativnog stresa u jetri pacova izlozenih biodinamičkom stresu Gz ubrzanja, magistarski rad, Kosovska Mitrovica, 2007.
- Velasco-Neguereuela A., Sanz J., Perez-Alonso M.J., Pala-Paul J.: The volatile components of the aerial parts of *Melittis melissophyllum* L. subsp. *melissophyllum* gathered in Spain, *Botanica Complutensis.* 2004; 28:133-136.
- Ball P.W.: *Melittis* L. In *Flora Europaea*, Tutin et al. (Eds.), Cambridge. 1972; 3:143,
- Huxley A. *The New RHS Dictionary of Gardening.* Mac Millan Press. 1992; ISBN 0-333-47494-5
- Genders R. *Scented Flora of the World.* Robert Hale. London. 1994; ISBN 0-7090-5440-8
- Skrzypczak E., The tissue culture and chemical analysis of *Melittis melissophyllum*; *ISHS Acta Horticulture.* 1995; 330.
- Skaltsa-Diamantidis H., Tsitsa-Tzardi E., Tzakou O., Argiriadou N.: Analysis of the essential oil *Melittis melisso-phyllum* L. subsp. *abida* Guss. *J. Ess. Oil Res.*, 1991; 3: 367-368.
- Oshima H., Yoshie Y., Aurol S., Gilbert J.: Antioxidant and prooxidant actions of flavonoids: Effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxyxynitrite and nitroxyl anion, *Free radical biology&Medicine*, 1998; 25,1057-1065.
- Cook N.C., Samman, S. Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources, *Nutritional Biochemistry*, 1996; 7, 66-76.
- Middleton E.: Biological Properties of Plant Flavonoids: An Overview, *International Journal of Pharmacology*, 1996; 34, 344 - 348.
- Hertog G.L.M., Feskens J.M.E., Hollman C.H.P., Katan B.M., Kromhout D.: Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, 1993, 342(8878):1007-1011.
- Grebel G., Perrault G., Tan S., Schoemaker H., Sanger J.D.: Pharmacological studies on synthetic flavonoids: comparison with diazepam. *Neuropharmacology*, 1999, 38 (7): 965-977.

27. Marchad L.L., Murphy P.S., Hankin H.J., Wilkens R.L., Kolonel N.L.: Intake of Flavonoids and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 2000, 92(2):154-160.
28. Aérias F.M., Rego A.C., Oliveira C.R., Seabra R.M.: Antioxidant effect of flavonoids after ascorbate/Fe⁽²⁺⁾ induced oxidative stress in cultured retinal cells. *Biochem. Pharmacol.*, 2001; 62, 111-118.
29. Cos P., Calomme M., Sindambiwe J.B., DeBryne T., Cimanaga K., Pieters, L., Inhibiting activity of flavonoids, *Planta Med.*, 2001; 67, 515-518.
30. Popović M., Kaurinović B., Mimica-Dukić N., Vojinović-Miloradov M., Djordjević M.: Combined Effects of Plant Extrats and Xenobiotics on Liposomal Lipid Peroxidation Part 2. Margolid Extract-C₆₀/Fullerenol. *Oxidation Communications*, 2000; 23(2): 178-186.
31. Rice-Evans CA., Miller NJ., Bolwell PG., Bramley PM., Pridham JB. (1995) The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.* 1995; 22: 375-378.
32. Decker E.A.: Phenolics: prooxidans or antioxidants?, *Nutr. Rev.* 1997; 55, 396.